

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Departament de medicina

**ENTEROPATIA SENSIBLE AL GLUTEN EN
PACIENTS AMB MALALTIES AUTOIMMUNES
SISTÈMIQUES:**

Aspectes fisiopatològics i rellevància clínica

Tesi doctoral presentada per **Maria José Vives Fernández** per optar al grau de **Doctor**.

Barcelona, 2014

Directores: **Dra Mònica Rodríguez Carballeira** i **Prof. Dra Maria Esteve Comas**

Tutor: **Prof. Dr Vicent Fonollosa Pla**

TESI DOCTORAL

“Enteropatia sensible al gluten en pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques: Aspectes fisiopatològics i rellevància clínica”

Autora: Maria José Vives Fernández

Directors: Dra. Mònica Rodríguez Carballeira i Prof. Dra Maria Esteve Comas

Tutor: Prof. Dr. Vicent Fonollosa Pla

Línia de recerca: Malalties sistèmiques autoimmunes. Miopaties inflamatòries. Polimiositis. Dermatomiositis.

Programa de Doctorat en Medicina Interna.

Departament de Medicina. Facultat de Medicina.

Universitat Autònoma de Barcelona

Any: 2014

Signatures:

L'autora:

Les directores:

El tutor:

M^a José Vives

Dra M. Rodríguez

Prof. Dra M. Esteve

Prof Dr V Fonollosa

AGRAÏMENTS

AGRAÏMENTS:

Darrere d'un treball com una tesi doctoral hi ha tot un grup de gent que el fa possible. Per aquest motiu, aprofito aquest moment per agrair la participació i ajuda a cada una de les persones que, en un moment o altre, heu col·laborat en aquest projecte, per petita que pugui semblar ara aquesta aportació.

Com a peces fonamentals i directores d'aquest projecte, voldria destacar a la Dra. M. Rodríguez i la Dra. M. Esteve. Qualsevol cosa que pugui dir no és suficient per agrair la seva ajuda i dedicació. A la Mònica, agrair-li especialment el fet de permetre'm apropar-me a un món tan apassionant com són les malalties autoimmunes; és un luxe poder aprendre al costat d'algú amb la seva qualitat professional i humana. A la Maria, agrair-li l'oportunitat de poder formar part d'aquest projecte, en el si d'un equip d'investigació consolidat i de reconegut prestigi, com és el Servei d'Aparell Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa. A totes dues, gràcies per posar a la meva disposició els vostres coneixements i l'experiència, gràcies pels vostres consells, per la vostra infinita paciència, ja que hi ha hagut moments en què us ho he posat difícil, i per la vostra bona predisposició que, se'ns dubte, ha facilitat extraordinàriament la meva feina.

A l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa, on vaig tenir l'oportunitat d'iniciar aquest treball durant el període de residència. Gràcies especialment als Serveis de Medicina Interna i de Digestiu, per la col·laboració i el suport.

Al Departament de Medicina Interna i Urgències de l'HG-PSSJD i a tots els companys pel suport que m'han ofert i per facilitar-me que es pogués dur a terme la fase final d'aquesta tesi.

Indiscutiblement, l'elaboració d'un projecte com aquest afecta a la vida personal i, per això, no vull oblidar-me de la família més propera, que al cap i a la fi són els que estan aquí, donant un cop de mà quan és necessari. L'Alba, per formar part incondicional de l'entramat necessari per a què pogués tirar endavant aquesta tesi. Als meus pares, pel suport, la confiança i perquè sense ells no hagués aconseguit arribar fins aquí. El destí ha volgut que el meu pare ja no sigui aquí, però no dubto de la satisfacció i l'emoció que sentiria arribats en aquest punt.

AGRAÏMENTS

Per descomptat, gràcies Lluís per estar al meu costat en tot moment, pel teu constant estímul, per transmetre'm la teva inquietud i curiositat que no s'acaba mai i per ajudar-me a continuar endavant.

TAULA DE CONTINGUT

TAULA DE CONTINGUT

TAULA DE CONTINGUT

TAULA DE CONTINGUT

1. INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA	17
1.1 <i>Malalties inflamatòries: autoimmunes i autoinflamatores</i>	20
1.1.1 Malalties autoimmunes	21
1.1.1.1 Susceptibilitat genètica	22
1.1.1.2 Activació de l'autoreactivitat	23
1.1.1.3 Perpetuació de la malaltia i dany tissular	23
1.1.2 Malalties autoinflamatores	24
1.1.2.1 Patogènesi de les malalties autoinflamatores	26
1.1.2.2 Genètica de les malalties autoinflamatores	27
1.1.2.3 Paper dels factors desencadenants	27
1.2 <i>Afectació del tub digestiu a les malalties autoimmunes sistèmiques</i>	28
1.2.1 Lupus eritematós sistèmic	28
1.2.2 Síndrome de Sjögren	31
1.2.3 Esclerosi sistèmica	32
1.2.4 Miopatia inflamatòria (polimiositis i dermatomiositis)	32
1.2.5 Síndrome antifosfolípídica	33
1.2.6 Vasculitis sistèmiques	33
1.2.6.1 Arteritis de cèl·lules gegants i Vasculitis de Takayasu	33
1.2.6.2 Malaltia de Kawasaki	34
1.2.6.3 Vasculitis necrotitzants (panarteritis nodosa clàssica, poliangeitis microscòpica, Wegener i	34

TAULA DE CONTINGUT

síndrome de Churg-Strauss)	
1.2.6.4 Púrpura de Shonleich-Henoch	35
1.2.7 Malalties autoinflamatores	35
1.2.7.1 Malaltia de Behçet	35
1.2.7.2 Sarcoidosi	35
1.3 Enteropatia sensible al gluten	36
1.3.1 Definició i fisiopatologia de la malaltia celíaca	36
1.3.1.1 Paper del gluten	36
1.3.1.2 Resposta immune de la glucosa	37
1.3.1.3 Factors genètics	38
1.3.1.4 Factors ambientals	39
1.3.2 Epidemiologia, manifestacions clíniques i complicacions	39
1.3.3 Mètodes i criteris diagnòstics actuals de la malaltia celíaca	40
1.3.3.1 Evolució històrica dels criteris diagnòstics	41
1.3.3.2 Valor diagnòstic de la serologia	46
1.3.3.2.1 Tests serològics de malaltia celíaca	46
1.3.3.2.2 Tests de punt de contacte	48
1.3.3.2.3 Problemes en valorar la precisió diagnòstica dels mètodes serològics	49
1.3.3.2.4 Malaltia celíaca en serologia negativa	50
1.3.3.2.5 Paper dels mètodes serològics en el diagnòstic de malaltia celíaca	51

TAULA DE CONTINGUT

1.3.3.3 Valor diagnòstic de l'estudi genètic	52
1.3.3.4 Valor diagnòstic de la biòpsia duodenal	53
1.3.3.4.1 Diagnòstic diferencial de la lesió duodenal de la malaltia celíaca	56
1.3.4 Dieta sense gluten	59
1.3.5 Relació entre l'enteropatia sensible al gluten i les malalties autoimmunes sistèmiques	60
2. HIPÒTESI I JUSTIFICACIÓ	65
3. OBJECTIUS	69
4. PACIENTS I MÈTODES	73
4.1 <i>Estratègia diagnòstica i disseny de l'estudi</i>	76
4.2 <i>Avaluació clínica de la malaltia autoimmune sistèmica</i>	77
4.3 <i>Detecció d'anticossos</i>	78
4.4 <i>Marcadors genètics</i>	79
4.5 <i>Biòpsia duodenal i estudis histològics</i>	79
4.6 <i>Paràmetres bioquímics, hematològics i immunològics</i>	80
4.7 <i>Avaluació de la densitat mineral òssia</i>	81
4.8 <i>Estudi etiològic de la enteropatia</i>	81
4.8.1 <i>Valoració de la resposta a la dieta sense gluten</i>	82
4.9 <i>Anàlisi estadístic</i>	83
4.10 <i>Aspectes ètics</i>	83
5. RESULTATS	85
5.1 <i>Descripció de la mostra</i>	87

TAULA DE CONTINGUT

5.1.1	Característiques demogràfiques	87
5.1.2	Característiques clíniques	87
5.1.2.1	Característiques de les malalties autoimmunes sistèmiques	87
5.1.2.2	Característiques clíniques relacionades amb la presència d'enteropatia	90
5.2	<i>Diagnòstic de malaltia celíaca</i>	93
5.2.1	Marcadors serològics i de predisposició genètica de la malaltia celíaca	93
5.2.2	Diagnòstic d'enteropatia	95
5.2.2.1	Característiques dels pacients amb biòpsia duodenal. Comparació amb els pacients sense biòpsia duodenal	97
5.2.3	Avaluació etiològica de l'enteritis limfocítica	101
5.3	<i>Anàlisi de l'enteritis limfocítica idiopàtica en pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques</i>	105
5.3.1	Repercussió clínica de l'enteropatia associada a les malalties autoimmunes sistèmiques	110
6.	DISCUSSIÓ	113
6.1	<i>Consideracions metodològiques</i>	115
6.2	<i>Prevalença de malaltia celíaca entre els pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques</i>	116
6.3	<i>Prevalença dels marcadors genètics de malaltia celíaca</i>	122
6.4	<i>Síntomes i signes de malaltia celíaca</i>	123
6.5	<i>Enteritis limfocítica idiopàtica</i>	125

TAULA DE CONTINGUT

6.6 Limitacions	127
7. CONCLUSIONS	129
8. INFERÈNCIES PEL FUTUR	133
9. ANNEXES	137
10. BIBLIOGRAFIA	151
11. CERTIFICAT DE DIRECCIÓ	169

TAULA DE CONTINGUT

ABREVIATURES

ABREVIATURES:

AAG: anticossos antigliadina

a-DGP: anticossos antigliadina desaminada

AGA: American Gastroenterological Association

AINE: antiinflamatori no esteroïdal

ANA: anticossos antinuclears

Anti-tTG: anticossos antitransglutaminassa tissular

CBP: cirrosi biliar primària

CMH: complex major d'histocompatibilitat

CPA: cèl.lules presentadores d'antígens

DT: desviació típica

DM-1: diabetis mellitus tipus 1

DMO: densitat mineral òssia

DSG: dieta sense gluten

DGP: pèptids de gliadina deamidada

EAV: escala analògica visual

EL: enteritis o enteropatia limfocítica

EMA: anticossos antiendomisi

ES: esclerosi sistèmica

ESG: enteropatia sensible al gluten

ESPGAN: Societat Europea de Gastroenterologia
Pediàtrica i Nutrició

ABREVIATURES

GWAs: Genome Wide Associations

HP: *Helicobacter pylori*

IFI: immunofluorescència indirecte

IMC: índex de massa corporal

LES: lupus eritematós sistèmic

LIE: limfòcits intraepiteliais

MAS: malaltia autoimmune sistèmica

MB: malaltia de Behçet

MC: malaltia celíaca

MITC: malaltia indiferenciada del teixit connectiu

MMTC: malaltia mixte del teixit connectiu

NASPGHAN: Societat Nord-americana de
Gastroenterologia Pediàtrica, Hepatologia i Nutrició

SAF: síndrome antifosfolípídica

SS: síndrome de Sjögren

TNF: tumor necrosis factor

tTG: transglutaminassa tissular

VPP: valor predictiu positiu

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

1. INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

La malaltia celíaca (MC) és una malaltia inflamatòria de la mucosa del budell prim en què la lesió intestinal millora amb la retirada del gluten de la dieta. La seva repercussió clínica i potencials complicacions, fa important establir el seu diagnòstic, tenint en compte a més, que hi ha una relació entre el temps d'exposició al gluten i l'aparició de complicacions^(1,2).

La detecció de pacients amb MC és complexa, ja que es tracta d'una patologia amb múltiples formes de presentació i, a més, prop del 50% dels pacients es mantenen asimptomàtics. S'estima que la prevalença d'MC oscil·la entre 1:130 – 1:400 i que la relació entre els casos coneguts i els no diagnosticats és de 1/7 ^(1,2).

El diagnòstic d'MC es basa sobretot en la histologia, però es disposa de marcadors serològics i genètics que permeten detectar els individus amb major risc.

En el moment actual, el cribatge d'MC es realitza en pacients amb sospita d'aquesta malaltia i en poblacions establertes de risc, utilitzant tests serològics sensibles i específics pel diagnòstic d'aquesta patologia (anticossos anti-endomisi –EMA- i anticossos anti-transglutaminassa tissular –anti-tTG). És conegut, però, que una de les limitacions de la serologia és la severitat de la lesió histològica, de tal manera que la sensibilitat dels tests serològics varia entre el 100% quan hi ha atròfia vellositària total, fins al 31% si l'arquitectura vellositària és normal i només hi ha augment dels limfòcits intraepitelials (LIE)⁽³⁾. Donat que es coneix que la repercussió clínica de l'enteropatia sensible al gluten (ESG) pot ser important en individus sense alteració histològica de la mucosa duodenal, és important buscar estratègies que permetin el diagnòstic d'aquells individus amb serologia negativa. En aquest sentit, l'equip d'investigadors en el que s'ha dut a terme el present treball van demostrar que, en una població de risc (familiars de primer grau), complementar l'estratègia de cribatge habitual amb l'estudi genètic (HLA-DQ2 i HLA-DQ8) seguit d'estudi histològic en el cas que o la serologia o la genètica fossin positives, permet diagnosticar tres vegades més pacients amb MC que la serologia sola⁽⁴⁾.

La utilització pel diagnòstic del tipatge dels gens HLA-DQ2 i HLA-DQ8 es basa en estudis que demostren que aproximadament el 90% de pacients celíacs presenten HLA-DQ2 positiu en front al 20%-30% de la població general. El 5% de pacients presentarien HLA-DQ8 positiu front el 10% de la població general^(5,6).

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

És conegut que l'MC es relaciona amb l'aparició d'events autoimmunes⁽⁷⁻¹⁰⁾, havent-se pogut establir fortament la relació entre l'MC i les malalties autoimmunes organoespecífiques com ara la tiroiditis, la diabetes mellitus tipus 1 (DM-1) o la hepatitis autoimmune^(7,11-14). Pel que fa a la relació entre l'MC i les malalties autoimmunes sistèmiques (MAS), es disposa d'escassos estudis i els resultats són controvertits⁽¹⁵⁻²¹⁾. De forma general, les principals limitacions dels diferents estudis són 1) els mètodes serològics de cribatge utilitzats que varien d'uns estudis a altres i, a vegades no s'ajusten a les recomanacions actuals; i 2) els petits tamanys de les mostres, conseqüència de la baixa prevalença de les diferents MAS.

L'absència d'estudis amb una estratègia diagnòstica d'MC sòlida, destinats a avaluar la prevalença d'aquesta malaltia amb l'aplicació del tipatge genètic (HLA-DQ2 i HLA-DQ8) afegit al cribatge serològic recomenat actualment, per tal de detectar aquells individus celíacs amb serologia negativa, va ser la principal motivació del present treball. Per altra banda, també resulta d'interés avaluar les altres causes d'enteropatia i la seva repercussió clínica, així com la prevalença de marcadors genètics d'MC entre aquests pacients.

1.1 Malalties inflamatòries: autoimmunes i autoinflamatòries

Les malalties inflamatòries són conseqüència de l'activació del sistema immune, habitualment com a reacció a una amenaça externa, infecció, exposició a toxines o creixement tumoral. Hi ha, però, una sèrie de malalties en què el sistema immune s'activa sense que es detecti cap d'aquests factors. Una part d'aquestes malalties deriven de l'activació del sistema immune innat i d'un excés de mediadors de la inflamació, sense que hi hagi una provocació per antigen específics; són les anomenades **malalties autoinflamatòries**, que inclouen patologies com ara la febre mediterrània familiar o la malaltia de Behçet, entre d'altres. Les **malalties autoimmunes** estan mediades per l'activació de la resposta immune adaptativa, de limfòcits T i B, que responen a autoantígens en absència d'agressions externes identificables (infeccions, tumors...)⁽²²⁾.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

1.1.1 Malalties autoimmunes

Una malaltia autoimmuna, com hem comentat, és aquella en què el dany tissular és conseqüència de l'activació de cèl·lules T, B, o ambdues, sense que s'identifiqui una causa⁽²³⁾, tot provocant una reactivitat contra antígens del propi organisme. En moltes de les malalties que es consideren autoimmunes, però, aquesta reactivitat no s'ha pogut demostrar; tant és així, que en alguns casos, se suposa que són autoimmunes perquè hi ha limfòcits B i T en els teixits afectats⁽²²⁾. Durant anys, la deleció clonal de limfòcits autoreactius i mantenir clons de cèl·lules T i B capaces de reconèixer antígens estranys han estat el dogma central de la immunologia. Amb els coneixements adquirits en la darrera dècada, però, s'assumeix que un baix nivell d'autoreactivitat és fisiològica i garanteix un correcte funcionament del sistema immunitari. Aquest fet s'explica perquè els autoantígens ajuden a formar el repertori de limfòcits madurs i la supervivència dels limfòcits B i T *naïve* a la perifèria requereix d'una contínua exposició als autoantígens^(24,25). Actualment s'accepta que els limfòcits no han evolucionat a reaccionar contra antígens propis o estranys (no hi ha diferències en les estructures d'ambdós tipus), el que passa és que són capaços de respondre a determinats antígens només en determinats microambients. Per tant, si l'autoreactivitat és fisiològica, la clau està en perquè es converteix en un procés patològic i en com les cèl·lules B i T contribueixen en el dany tissular⁽²³⁾.

Les malalties autoimmunes les dividim en dos grans grups: 1) les *malalties autoimmunes organoespecífiques*, més prevalents i caracteritzades perquè el sistema immune reacciona contra cèl·lules concretes i 2) *MAS*, amb menor prevalença i caracteritzades perquè el sistema immune reacciona contra antígens intracel·lulars presents en cèl·lules molt diferents, pel que poden afectar a diferents òrgans i sistemes.

La prevalença global de les malalties autoimmunes s'apropa a un 5%⁽²⁶⁾, encara que, individualment, la prevalença de cada una d'elles sigui molt menor. Hi ha dos punts que ajuden a entendre aquest fet: Per una banda, com ja s'ha comentat, l'autoreactivitat ajuda a modelar el sistema immune, però, que aquesta autoreactivitat no acabi produint dany tissular requereix vigilància constant, essent aquest equilibri molt feble. Per altra banda, tots els pacients amb malalties

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

autoimmunes tenen predisposició genètica a les mateixes; aquesta predisposició genètica pot afectar els factors genètics que regulen la vulnerabilitat específica de l'òrgan diana o els que promouen l'autoreactivitat⁽²²⁾.

1.1.1.1 Susceptibilitat genètica

Els factors genètics són determinants en la susceptibilitat a malalties autoimmunes. Tot i que algunes malalties autoimmunes són monogèniques, en la major part dels casos són poligèniques, tot requerint múltiples gens de susceptibilitat per produir un fenotip anòmal. Alguns d'aquests gens confereixen major risc que d'altres, com és el cas dels que formen part del complex major d'histocompatibilitat (CMH), que conformen el sistema HLA (human leukocyte antigen). La major part de les malalties autoimmunes estan vinculades a un tipus de molècula HLA-I o HLA-II, però aquesta associació pot necessitar també que es vinculi a un altre gen com el que codifica el TNF- α o el complement. Per altra banda, és sabut que alguns al·lels de l'HLA protegeixen contra la malaltia fins i tot quan hi ha un al·lel de susceptibilitat present. L'associació dels al·lels de l'HLA amb una determinada malaltia pot variar en funció de la població. L'enginyeria genètica en rates ha identificat més de 25 gens que contribueixen a l'autoimmunitat; aquests codifiquen citoquines, co-receptors antigènics, molècules que eliminen complexos antigen-anticòs, etc. D'aquests estudis es desprenen dos conceptes fonamentals, que són, per una banda, que un gen o mutació particular causi una malaltia depèn de la base genètica global de l'hoste i, per altra banda, que alguns defectes genètics poden predisposar a més d'una malaltia autoimmune. Els estudis genètics fets en humans són coherents amb aquestes idees, tot i que és més freqüent, però, que un locus genètic (i no un sol gen) es relacioni amb la susceptibilitat a la malaltia autoimmune; en els darrers anys es van coneixent més *loci* potencialment importants en més d'una malaltia. La vulnerabilitat de l'òrgan diana al dany mediat per factors immunològics també ve determinat genèticament⁽²³⁾.

1.1.1.2 Activació de l'autoreactivitat

A banda de la predisposició genètica, és necessari un trigger per a desencadenar l'autoreactivitat; aquest pot ser ambiental o un canvi en el medi intern. Els **antígens microbians** poden desencadenar l'autoreactivitat per diferents mecanismes, com són el mimetisme molecular (febre reumàtica, Sd de Guillain-Barré, diabetis autoimmune o esclerosi múltiple), l'activació policlonal o l'alliberament d'antígens segrestats prèviament (p. ex. la miocarditis que segueix la necrosi cardíaca). La infecció actua com activador del procés autoimmune que es perpetuaria un cop desapareguda la infecció⁽²³⁾. Se sol intentar relacionar una infecció particular amb la patogènesi d'una malaltia concreta, però és possible que per algunes malalties autoimmunes hi hagi més d'un microorganisme desencadenant⁽²²⁾.

Entre els **desencadenants no infecciosos** que s'han proposat trobem factors hormonals, ja que és sabut que la majoria de les malalties autoimmunes són més freqüents en dones que en homes i que els estrògens es relacionen amb les exacerbacions del lupus eritematós sistèmic (LES); s'ha suggerit que podrien alterar el repertori de limfòcits B en absència d'inflamació. Algunes molècules exògenes també podrien jugar un paper, com la procaïnàmid, que p. ex. induiria la síntesi d'anticossos antinuclears (ANA), tot desencadenant en determinats casos un lupus-Like; la penicil·lina i les cefalosporines es lliguen a la membrana dels eritròcits formant un neo-antígen que desencadenaria una anèmia hemolítica; la gliadina lligada a la transglutaminassa tissular induiria a la formació d'autoantígens contra ambdues proteïnes⁽²³⁾. Un altre mecanisme per activar l'autoreactivitat seria la **pèrdua de cèl·lules reguladores**; algunes d'elles maduren en el timus i altres a la perifèria. Les alteracions que afecten al nombre o funció d'aquestes cèl·lules poden contribuir a l'autoimmunització. No se sap quins antígens activen les cèl·lules T reguladores i només es coneix parcialment com exerceixen la seva pressió sobre la resposta immune⁽²³⁾.

1.1.1.3 Perpetuació de la malaltia i dany tissular

Quan una malaltia autoimmune progressa des de l'activació inicial cap a la

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

cronicitat, sol haver-hi un augment en el nombre d'autoantígens específics per les cèl·lules T i els anticossos, així com canvis en les cèl·lules que participen, citocines i altres mediadors de la inflamació. Aquesta situació es dona perquè es desencadena una cascada en la que les cèl·lules B autoreactives activades actuen com presentadores d'antígens a les cèl·lules T que no són tolerants a aquests nous pèptids. Donat també que la cèl·lula B pot lligar-se a una proteïna o a un complex de proteïnes, cada epítip es presentarà a una cèl·lula T naïf i aquestes poden activar cèl·lules B autoreactives⁽²³⁾. Se sap que, inicialment, els limfòcits naïf activen i inicien la malaltia però es desconeix si són les mateixes cèl·lules naïf o les cèl·lules memòria les que causen la progressió i brots de la malaltia.

Estudis de la darrera dècada han demostrat que els mecanismes que inicien la malaltia autoimmune no són els mateixos que els que la propaguen i causen el dany tissular. Se sap també que el perfil de citocines dels limfòcits activats en els òrgans limfoides secundaris pot ser diferent al que mostren les cèl·lules que migren als òrgans diana i causen dany tissular⁽²²⁾. Tant les cèl·lules T autoreactives com els autoanticossos poden produir dany tissular. Les cel·lules T produeixen citòlisi de les cèl·lules diana a través de citocines (produïdes per Th1 i Th2). Els autoanticossos produeixen dany tissular per diferents mecanismes que inclouen la formació d'immunocomplexes, citòlisi o fagocitosis de les cèl·lules diana, i la interferència amb la fisiologia tissular.

1.1.2 Malalties autoinflamatòries

Aquest terme es va començar a introduir l'any 1999 (Kastner and O'Shea) per tal de definir un grup de malalties caracteritzades per episodis inflamatoris sistèmics, recurrents o persistents, sense una etiologia infecciosa, autoimmune, neoplàsica, al·lèrgica o immunodeficient^(27,28). És a dir, la inflamació es produeix en absència de patògens, autoanticossos o antígens específics de les cèl·lules T. La base d'aquestes patologies rau en mutacions en gens implicats en els senyals inflamatoris, que produeixen la disfunció del sistema immune innat. Aquest mal funcionament provoca respostes aberrants a patrons moleculars de patògens (com ara lipopolisacàrids i peptidoglicans), marcada neutrofilia en sang i teixits i

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

disregulació de citosines inflamatòries o els seus receptors⁽²⁹⁾.

Inicialment, dins d'aquest grup de malalties estaven incloses les **Síndromes hereditàries de febre periòdica**, que es caracteritzen per episodis inflamatoris aguts autolimitats, de duració variable i recurrents de forma periòdica (la febre mediterrània familiar –FMF-, síndrome periòdica associada al receptor de TNF - TRAPS-, síndrome d'Hiper-IgD i febre periòdica -HIDS-). A mesura que s'ha avançat en el coneixement d'altres processos inflamatoris i gràcies als avenços genètics, el número de malalties autoinflamatòries ha anat creixent i actualment s'inclouen també en aquest grup les **síndromes autoinflamatòries cròniques o persistents**, que són un grup de patologies autoinflamatòries de curs crònic però que poden presentar exacerbacions (síndrome periòdica associada a criopirina o criopirinapaties –CAPS; síndrome autoinflamatòria familiar induïda pel fred-FCAS, síndrome de Muckle-Wells i síndrome CINCA-NOMID-, artritis granulomatoses pediàtriques –síndrome de Blau i sarcoïdosi d'inici precoç-, síndrome d'artritis piògena estèril, pioderma gangrenós i acne –PAPAS-)^(27,30). Així mateix, el descobriment de mutacions genètiques subjacents en altres malalties més freqüents ha donat lloc a la creació d'un altre grup de malalties, que és un candidat a ser inclòs dintre de les malalties autoinflamatòries: és el grup de les anomenades “**malalties semblants a les malalties del col·lagen**”, que inclou la malaltia de Behçet, la Sarcoïdosi, la malaltia de Crohn i l'artritis psoriàsica⁽²⁷⁾.

La definició, doncs, d'aquestes malalties es basa en el seu caràcter inflamatori i la seva estreta relació amb el sistema immune innat, i és suficientment àmplia com per incloure-hi malalties hereditàries amb un patró clàssic mendelià, altres poligèniques i altres preferentment inflamatòries però amb un cert component autoimmune. Es parla d'un espectre clínic continu entre els processos autoinflamatoris amb patró hereditari i els processos autoimmunitaris, tal i com es pot veure en el següent gràfic (figura 1.1):

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Figura 1.1: Espectre continu entre els processos autoinflamatoris amb patró hereditari i els processos autoimmunitaris:



Modificat de McConagle D, McDermott MF. PLoS Med 2006; 3(8):e297

FMF: febre mediterrània familiar; TRAPS: síndrome periòdica associada al receptor de TNF; HIDS: síndrome d'hiper-IgD i febre periòdica; PGA: artritis granulomatosa pediàtrica; PAPA: síndrome d'artritis piògena estèril, pioderma gangrenós i acné; DIRA: deficiència de l'antagonista del receptor de IL-1; LES: lupus eritematós sistèmic; ALPS: síndrome limfoproliferatiu autoimmune; IPEX: disfunció immune, poliendocrinopatia i endocrinopatia lligada a X; APECED: poliendocrinopatia autoimmune, candidiasi i distròfia ectodèrmica.

La fisiopatologia comuna de totes aquestes malalties és la hiperactivació de neutròfils i/o monòcits/macròfags, acompanyat de la predisposició genètica de disfunció del sistema immune innat. Sembla probable amb tot plegat que altres malalties en què encara no es coneix la base genètica, puguin acabar formant part d'aquest grup (urticària vasculitis, malaltia de Still...)⁽²⁷⁾.

1.1.2.1 Patogènesi de les malalties autoinflamatòries

La immunitat innata representa la primera barrera en la defensa immune de l'hoste, i la seva funció és evitar la difusió de l'agent agressor i activar la immunitat

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

adaptativa. Les cèl·lules efectores de la immunitat innata són els fagòcits, incloent macròfags, cèl·lules dendrítiques i altres cèl·lules presentadores d'antígens. Aquest tipus d'immunitat actua a través de receptors de reconeixement de patrons (RRP) que s'uneixen a estructures expressades per patògens (patrons moleculars associats patògens, PAMP) o per cèl·lules danyades (patrons moleculars associats a dany, DAMPs). El reconeixement de molècules estranyes se segueix de l'activació de vies intracel·lulars de transducció de senyals, que indueix l'expressió de gens, incloent l' IFN- α , IFN- β , TNF i seqüències de gens de la IL-1. Una disregulació d'aquests receptors, generalment una activació excessiva o perllongada, pot desembocar en malalties autoinflamàtòries o autoimmunes (si el dany és conseqüència també de l'activació de la immunitat adaptativa). L'activació d'algunes classes d'RRP condueix a la formació de grans complexos proteics anomenats inflamossomes, dels que s'han descrit dos tipus, l'inflamasoma NALP1 i el NALP3, o criopirina. L'inflamossoma intervé en l'activació de la procaspasa-1, que escindeix les proformes d'IL-1 β i IL-18 a les formes actives. L'activació de l'inflamossoma és fonamental per a la defensa de l'organisme. Les malalties autoinflamàtòries es relacionen amb mutacions que intervenen en la formació de l'inflamossoma⁽³¹⁾.

1.1.2.2 Genètica de les malalties autoinflamàtòries

Algunes mutacions genètiques predisposen a malalties autoinflamàtòries però també a malalties autoimmunes. Hi ha malalties autoinflamàtòries monogèniques (més freqüent) i poligèniques, però totes tenen en comú que la mutació afecta a la formació de l'inflamossoma, excepte en el cas de la HIDS, però sí que totes afecten a les vies de senyalització mediades per citosines⁽³¹⁾.

1.1.2.3 Paper dels factors desencadenants

Un procés infecciós pot actuar de trigger de malalties autoinflamàtòries de la mateixa manera que passa en les autoimmunes. Altres triggers identificats recentment i que s'han relacionat amb una nova entitat (sd inflamàtòria desencadenada per adjuvants) són alguns adjuvants utilitzats en vacunes, que

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

podrien estimular la resposta immune innata imitant molècules que s'unirien als TLR i activarien el sistema inflamossoma NALP3 intracel·lular. S'han identificat també triggers ambientals com traumatismes o el fred. L'estrès, en general, també s'ha relacionat amb l'aparició, perpetuació i brots de malalties auotinflamatòries⁽³¹⁾.

1.2 Afectació del tub digestiu a les malalties autoimmunes sistèmiques

Les malalties autoimmunes causen gran varietat de manifestacions gastrointestinal, influenciades pel procés autoimmune subjacent. Les manifestacions gastrointestinals poden ser conseqüència de la pròpia malaltia o de complicacions⁽³²⁾. A continuació s'exposen els tipus d'afectació més freqüent en les diferents MAS que s'han inclòs en el present estudi.

1.2.1 Lupus eritematós sistèmic

El sistema gastrointestinal és un dels més afectats en el lupus eritematós sistèmic (LES), encara que en la major part dels casos és conseqüència d'efectes secundaris de fàrmacs o infeccions. L'afectació per la pròpia malaltia és menys freqüent que en altres òrgans, com ara l'afectació renal (nefritis lúpica). La incidència de les manifestacions gastrointestinals, però, podria subestimar-se ja que en ocasions no hi ha símptomes abdominals⁽³³⁾. A continuació es recullen les patologies clínicament més rellevants que afecten el tub digestiu i poden complicar el curs del LES:

- **Cavitat oral:** L'afectació oral sol ser freqüent, en forma de sequedat de mucosa i úlceres. De fet, la presència d'úlceres orals constitueix un dels criteris diagnòstics del LES; solen estar presents des de l'inici de la malaltia en més del 50% de pacients⁽³²⁾.
- **Esòfaq i estómac:** L'alteració de la motilitat esofàgica està present

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

en un 21%-72% de pacients, com a conseqüència de l'afectació directe de la musculatura. El tipus d'afectació pot ser una reacció inflamatòria dels músculs esofàgics, atròfia de la musculatura esofàgica o isquèmia per vasculitis. No s'ha trobat relació entre la simptomatologia associada a l'alteració de la motilitat esofàgica i l'activitat de la malaltia o tractament⁽³⁴⁾. L'afectació gastroduodenal sol ser en forma de dispèpsia o ulceració pèptica en relació a efectes secundaris dels medicaments.

- **Vasculitis mesentèrica lúpica:** Es tracta d'una enteritis isquèmica aguda que pot afectar tant a l'intestí prim com al gruixut, amb formació d'úlceres d'origen isquèmic que poden ser superficials o profones, podent arribar a complicar-se amb sagnat o perforacions. Aquesta entitat representa una de les causes més freqüents de dolor abdominal en pacients amb LES, però la prevalença descrita d'aquesta patologia varia molt segons les sèries, oscil·lant entre 0,2%-65%^(33,34). Els factors predisposants i els mecanismes patogenètics no estan clars, però es parla que determinades infeccions, l'ús d'antiinflamatoris no esteroïdals (AINE) i l'exposició a determinats agents químics, poden actuar com a factors desencadenants. En quan als mecanismes patogènics, s'han postulat la vasculitis inflamatòria secundària a dipòsits d'immunocomplexes i la trombosis dels vasos intestinals secundària a anticossos antifosfolípids circulants⁽³³⁾. Quan es produeix la curació, aquesta pot ser completa sense lesions residuals o poden quedar zones estenòtiques a l'intestí que ha estat afectat⁽³⁴⁾.
- **Enteropatia perdproteïna:** Es tracta de l'aparició d'edema i hipoalbuminèmia severa secundària a pèrdues digestives de proteïnes sèriques. Clínicament és poc comú, només hi ha uns 60 casos descrits a la literatura, amb dos sèries llargues de 16 i 15 pacients, ambdues asiàtiques, sense que estigui clar si hi ha predisposició genètica i/o influència de factors ambientals^(33,34). El mecanisme patogenètic està poc clar, però es pensa que pot ser secundari a ulceració de mucoses, vasculitis dels vasos sanguinis

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

intestinals, augment de la permeabilitat capil·lar o limfangièctasi intestinal^(33,34). Habitualment es dona en context de malaltia activa, amb serologia lúpica activa. Aproximadament la meitat dels casos d'aquesta entitat pot ser la primera manifestació del LES⁽³⁴⁾.

- **Pseudobstrucció intestinal:** Situació clínica rara però ben reconeguda. Sol donar-se en pacients amb malaltia activa i en bona part dels casos pot formar part de les manifestacions inicials. És més comú l'afectació de l'intestí prim i tradueix la disfunció de la musculatura llisa visceral, inervació entèrica i/o sistema nerviós autònom. Habitualment s'associa a uretero-hidronefrosi (2/3 dels casos), per afectació de la musculatura llisa; 1/3 dels pacients presenten també cistitis intersticial. Els mecanismes etiopatogènics proposats inclouen la isquèmia crònica per vasculitis, miopatia, neuropatia o la presència d'autoanticossos contra el múscul llis. La mortalitat pot arribar a ser del 18%, especialment si hi ha sobreinfecció bacteriana o afectació d'altres òrgans per la pròpia malaltia de base^(33,34).
- **Pneumatosis quística intestinal:** Es defineix com la presència de gas dins de la paret del tracte gastrointestinal. Es tracta d'una entitat poc comuna; La seva etiopatogènia és poc clara, però podria ser causada per la lesió de la mucosa i de la barrera immunològica per vasculitis lúpica i/o problemes de cicatrització de la paret intestinal en relació a tractament amb corticoides^(33,34).
- **Malaltia inflamatòria intestinal:** S'han descrit alguns casos de LES amb coexistència de colitis ulcerosa o malaltia de Crohn. Donat que ambdues malalties comparteixen simptomatologia semblant i que, a més, determinats fàrmacs utilitzats en el tractament de malaltia inflamatòries intestinals (antiTNF) poden induir LES farmacològic, el diagnòstic no és senzill^(33,35).
- **Enteritis eosinofílica:** Entitat poc comuna que en alguna ocasió s'associa a LES. Cursa amb simptomatologia digestiva i presència de hipereosinofília perifèrica. A la biòpsia intestinal s'observa

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

infiltració eosinòfila⁽³³⁾.

- **Enteritis infeccioses:** Donat que es tracta de pacients immunocompromesos, poden patir infeccions oportunistes per exemple per citomegalovirus. L'infecció per salmonel·la també és més freqüent en aquests pacients. De tots els pacients amb bacterièmia per salmonel·la, el 20% tenen LES mentre que en les bacterièmies per Gram negatiu no salmonel·la, només un 0,5% són LES⁽³⁶⁾. Els factors de risc són el tractament amb corticoides o citotòxics o complement baix. La mortalitat pot arribar al 28,5%⁽³⁴⁾.
- **Malaltia celíaca:** S'han descrit casos de coexistència entre LES i MC. Ambdues entitats comparteixen una base autoimmune comuna i els antígens d'histocompatibilitat HLA-B8 i HLA-DR3. L'aparició de l'MC es pot donar abans o després del diagnòstic de LES. La resposta a dieta sense gluten (DSG) i corticoides és bona^(37,38). Donat que la relació entre les MAS i l'MC són el centre del present treball, aquest tema es desenvoluparà en apartats posteriors.

En el LES també podem trobar afectació gastrointestinal fora del tub digestiu amb participació del 1) pàncrees (pancreatitis aguda, que és rara però greu)⁽³³⁾; 2) hepatobiliar en forma de hepatomegàlia (40% de casos), esplenomegàlia (6% de pacients), hepatitis autoimmune (10% de pacients), hepatitis crònica activa (2,7%-4,7%), i rarament cirrosi biliar primària⁽³⁴⁾; 3) peritoneal en forma de peritonitis primària o ascites secundària (infeccions, infart intestinal, perforació, pancreatitis, vasculitis mesentèrica o serositis, fallida renal o cardíaca, entre d'altres)⁽³⁴⁾.

1.2.2 Síndrome de Sjögren

Es tracta d'una exocrinopatia autoimmune amb ampli espectre d'afectació sistèmica i organoespecífica. Es produeix per la proliferació de cèl·lules limfocitàries tipus B i T activades que envaeixen i destrueixen els òrgans diana; hi ha, a més, infiltració de glàndules exocrines per immunoglobulines. Tot i que l'òrgan diana per excel·lència són les glàndules salivars, pot afectar-se qualsevol part del tracte gastrointestinal⁽³⁹⁾. Les manifestacions més freqüents són la

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

xerostomia i la xeroftalmia, però, també es produeix atrofia esofàgica o gastritis crònica atrofica. Més rara és l'afectació pancreàtica, en forma de pancreatitis subclínica. Altres patologies que es poden trobar són: alteració dels enzims hepàtics (7%), hepatomegàlia, eritema palmar, pruija, icterícia, jejunitis, sigmoiditis, malaltia inflamàtoria intestinal (MII) i/o malabsorció deguda a infiltració limfocitària⁽³²⁾.

1.2.3 Esclerosi sistèmica

Malaltia del teixit conjuntiu que provoca la fibrosi de pell i altres òrgans. L'afectació gastrointestinal és habitual, podent afectar qualsevol part del tracte digestiu. L'afectació esofàgica, però, és la més comuna i pot estar present en un 80%-90% dels casos. L'afectació de l'esòfag produeix l'alteració de la motilitat del mateix que condiciona l'aparició de símptomes com la dispèpsia i disfàgia, o el reflux gastroesofàgic. L'afectació de l'intestí prim produeix també alteració de la motilitat, produint pseudobstrucció crònica i/o sobrecreixement bacterià (condicionarà símptomes de malabsorció de sals biliars, greixos, hidrats de carboni, proteïnes i vitamines). L'afectació del còlon: comporta l'aparició de clínica de pseudoobstrucció o colitis isquèmica⁽³²⁾. Com s'ha mencionat abans, una altra entitat, poc comuna, però que es pot associar a ES és la pneumatosi quística intestinal^(33,34). També s'ha descrit a la literatura alguns casos aïllats d'MC en pacients amb escleroderma⁽⁴⁰⁾, que després comentarem.

1.2.4 Miopatia inflamàtoria (polimiositis i dermatomiositis)

La polimiositis i la dermatomiositis es caracteritzen per l'afectació inflamàtoria de la musculatura estriada i, en menor mesura, de la llisa. L'aparell digestiu es pot afectar en tota la seva extensió, però la part més freqüentment afectada és l'esòfag en forma d'alteració de la motilitat esofàgica; el tipus d'afectació esofàgica més greu és, però, la que té relació amb l'afectació vascular, ja que pot conduir a patologia isquèmica amb les conseqüents ulceracions i perforacions. L'afectació del còlon comporta estrenyiment per afectació muscular. S'ha trobat relació entre les miopaties i les malalties inflamatòries intestinals i neoplàsies digestives⁽³²⁾.

1.2.5 Síndrome Antifosfolípídica

L'afectació hepàtica és l'afectació digestiva més comuna a la síndrome antifosfolípídica (SAF), seguida d'events trombòtics de diferents branques de la circulació intestinal. A més, hi ha descrits casos esporàdics d'infart esplènic i pancreatitis aguda^(32,40). A continuació es descriu l'afectació del tub digestiu més comunament associada a aquesta entitat:

- **Manifestacions trombòtiques intestinals**: la trombosi o infart intestinal venós o arterial és la manifestació més característica en la SAF. S'haurien de determinar els anticossos antifosfolípid en aquells casos en què hi hagi pacients que presentin dades d'isquèmia intestinal sense factors de risc clars⁽⁴¹⁾.
- **Malaltia inflamatòria intestinal**: S'ha descrit algun cas puntual de pacients amb trombosis recurrent associada a anticardiolipina que van desenvolupar malaltia de Crohn⁽⁴²⁾. S'ha vist també que els pacients amb MII tenen una prevalença d'anticossos antifosfolípid major que la població general, però sembla que sigui un epifenomen i no s'ha aclarit el significat patològic dels mateixos.

A banda de l'afectació del tub digestiu, com s'ha mencionat prèviament, a la SAF és comuna l'afectació hepàtica, destacant la patologia trombòtica del mateix: Síndrome de Bud-Chiari, malaltia hepàtica venooclusiva i infart hepàtic^(41,43); Pel que fa a l'afectació pancreàtica, s'ha relacionat la pancreatitis aguda amb alguns casos de SAF. L'infart esplènic s'ha descrit puntualment, essent relativament més freqüent en el context de SAF catastròfic⁽⁴¹⁾.

1.2.6 Vasculitis sistèmiques

1.2.6.1 Arteritis de cèl·lules gegants i vasculitis de Takayasu

Aquestes ambdues entitats són vasculitis que afecten a grans vasos, la primera, amb predilecció per les artèries intracranials i, la segona, per les extracranials.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

L'afectació digestiva deriva en els dos casos de l'afectació de les artèries intraabdominals, essent rara en el primer cas i relativament més comuna en la malaltia de Takayasu. S'han descrit també alguns casos aïllats de pancreatitis aguda. L'elevació de les transaminases es troba fins en un 20% dels casos d'arteritis de cèl·lules gegants⁽³²⁾.

1.2.6.2 Malaltia de Kawasaki

Vasculitis de mitjà vas que afecta a població pediàtrica. Es pot produir obstrucció de l'intestí prim, secundària a isquèmia (per estenosi i adherències). Entre altres manifestacions trobem l'hídrom vesicular, l'ili paralític i hepatitis⁽³²⁾.

1.2.6.3 Vasculitis necrotitzants (panarteritis nodosa clàssica, poliangeitis microscòpica, Wegener i síndrome de Churg-Strauss)

L'afectació intestinal és deguda a l'afectació per la pròpia vasculitis. Estudis clàssics parlen que el tracte gastrointestinal es troba afectat entre el 40%-60% en panarteritis nodosa, 30%-56% en poliangeitis microscòpica, 20%-50% en Churg-Strauss i 5%-11% en Wegener. Un estudi més recent, publicat l'any 2005, va revisar 62 pacients amb vasculitis necrotitzant i afectació abdominal i va trobar que el 97% presentaven dolor abdominal amb intensitat variable. Un 34% greu amb criteris d'abdomen quirúrgic. En els pacients sotmesos a endoscòpia per hemorràgia digestiva alta o baixa, bona part presentaven ulceracions. En quan a les troballes angiogràfiques, un 67% tenien troballes compatibles amb vasculitis, tot afectant artèries renals, hepàtiques, mesentèriques i esplèniques. També es van trobar casos d'infarts parenquimatosos renals i hepàtics. Com en altres estudis, la mortalitat per afectació abdominal greu és alta, ja que oscil·la entre 18%-44%, essent els marcadors de mal pronòstic la peritonitis, perforació i isquèmia intestinal i l'oclusió intestinal⁽⁴⁴⁾.

1.2.6.4 Púrpura de Shonleich-Henoch

Vasculitits sistèmica de petit vas, que afecta més comunament a nens. La clínica abdominal sol estar present en un 75% dels casos, habitualment per ulceració de la mucosa intestinal, essent la segona part del duodé la més afectada habitualment⁽³²⁾.

1.2.7 Malalties autoinflamatòries

1.2.7.1 Malaltia de Behçet

L'afectació gastrointestinal de la malaltia de Behçet es dona en el 0%-60% dels pacients, depenent de la població, essent més habitual en països com Japó⁽⁴⁵⁾. Es pot afectar pràcticament qualsevol part del sistema gastrointestinal, en forma d'inflamació i d'úlceres que provoquen simptomatologia caracteritzada per nàusees, dolor abdominal, anorèxia i diarrees (sovint sanguinolentes), que fan difícil distingir-la de la patologia inflamatòria intestinal⁽³²⁾. L'afectació intestinal sol aparèixer uns 4-6 anys després de les úlceres orals. Tot i que es pot afectar qualsevol tram del tracte intestinal, és comuna l'afectació de la regió ileocecal, essent molt rara l'afectació rectal. Les úlceres duodenals, a diferència de les úlceres pèptiques cròniques, no produeixen deformitat. Es pot observar també afectació hepàtica, esplènica i pancreàtica, essent la síndrome de Bud-Chiari una de les manifestacions extraintestinals amb pitjor pronòstic⁽⁴⁵⁾.

1.2.7.2 Sarcoidosi

Es caracteritza per la formació de granulomes amb afectació multisistèmica. El 95% dels pacients presenten afectació intratoràcica i, entre un 40%-50%, també poden presentar afectació extratoràcica en el moment del diagnòstic, però, només en un 10% dels casos, les manifestacions extratoràciques es presenten de forma aïllada. Tot i que la sarcoidosi pot afectar múltiples òrgans, un en el qual més rarament afecta és el sistema gastrointestinal. Al llarg dels anys, hi ha descrits a la literatura casos de sarcoidosi amb afectació d'alguna part de l'aparell digestiu, essent els més afectats l'estómac i el fetge (habitualment en context de malaltia

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

disseminada amb afectació pulmonar). La Sarcoïdosi gàstrica: Tot i que és un dels segments més afectats, només sol donar-se clínicament en un 0,1%-0,9% dels pacients. Les formes ulceratives solen tenir localització antral, pilòrica i a curvatura menor. Les formes infiltratives poden portar a l'obstrucció de la sortida de l'estómac per formació de pòlips o hiperplàsia. La granulomatosi hepàtica es dóna fins en un 70% dels pacients i sol ser asimptomàtica. L'afectació esofàgica per la sarcoïdosi és molt rara, i pot produir esofagitis per reflux, disfàgia o pèrdua de pes. L'afectació de l'intestí prim i gruixut: l'afectació de l'intestí prim és la menys comuna de les afectacions gastrointestinals, havent-se descrit una enteropatia perdedora de proteïnes. L'afectació de l'intestí gruixut va des de l'obstrucció secundària a l'estenosi, masses o compressió extrínseca a diarrea, tenesme o hematoquèzia per colitis granulomatosa o proctocolitis⁽⁴⁶⁾.

En conclusió, l'afectació intestinal de les MAS és molt variada, i les complicacions digestives constitueixen una de les principals causes de morbiditat⁽³²⁾. La relació d'aquestes MAS amb l'MC serà comentada en detall més endavant per ser el motiu d'aquest treball.

1.3 Enteropatia sensible al gluten.

1.3.1 Definició i fisiopatologia de la malaltia celíaca

L'MC és una enteropatia crònica, produïda per la reacció immunològica induïda pel gluten de la dieta en individus genèticament predisposats. La reacció immunològica a les fraccions de gliadina i glutenina del blat, ordi i sègol, desencadena la inflamació de la mucosa duodenal⁽⁴⁷⁾. Aquesta inflamació dóna lloc a un ampli ventall de presentacions clíniques, una resposta específica d'autoanticossos en sèrum i dany variable de la mucosa intestinal, que són les característiques de l'MC⁽⁴⁸⁾.

1.3.1.1 Paper del gluten

El gluten és una proteïna, formada per dos fraccions proteïques, la gliadina i la glutenina, que són riques en glutamina i prolina. El gluten és una proteïna

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

escassament digerida en el tracte digestiu superior. La gliadina és la fracció soluble en alcohol del gluten que conté la major part dels components tòxics. Les molècules no digerides de gliadina són resistents a la degradació, tant pels sucs gàstrics i pancreàtics, com per les proteases de membrana de les vellositats de l'intestí humà⁽⁴⁹⁾. El procés patogènic té a veure amb una alteració en la integritat del sistema de “tight junction” de l'epiteli intestinal que permetria que aquestes macromolècules passessin a la submucosa, on es desencadenaria la resposta immunitària⁽⁴⁷⁾.

1.3.1.2 Resposta immune de la mucosa

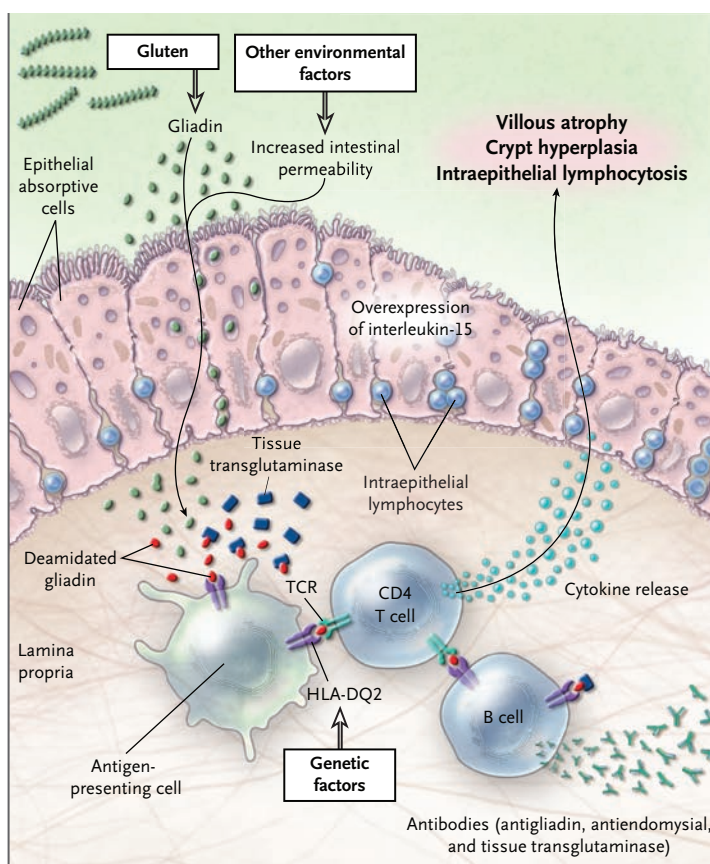
La resposta immunitària a les fraccions de la gliadina provoca una reacció inflamatòria que es caracteritza per la infiltració de la làmina pròpia i l'epiteli per cèl·lules d'inflamació crònica i atròfia vellositària⁽⁴⁹⁾. El gluten esdevé el substrat de la transglutaminassa 2 o transglutaminassa tissular (tTG), que es troba a la submucosa. Aquest enzim desamina els pèptids de gliadina, convertint els residus de glutamina en residus de glutamat carregats negativament, facilitant així la unió de la gliadina a les molècules HLA de classe II DQ2 o DQ8 expressades per les cèl·lules presentadores d'antígens (CPA)⁽⁴⁷⁾. La resposta adaptativa, doncs, ve determinada pels limfòcits tipus T-CD4⁺ (LT-CD4⁺), reactius a gliadina, que es troben a la làmina pròpia i que reconeixen els pèptids de gliadina que estan units a molècules d'HLA classe II DQ2 o DQ8, de les CPA; en resposta a aquesta reacció, les cèl·lules T produiran citocines proinflamatòries (IFN- γ). A partir d'aquí, comença una cascada inflamatòria que allibera metaloproteases i altres mediadors que danyen els teixits i indueixen la hiperplàsia de criptes i la lesió de vellositats. Els pèptids de la gliadina, també activen una resposta immunològica innata a l'epiteli intestinal que es caracteritza per l'augment de l'expressió d'IL-15 pels enteròcits, provocant l'activació dels LIE que expressen el receptor NK-G2D, un marcador de les cèl·lules Natural Killer. Les cèl·lules activades es tornen citotòxiques i eliminen els enteròcits que expressen a la seva superfície la cadena A del complex MCH-classe I (MIC-A)⁽⁴⁹⁾. A la figura 1.2 s'explica el procés que té lloc a la submucosa intestinal de forma més gràfica.

La presència d'autoanticossos dirigits contra la tTG i contra pèptids de gliadina

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

desaminada (DGP) en els pacients amb MC, suggereix que aquesta té un component autoimmune⁽⁴⁷⁾.

Figura 1.2: Interacció del gluten amb els factors genètics, ambientals i immunològics a la malaltia celíaca:



Extret de Green P and Cellier C, *N Engl J Med* 2007;357:1731-43.

1.3.1.3 Factors genètics

La predisposició familiar ve determinada per una càrrega genètica específica. L'MC no es desenvolupa a no ser que el pacient sigui portador dels al·lels HLA-DQ2 o l'HLA-DQ8 que codifiquen les proteïnes que presenten la gliadina al sistema immunològic. Tot i així, moltes persones que no pateixen la malaltia són portadores d'aquests al·lels. Per tant, la seva presència és necessària, però no suficient per a produir la malaltia. La contribució dels gens HLA al component genètic de l'MC és inferior al 50%. A partir d'estudis d'avaluació sistemàtica del

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

genoma (GWAs – Genome Wide Association-) s'han detectat altres gens que poden influir sobre la susceptibilitat de patir la malaltia, però no se n'ha trobat cap de determinant⁽⁴⁹⁾.

1.3.1.4 Factors ambientals

S'ha suggerit que alguns factors ambientals poden jugar un paper important en el desenvolupament de l'MC, com ara l'efecte protector de la lactància materna o la introducció progressiva del gluten durant el deslletament. No obstant, un estudi molt recent no confirma aquesta hipòtesi⁽⁵⁰⁾. La introducció del gluten abans dels 4 mesos es relaciona amb un major risc de patir la malaltia, risc que es disminueix dràsticament si la introducció és posterior als 7 mesos. Certes infeccions com ara la infecció pel rotavirus, també augmenta el risc d' MC⁽⁴⁹⁾.

1.3.2 Epidemiologia, manifestacions clíniques i complicacions

La variabilitat en les xifres de prevalença de l'MC és deguda, en part, als diferents mètodes de detecció emprats (serologia, histologia o manifestacions clíniques). Utilitzant la serologia com a mètode de detecció, a diverses àrees de la regió mediterrània, es pot arribar a detectar fins a un 1% de la població amb MC⁽⁵¹⁾. Degut a l'ampli espectre de manifestacions clíniques de la malaltia i a la seva inespecificitat, hi ha bona part de la població afectada que no està diagnosticada, encara que la taxa de diagnòstics va en augment, a causa d'un índex més alt de sospita⁽⁴⁹⁾.

Les manifestacions clíniques de l'MC varien segons l'edat i el grau d'afectació de la mucosa intestinal.

En lactants i nens petits, les manifestacions més freqüents són les digestives, incloent-hi la diarrea aquosa i la distensió abdominal, però també el retard de creixement. Altres manifestacions comunes són vòmits, irritabilitat, anorèxia o constipació. En nens més grans són freqüents les manifestacions extraintestinals com ara talla baixa, manifestacions neurològiques o anèmia⁽⁴⁹⁾.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

L'MC és més freqüent en dones (relació 2:1) i pot aparèixer en qualsevol edat de la vida. L'anomenada presentació clàssica es caracteritza per la presència de clínica digestiva molt florida: diarrees acompanyades de dolor o malestar abdominal, pèrdua de pes i signes evidents de malabsorció (hipoproteinèmia, hipocalcèmia)⁽⁴⁹⁾. La disponibilitat de mètodes no invasius de detecció serològica han permès identificar molts més casos monosimptomàtics o paucisimptomàtics, de tal manera que actualment aquestes són les formes de presentació més freqüents. De fet, l'anèmia ferropènica aïllada és el signe que permet amb més freqüència la identificació de la malaltia (fins a un 30%)⁽⁵²⁾. L'anomenada MC silent o silenciosa es detecta sovint en el context de l'avaluació sistemàtica de grups de risc. Els principals grups de risc són els familiars de primer grau de celíacs, la síndrome de Down, Sd. de Turner, o malalties autoimmunes organoespecífiques, com ara la DM-1 o malalties tiroïdals^(47,49). Alguns d'aquests pacients poden estar totalment asimptomàtics o presentar com a úniques manifestacions clíniques hipertransaminèmia, osteoporosi aïllada o símptomes digestius inespecífics, que es poden confondre amb clínica funcional⁽⁵³⁾.

La importància del diagnòstic i instauració d'un tractament eficaç (retirada del gluten de la dieta), recau en el control de les manifestacions clíniques i evitar les potencials complicacions derivades de l'MC:

osteopènia/osteoporosi i risc de càncer (principalment limfoma no Hodking Tipus T), i la mortalitat que se'n deriva^(54,55).

1.3.3 Mètodes i criteris diagnòstics actuals de la malaltia celíaca

La dificultat en el diagnòstic de l'MC i l'evolució en els mètodes utilitzats en les darreres dècades han donat lloc a modificacions en els criteris diagnòstics.

Des de la primera descripció de la lesió morfològica que va fer John Pauley a l'any 1957, el diagnòstic d'MC s'ha basat en la demostració de la lesió característica de l'intestí prim que és gluten dependent. El descobriment de mètodes diagnòstics precisos (serològics i genètics) a les darreres dècades ha permès identificar mitjançant tècniques de cribratge poblacional o de grups de risc gran quantitat de pacients amb formes silents o paucisintomàtiques. Aquest fet ha posat de

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

manifest que no sempre existeix relació entre el grau de la lesió histològica i la gravetat i intensitat de les manifestacions clíniques. Un canvi important en els criteris diagnòstics de l'MC ha sigut la progressiva acceptació que les formes d'enteropatia histològicament lleu (enteropatia limfocítica, enteritis limfocítica –EL-, o limfocitosis duodenal), formen part de l'espectre de l'MC i s'han de tractar com a tals quan produeixen símptomes o signes clínicament rellevants^(13,56).

1.3.3.1 Evolució històrica dels criteris diagnòstics

Els primers criteris diagnòstics es van proposar a Interlaken l'any 1969 per la Societat Europea de Gastroenterologia Pediàtrica i Nutrició (ESPGAN)⁽⁵⁷⁾, i van quedar establerts i enunciats en el segon simposi de la societat al 1974; van ser acceptats i publicats sense canvis el 1979⁽⁵⁸⁾. El diagnòstic quedava establert mitjançant la realització de biòpsia en individus amb sospita clínica fundada d'MC. Era necessària la realització de tres biòpsies per tal de demostrar la relació entre la presència del gluten a la dieta i la lesió intestinal. Es realitzava una primera biòpsia abans d'iniciar la dieta sense gluten (DSG), una segona biòpsia per demostrar la millora histològica amb la retirada del gluten de la dieta i una tercera biòpsia que es realitzava per demostrar la reparació de la lesió després de la provocació amb gluten. La complexitat del procés, juntament amb que la biòpsia s'havia de realitzar mitjançant càpsula de Watson-Crosby, va condicionar que només es detectessin els casos més greus de la malaltia i que s'arribés a considerar, especialment en alguns països com Estats Units, que l'MC era una malaltia rara⁽⁵⁹⁾. Donat que la forma clàssica de l'MC que cursa amb diarrea greu, desnutrició i deshidratació es dona casi exclusivament en edat pediàtrica, durant molts anys es va considerar que l'MC era una malaltia pròpia de la infància⁽⁶⁰⁾. La realització de la tercera biòpsia es va començar a qüestionar arran del poc seguiment a la pràctica clínica d'aquestes recomanacions. A més, es va publicar una gran sèrie pediàtrica que va demostrar que en la majoria dels casos es produïa una clara resposta clínica i histològica a la DSG i que en més del 90% dels casos es confirmava el diagnòstic amb la biòpsia de provocació⁽⁶¹⁾.

L'any 1990 es van publicar els criteris diagnòstics revisats de l'ESPGAN, que han estat vigents fins fa poc més d'un any per al diagnòstic d'MC a la població

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

pediàtrica⁽⁶²⁾. Respecte dels criteris previs, es simplifica el procés diagnòstic, exigint només una biòpsia basal amb histologia característica (atròfia de vellositats, hiperplàsia de criptes i infiltració limfocítica) i clara millora clínica amb DSG. Es dóna major valor diagnòstic complementari a les proves serològiques, especialment als EMA. Només en els casos en què el diagnòstic és dubtós, s'exigeixen la segona i tercera biòpsies. El desenvolupament de mètodes serològics de diagnòstic sensibles i específics (EMA i anti-tTG), van permetre aprofundir en l'“iceberg celíac” posant en evidència que l'MC no és una malaltia de l'edat pediàtrica i que es pot diagnosticar en qualsevol edat de la vida. Les guies de la Societat Nord-americana de Gastroenterologia Pediàtrica, Hepatologia i Nutrició (NASPGHAN)⁽⁶³⁾ publicades l'any 2005, reafirmen la necessitat de la biòpsia intestinal per a establir el diagnòstic d'MC, que es considera definitiu quan existeix una biòpsia basal amb atròfia i es produeix una clara resposta clínica a la DSG. La negativització de la serologia dóna major pes al diagnòstic. No és fins a la publicació d'unes recomanacions per al diagnòstic de l'MC de l'Associació Americana de Gastroenterologia (AGA) el 2006⁽¹³⁾, en què s'admet com a MC tot l'espectre histològic de la lesió gluten dependent (des del patró infiltratiu o EL a atrofia total) i es reconeix el valor diagnòstic complementari d'un estudi genètic positiu (taula 1.1). No es contempla com a MC, en canvi, l'EL amb serologia negativa, que representa més del 70% del total d'EL (la positivitat dels autoanticossos depèn de la gravetat de la lesió). Donat que existeixen evidències que l'EL pot ser tant simptomàtica com l'MC amb atròfia⁽⁴⁾ i que pot respondre també a DSG^(64,65), la revisió dels criteris diagnòstics a l'edat adulta hauria de tenir en compte aquest extrem de l'espectre histològic de l'MC. Els criteris de la ESPGHAN 2012⁽⁵⁶⁾ contemplen també per primera vegada la possibilitat de diagnosticar MC en nens amb enteropatia lleu i amb estructura vellositària conservada. En aquests casos, la positivitat de la serologia incrementa la sospita diagnòstica d'MC, tot i que es reconeix la baixa positivitat de la serologia en aquesta situació (10%). L'especificitat diagnòstica augmenta amb la detecció d'un increment dels limfòcits $\gamma\delta$ per tècniques d'immunohistoquímica en biòpsies congelades o la presència de dipòsits duodenals de IgA anti-tTG. Aquests últims s'ha suggerit que prediuen la progressió d'MC potencial a atròfia.

Taula 1.1: Recomanacions diagnòstiques de l'American Gastroenterological Association (AGA 2006)⁽¹³⁾:

- Lesió histològica característica: atròfia total/parcial/limfocitosi intraepitelial
- Resposta clínica i serològica inequívoca a la DSG
- Test de provocació en els casos dubtosos
- Descartar altres entitats que produeixen lesions semblants
- Informació complementària del'estudi genètic (VPN*)

*VPN: valor predictiu negatiu

Com a important novetat els criteris de l'ESPGHAN 2012 donen molt més valor diagnòstic a una serologia positiva, de tal manera que en pacients pediàtrics amb clínica de l'espectre de l'MC, uns anticossos anti-tTG positius poden ser suficients per establir el diagnòstic d'MC sempre que es compleixin les següents premisses : 1) que els valors siguin 10 vegades el límit de referència d'anticossos comercialitzats per laboratoris amb estàndards de qualitat reconeguts i amb corbes de calibratge per a títols alts, 2) que la positivitat es confirmi també amb positivitat d'EMA i 3) que l'estudi genètic HLA-DQ2 o DQ8 sigui positiu. En canvi en nens asimptomàtics avaluats en el context de grups de risc, la biòpsia intestinal segueix sent inexcusable quan es detecta una serologia positiva. En ambdós casos, la negativització de la serologia dóna més consistència al diagnòstic⁽⁵⁶⁾. La principal preocupació que han generat aquestes noves guies de diagnòstic és que les estrictes condicions exigides per no realitzar una biòpsia confirmatòria es vagin fent més laxes en la pràctica clínica. D'aquesta manera es podria arribar a l'extrem d'establir erròniament un diagnòstic d'MC pel sol fet de tenir anticossos anti-tTG positius, independentment dels títols i de la qualitat del laboratori i sense complir tots els requeriments anteriorment esmentats. És per aquest motiu que

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

diverses societats de pediatria al món no han adoptat encara aquestes recomanacions.

La major part de societats científiques, però, consideren que davant l'elevada especificitat de la serologia, en alguns casos amb símptomes compatibles i autoanticossos positius a títols elevats i una bona resposta a la DSG, la biòpsia és innecessària per establir el diagnòstic⁽⁶⁶⁾. Aquesta controvèrsia es desenvoluparà en el següent apartat.

S'ha proposat la simplificació del diagnòstic amb la regla "4 de 5" quan es compleixen 4 dels 5 criteris (o tres si no hi ha estudi genètic) que es mostren a la taula 1.2⁽⁶⁶⁾.

Malgrat tot, hi ha casos en què el diagnòstic continua essent un repte, com ara el cas de pacients amb serologia positiva i biòpsia normal, pacients simptomàtics amb serologia negativa i lesions mínimes amb arquitectura vellositària total o parcialment conservada i pacients simptomàtics amb estudi genètic negatiu i biòpsia intestinal compatible.

En pacients simptomàtics amb serologia negativa i biòpsia amb lesions mínimes amb arquitectura vellositària total o parcialment conservada, la resposta histològica ha de ser inequívoca, requerint en alguna ocasió la realització de 3 biòpsies seguint un esquema semblant al proposat per l'ESPGHAN el 1979 (figura 1.3); en aquest cas, la resposta histològica és fonamental, ja que es podria acabar diagnosticant d'MC a pacients que tenen altres causes d'alteració de la mucosa intestinal indistingible de la produïda per la sensibilitat al gluten⁽⁶⁷⁾.

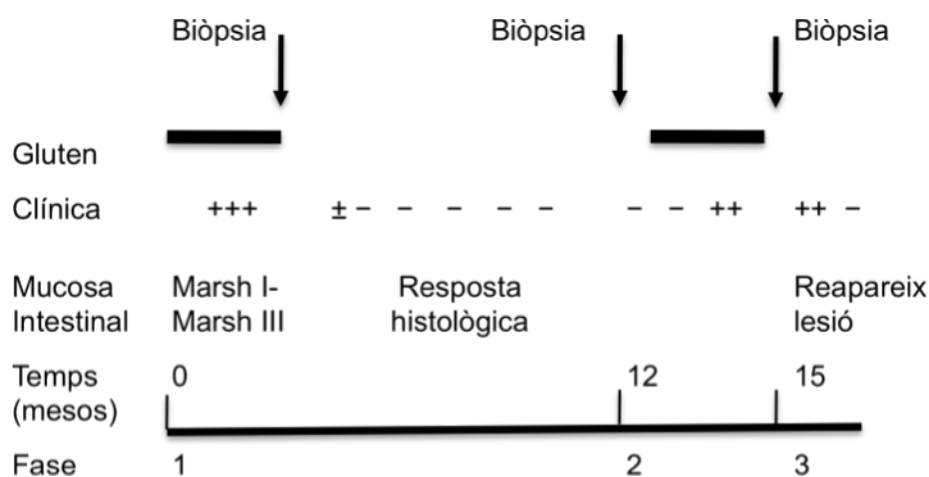
INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Taula 1.2: Criteris diagnòstics “Regla 4 de 5” (o “3 de 4” en absència d’estudi genètic)⁽⁶⁶⁾:

1. Síntomes típics (ex: diarrea, retard de creixement, anèmia...).
2. Positivitat d’autoanticossos de classe A a títols elevats (s’accepta IgG si dèficit d’IgA. Els Ac IgG anti-gliadina deamidada afegeixen major valor al diagnòstic).
3. Positivitat dels genotips HLA-DQ2 i DQ8.
4. Enteropatia a la biòpsia intestinal (inclou de Marsh 1-amb serologia positiva o associat a dipòsits subepitelials d’IgA- a Marsh 3).
5. Resposta a DSG* (Histològica en pacients seronegatius).

Modificado de Catasi C, Fasano A. Am J Med 2010;123:691-3.*DSG: dieta sense gluten.

Figura 1.3: Esquema diagnòstic dels pacients amb malaltia celíaca i serologia negativa* (modificació dels criteris de l’ESPGAN 1979):



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

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Cada vegada hi ha més informació que suggereix que la sensibilitat al gluten pot ser transitòria(68,69) i que es poden desenvolupar fenòmens de tolerància sobre tot en les primeres etapes de la vida. Però fins que no es conegui millor la història natural de l'MC, tots els pacients amb MC ben documentada han de seguir una dieta sense gluten, estricta durant tota la vida.

1.3.3.2 Valor diagnòstic de la serologia

Els marcadors serològics són útils per a identificar individus que requereixen la realització d'una biòpsia intestinal diagnòstica, refermen el diagnòstic en aquells pacients que tenen alteracions histopatològiques característiques d'MC i serveixen per a monitoritzar la resposta i adherència a la DSG. A més a més, els marcadors serològics s'utilitzen en estudis epidemiològics per a determinar la prevalença d'MC en diferents grups de població. Donada la seva rellevància, és important definir les característiques diagnòstiques dels diferents tests serològics disponibles.

1.3.3.2.1 Test serològics de malaltia celíaca disponibles

- ◆ Anticossos antiendomisi (EMA) IgA: Descrits l'any 1984, van dirigits contra la substància intermifibril·lar del múscul llis. Les seves característiques clau es descriuen en l'estudi inicial i són la seva presència a la majoria de pacients amb MC, elevada especificitat per a MC i que els títols van en augment en relació a la gravetat de la lesió⁽⁷⁰⁾. S'ha confirmat, posteriorment, que la sensibilitat i especificitat dels EMA és molt superior a la dels anticossos antigliadina i antireticulina sèriques utilitzats fins llavors en el diagnòstic d'MC. Els principals inconvenients de la utilització d'aquests anticossos són el seu elevat cost i, també, que es requereix personal entrenat per a valorar amb un microscopi la fluorescència de l'anticòs, requerint temps i essent, a més, una prova subjectiva. L'especificitat dels EMA IgA és molt elevada (prop del 99%), però, a la vegada, la subjectivitat a la que estan lligats fa que hi hagi més falsos negatius que en la concentració sèrica de transglutaminassa tissular IgA⁽⁷¹⁾.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

- ◆ [Anticossos antitransglutaminassa tissular \(anti-tTG\) IgA](#): Van dirigits contra la transglutaminassa tissular, que és un enzim calci dependent que catalitza la unió de proteïnes. Es troba a diferents òrgans i teixits, formant part de l'espai intra o extra-cel·lular (on forma part de l'acoblament de la matriu) i com a molècula d'adhesió i reparació dels teixits. Els mètodes per a detectar els anticossos anti-tTG utilitzen ELISA que dona resultats quantitius i no dependents de l'operador. Inicialment els "kits" comercials utilitzaven tTG de conill d'índies, però actualment utilitzen tTG humana purificada o humana recombinant, ja que existeix evidència científica sòlida que mostra que aquests són superiors als que utilitzen tTG de conill d'índies (sensibilitat de 94% vs 91%; especificitat 95% vs 89%)⁽⁷²⁾. Malgrat els beneficis d'aquesta tècnica (baix cost, facilitat d'ús i grau de precisió diagnòstica), la sensibilitat i especificitat varia entre laboratoris⁽⁷³⁾ i poden donar falsos positius en persones amb síndromes coronaris aguts o amb cirrosi hepàtica⁽⁷⁴⁾.
- ◆ [Anticossos IgA i IgG anti-gliadina desaminada \(a-DGP\)](#): Test relativament nou que detecta els anticossos que s'uneixen als pèptids de gliadina desaminada. L'enzim que catalitza aquesta desaminació és la tTG. Hi ha una relació creuada entre la DGP i tTG, tot creant epítops immunogènics i augmentant la presentació antigènica de la gliadina⁽⁷⁵⁾. Seria esperable que els resultats basats en tests serològics que utilitzen DGP i tTG fossin semblants però, en canvi, un meta-anàlisi d'11 estudis que comparen els dos tipus de test, demostra que la tTG proporciona millors resultats pel que segueix essent el test serològic d'elecció (DGP: Sensibilitat 88%; Especificitat 94%; tTG: Sensibilitat 93%; Especificitat 96,5%)⁽⁷⁶⁾.
- ◆ [Anticossos antitransglutaminassa tissular IgG \(tTG IgG\)](#): La prevalença del dèficit selectiu d'IgA en la població celíaca és de 1:50 (1:700 a la població general)⁽⁷⁷⁾. Es recomana per aquest motiu mesurar la concentració total d'IgA a tots els pacients en què es realitza la determinació dels anticossos sèrics. En cas de dèficit d'IgA, determinar tTG i IgG. Els resultats amb els "kits" IgG és una mica pitjor, essent la sensibilitat entre 75%-95% i l'especificitat entre 94%-100%⁽⁷⁸⁾.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

- ◆ Anticossos anti gliadina (AAG) IgA i IgG: Són els primers anticossos que es van utilitzar per al diagnòstic de l'MC. No obstant, la conferència de consens sobre MC de la NIH, l'any 2005, ja recomanava no utilitzar-los per la seva baixa sensibilitat i la disponibilitat de tests més sensibles i específics⁽⁶³⁾.

Taula 1.3: Sensibilitat i especificitat dels tests serològics de la malaltia celíaca, segons la revisió de Rostom et al⁽⁷¹⁾:

Test serològic	Sensibilitat (%)	Especificitat (%)
AAG		
IgA AAG	75-95	80-95
IgG AAG	69-85	73-90
IgA EmA	85-98	97-100
IgA tTG		
tTG conill d'índies	81-96	92-98
tTG humana	86-99	91-99

1.3.3.2.2 Tests de punt de contacte

Es basen en aparells diagnòstics in vitro utilitzats fora del laboratori, a prop del lloc d'atenció al pacient. Existeixen actualment tres mètodes ràpids per a la detecció de tTG en sèrum amb bona sensibilitat i especificitat⁽⁷⁴⁾, encara que són necessaris més estudis per tal d'avaluar la seva precisió en diferents situacions clíniques i amb major nombre de pacients. Donat que són tests que es realitzen amb una gota de sang, permeten una lectura visual del resultat. Convé valorar també en els pròxims anys el risc de que aquestes proves duguin a l'autodiagnòstic i, per tant, a l'autoadministració d'una dieta sense gluten sense haver realitzat biòpsia duodenal confirmatòria.

1.3.3.2.3 Problemes en valorar la precisió diagnòstica dels mètodes serològics

Els estudis que avaluen la precisió diagnòstica dels mètodes serològics s'enfronten a una sèrie de dificultats^(8,76). En el cas dels estudis que avaluen la sensibilitat, es basen en poblacions preseleccionades, la majoria des quals inclou individus seleccionats per a biòpsia intestinal per presentar serologia positiva, el que fa que la sensibilitat sigui molt més elevada que a la població general. En el cas de l'especificitat, es veu afectada en els estudis en què els individus són seleccionats per presentar serologia negativa (especificitat falsament elevada) o si els controls són pacients amb sospita d'MC amb biòpsia normal (especificitat falsament baixa).

Pel que fa al valor predictiu positiu (VPP: probabilitat de patir la malaltia essent la prova positiva), quan parlem de malalties amb una prevalença baixa, es veu fortament influenciat per la sensibilitat i especificitat de la prova. A la majoria de les situacions clíniques habituals, el VPP dels tests serològics és massa baix, el que fa que la serologia sigui insuficient per a fer el diagnòstic definitiu d'MC i, per tant, la biòpsia confirmatòria juga encara un paper important en el diagnòstic de l'MC (taula 1.4).

Els grups de risc genèticament determinats, com poden ser determinades malalties autoimmunes (DM-1, tiroïditis autoimmune, hepatitis crònica autoimmune o SS) tenen una prevalença estimada d'entre el 5% i el 10% i, per tant, el valor predictiu positiu de la serologia es trobaria entre el 65% i el 80%.

S'han de tenir en compte altres factors en avaluar la precisió de les proves serològiques. La freqüència de la serologia positiva depèn del grau de lesió histològica, essent inferior quan el grau de lesió és menor. En els casos amb atròfia total o subtotal de vellositats, s'ha descrit una sensibilitat de la serologia del 90%-95%, mentre que en els casos d'atròfia parcial, la sensibilitat és del 70%-90% i, en pacients sense atròfia (Marsh 1 i 2), la sensibilitat és inferior al 30%^(79,80).

TAULA 1.4: Valor Predictiu Positiu d'acord amb la prevalença de la població a estudi, amb sensibilitat del 98% i una especificitat del 97,2% del test diagnòstic:

Prevalença a la població	Valor Predictiu Positiu
1%	26%
5%	64,8%
10%	79,5%
15%	86%
20%	89,7%

Un altre problema afegit en la valoració dels resultats dels estudis que avaluen la precisió diagnòstica de la serologia és que no sempre es biopsien tots els pacients i controls i que quan es fa biòpsia no tots consideren la lesió de tipus Marsh 1 com a MC. Hi ha, a més, una manca d'estandardització entre els laboratoris comercials i s'utilitzen diferents punts de tall, fet que pot afectar tant la sensibilitat com l'especificitat. La precisió diagnòstica varia entre laboratoris^(73,81).

1.3.3.2.4 Malaltia celíaca amb serologia negativa

A pesar de l'acceptable precisió dels tests serològics per al diagnòstic de l'MC, ens trobem amb casos amb serologia negativa i que tenen MC indubtable. La prevalença d'aquesta situació la podem avaluar només en poblacions en què el diagnòstic s'ha basat en la biòpsia duodenal, sense conèixer la serologia prèvia. Un estudi multicèntric europeu descriu que l'MC amb atròfia vellositària i serologia negativa representa el 6,4% dels casos d'MC⁽⁸²⁾. La freqüència augmenta quan la lesió histològica és menor^(79,83), pel que es recomana realitzar biòpsia duodenal a tots els pacients amb quadre clínic compatible i alta sospita d'MC. En aquest cas, l'estudi genètic mitjançant els haplotips HLA-DQ2 i HLA-DQ8 pot ajudar en la

presa de decisions.

1.3.3.2.5 Paper dels mètodes serològics en el diagnòstic de la malaltia celíaca

La disponibilitat de mètodes serològics no invasius ha representat un abans i un després en el diagnòstic de la malaltia i en la capacitat d'identificar formes poc simptomàtiques. Això, no obstant, ja s'ha exposat que no és un mètode diagnòstic perfecte (100% de sensibilitat i especificitat). En aquest sentit, varis estudis prospectius han valorat el possible error diagnòstic d'una serologia falsament negativa^(84,85). Com ja s'ha esmentat anteriorment, l'error augmenta si es tendeix a considerar com a MC tot l'espectre de lesió histològica. Existeix controvèrsia respecte a quin test serològic o combinació de tests s'ha d'utilitzar per a identificar casos de la manera més òptima possible. En aquest sentit, un estudi en pacients amb atrofia vellositària va avaluar conjuntament anti-tTG i EMA i van observar que el 83% tenien EMA, el 79% anti-tTG, el 67% anti-tTG i EMA, el 92% alguna de les dos i el 8% cap⁽⁸⁵⁾. En aquest estudi, un enfocament en dos etapes (primer anti-tTG seguit d'EMA, com es fa actualment en molts laboratoris assistencials) hagués detectat només dos terços dels pacients. No existeix, per tant, una concordança completa entre anti-tTG i EmA, i sembla que la detecció de l'MC pot ser millor si es realitzen els dos tests en paral·lel. En la present tesi doctoral s'ha decidit utilitzar els 2 autoanticossos per a millorar la precisió diagnòstica.

En els casos lleus d'ESG la positivitat de la serologia dona més força al diagnòstic⁽⁶⁵⁾, però, com ja s'ha esmentat, en la majoria d'aquest casos la serologia és negativa i el diagnòstic és molt sovint un repte. S'han descrit alguns mètodes de laboratori generalment més sofisticats que poden ajudar al diagnòstic, com la detecció d'anticossos tTG positius en el sobrenadant del cultiu de la biòpsia duodenal⁽⁸⁶⁾, la detecció de dipòsits anti-tTG IgA subepitelials^(87,88) o l'estudi de subpoblacions limfocitàries, ja sigui per immunofluorescència sobre teixit congelat⁽⁸⁹⁾ o per citometria de flux de la biòpsia en fresc⁽⁹⁰⁾. Un resultat positiu de qualsevol d'aquests mètodes recolzen fortament el diagnòstic d'MC.

Un altre punt a remarcar és la utilitat de la serologia en el seguiment dels pacients

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

per a valorar el grau d'adherència a la dieta sense gluten en els casos en què la serologia és positiva en el moment del diagnòstic⁽⁷⁴⁾. Els anticossos anti-tTG i els EMA es normalitzen als dos-sis mesos després d'iniciar la DSG i, per aquest motiu, és útil per a valorar el grau d'adherència a la dieta i es recomana fer aquestes determinacions un any després de l'inici de la DSG. La serologia no pot utilitzar-se com un indicador de resolució histològica, ja que fins un 44% de pacients amb MC després d'un any d'iniciada la DSG presentaven atròfia de vellositats⁽⁹¹⁾ i un 50% de pacients tenien EL persistent⁽⁹²⁾. Actualment no disposem de millors mètodes per a la valoració de la remissió de l'MC que la informació sobre la resposta simptomàtica, serològica i histològica a la DSG i de l'enquesta dietètica per a valorar l'adherència a la dieta.

1.3.3.3 Valor diagnòstic de l'estudi genètic

L'MC s'associa a la presència d'al·lels específics de classe II del CMH (HLA-DQ). L'existència d'aquests al·lels és una condició necessària, però no suficient per a que es doni l'activació de l'MC.

Per a què un individu pugui desenvolupar una MC és necessari que expressi l'heterodímer DQ2 (codificat pels al·lels HLA-DQB1*02 i DQA1*05) o DQ8 (codificat pels al·lels HLA-DQB1*0302 i DQA1*03).

Més d'un 90% dels pacients celíacs són HLA-DQ2 positius, mentre que al voltant d'un 20%-30% de la població general (depenent de l'àrea geogràfica), és positiva per HLA-DQ2. L'HLA-DQ8 es detecta en un 5%-10% de pacients celíacs i en més del 10% de la població general^(5,6).

Els genotips que s'analitzen a l'MC són els HLA-DQA1 i els HLA-DQB1, per tal de determinar la presència o absència d'algun dels al·lels associats: HLA-DQA1*0501, HLA-DQA1*0505, HLA-DQB1*0201, HLA-DQB1*0202 o HLA-DQB1*0302. Pràcticament el 100% de pacients celíacs presentarien algun dels al·lels, encara que la majoria presentarien els dos al·lels del DQ2. Un estudi multicèntric amb inclusió de 1008 pacients amb MC i atròfia histològicament confirmada, va demostrar que el 88% eren positius pels dos al·lels del DQ2 i el 6% pels dos al·lels del DQ8. Del 6% de pacients negatius, la majoria presentaven

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

algun dels al·lels esmentats (generalment el HLA-DQB1*02)⁽⁹³⁾. La principal utilitat diagnòstica de l'estudi genètic rau en el seu elevat valor predictiu negatiu. És a dir, un estudi genètic negatiu descarta a la pràctica el diagnòstic d'MC actual i futur. És, per tant, de gran ajuda per delimitar les poblacions susceptibles d'avaluació histològica i/o seguiment clínic. L'elevat valor predictiu negatiu de l'estudi genètic negatiu queda demostrat en un estudi realitzat en 463 pacients amb simptomatologia de risc d'MC. El valor predictiu negatiu va ser del 100%, amb una probabilitat post-test d'MC de 0 quan l'estudi genètic va ser negatiu. En aquest mateix estudi es comparava la utilitat de l'estudi genètic amb la serologia per al diagnòstic d'MC amb atròfia. La sensibilitat de l'estudi genètic es va demostrar superior a la serologia (93,7% vs 81%) per al diagnòstic d'MC, però a expenses d'una menor especificitat (77% vs 99,3%). Aquest estudi confirma que, en la pràctica clínica, la sensibilitat de la serologia pel diagnòstic d'MC disminueix notablement en comparació al que succeeix en un entorn de recerca. De fet, en aquest estudi només es considera MC els pacients que tenen atròfia i no s'avalua la utilitat del estudi genètic pel diagnòstic de tot l'espectre histològic de la ESG⁽⁹⁴⁾. L'estudi genètic seguit de biòpsia intestinal ha demostrat ser útil en la identificació de més casos d'MC amb serologia negativa en grups de risc, com ara familiars de primer grau⁽⁴⁾ o pacients amb símptomes de risc com diarrea crònica aquosa⁽⁶⁴⁾ o l'anèmia ferropènica d'origen incert⁽⁹⁵⁾.

En un futur, l'estudi genètic podria proporcionar informació sobre el fenotip dels pacients amb MC. S'ha descrit, per exemple, que els pacients homozigots per l'al·lel HLA-DQB1*02 tenen un risc 5 vegades superior de ser celíacs que els heterozigots⁽⁹⁶⁾ i, a més, presenten més freqüentment MC clàssica i complicada⁽⁹⁷⁾. Així mateix, els estudis "GWA" han identificat altres possibles gens de susceptibilitat, sense que de moment s'hagi pogut establir la seva rellevància clínica^(6,98,99).

1.3.3.4 Valor diagnòstic de la biòpsia intestinal

La biòpsia intestinal es considera el "Gold Standard" pel diagnòstic de l'MC, però, la classificació histopatològica d'aquesta entitat ha patit diverses modificacions al llarg dels anys (Taula 1.5).

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

L'any 1992 Michael N Marsh va publicar una classificació del grau de lesió histològica basada en els resultats d'estudis dinàmics de provocació amb gluten, la qual va permetre descriure tot l'espectre de lesió histològica⁽¹⁰⁰⁾. Aquesta classificació, modificada posteriorment per Oberhuber et al., és la que més acceptació té entre clínics i patòlegs⁽¹⁰¹⁾. S'han proposat noves classificacions més senzilles que faciliten la reproductibilitat i grau de concordança entre patòlegs^(102,103), i que eliminen el tipus 2 (hiperplàsia de criptes) que és una lesió fugaç; i la tipus 4, que requereix tècniques citomètriques i d'immunohistoquímica per demostrar una expansió clonal aberrant.

La classificació més recent contempla tres nivells de gravetat de la lesió⁽¹⁰³⁾:

- Tipus 1: Estructura vellositària conservada amb augment de LIE (EL, limfocitosi intraepitelial o enteropatia limfocítica) i els casos amb hiperplàsia de criptes.
- Tipus 2: Escurçament de vellositats junt amb les troballes del tipus.
- Tipus 3: aplanament de vellositats junt amb les troballes del tipus 1.

Un altre aspecte essencial del diagnòstic anatomopatològic és establir el límit de normalitat de la mucosa intestinal pel nombre de LIE. El límit més generalment acceptat és de 25 LIE per 100 cèl·lules epitelials⁽¹⁰⁴⁾. La realització d'una immunotinció amb anticòs enfront de CD3 permet diferenciar més fàcilment els limfòcits i els nuclis de les cèl·lules epitelials i facilita el recompte⁽¹⁰³⁾.

El diagnòstic histològic de l'MC no és gens fàcil, fet que fa necessari que les biòpsies siguin avaluades per patòlegs experts i motivats en la patologia intestinal; es recomana, fins i tot, una segona opinió d'un patòleg expert en cas de dubtes.

La valoració de la resposta histològica a la DSG és també essencial. Actualment no existeixen criteris establerts que determinin quan hi ha una bona resposta histològica a la dieta. Se sap, però, que molts pacients amb bona resposta clínica i serològica a la DSG presenten lesions que van des de la infiltració limfocitària a l'atròfia parcial⁽⁹¹⁾. Per tal de facilitar una valoració objectiva, el grup de recerca, al si del qual s'ha realitzat la present tesi doctoral, ha publicat uns criteris de resposta que s'especifiquen a continuació⁽¹⁰⁵⁾:

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

- **Resposta completa:** evolució de Tipus 3-1 de Marsh-Oberhuber a Tipus 0 o al menys una reducció de més del 50% del número de LIE respecte a la biòpsia basal.
- **Resposta parcial:** Millora del grau d'atròfia (tipus 3C a 3B-3A de Marsh-Oberhuber o de tipus 3 a tipus 2 d'Ensary) i en el cas de pacients amb una biòpsia basal tipus 1, al menys una reducció dels LIE d'un 25% a un 50% respecte a la biòpsia basal.

Donada la possibilitat de lesions de distribució irregular i, per tal de valorar la resposta adequadament, és necessari identificar la localització de la presa de mostres tant en la biòpsia basal com en les biòpsies de control.

Taula 1.5: Classificació histopatològica de l'enteropatia sensible al gluten:

Marsh 1992 ⁽¹⁰⁰⁾	Oberhuber et al 1999 ⁽¹⁰¹⁾	Corazza & Villanaci 2005 ⁽¹⁰²⁾	Ensari A 2010 ⁽¹⁰³⁾
Tipus 1 Lesió infiltrativa	Tipus 1 Lesió infiltrativa	Grau A	Tipus 1
Tipus 2 Hiperplàsia criptes	Tipus 2 Hiperplàsia criptes	Desapareix S'afegeix al grau A	Tipus 1 S'afegeix al grau A
Tipus 3 Atrofia	Tipus 3 Atròfia Tipus 3A: Parcial Tipus 3B: Subtotal Tipo 3C: Total	Atròfia Grau B1 Grau B1 Grau B2	Atròfia Tipus 2 Tipus 2 Tipus 3
Tipus 4 Lesió destructiva	Tipus 4 Lesió destructiva	Obsolet	Obsolet

1.3.3.4.1 Diagnòstic diferencial de la lesió duodenal de la malaltia celíaca

La lesió histopatològica de l'MC no és patognomònica, ja que hi ha altres entitats que poden produir lesions microscòpiques idèntiques^(103,106,107). A la taula 1.6 es descriuen els principals diagnòstics a considerar tant en els pacients amb atròfia com en els pacients amb EL.

A. Diagnòstic diferencial de l'atròfia

Als països desenvolupats les infeccions gastrointestinals que ocasionen atròfia duodenal són molt menys freqüents que en els països en vies de desenvolupament. Per tant, la causa més freqüent d'atròfia duodenal en el nostre entorn és l'MC. Algunes malalties que ocasionen atròfia són molt poc freqüents, com la malaltia d'inclusió dels microvilli, que és una enteropatia neonatal molt rara, o com la enteropatia autoimmune, que afecta fonamentalment a nens. Recentment s'ha descrit una enteropatia relacionada amb l'administració d'Olmesartan, fàrmac antihipertensiu de la família dels antagonistes dels receptors de l'angiotensina II (ARA-II). A part de produir una atròfia total de vellositats, indistingible de l'MC, pot produir un quadre clínic greu amb malabsorció i deshidratació similar a l'MC clàssica. La serologia és sempre negativa i la resposta a la DSG és nul·la. Planteja, per tant, el diagnòstic diferencial amb l'MC refractària. Un percentatge elevat d'aquests pacients, al voltant del 60%, poden presentar positivitat dels al·lels de predisposició a patir MC. Això dificulta encara més el diagnòstic diferencial amb l'MC i suggereix que els pacients amb predisposició per l'MC podrien tenir també més predisposició a tenir atròfia duodenal per olmesartan. Es desconeix amb quina freqüència l'olmesartan pot ocasionar aquest quadre clínic tan greu però se sap que altres fàrmacs com ara el metotrexat poden ocasionar una lesió similar^(108,109). En la mateixa línia, un estudi recent ha avaluat la freqüència de pacients amb atròfia duodenal que no responen a la DSG i que, per tant, es consideren que no tenen MC. Els autors van identificar un total de 30 casos sobre una base de dades de 1200 pacients amb MC ben documentada, fet que dóna una idea de l'escassa prevalença d'aquesta entitat. Es van identificar un total de 10 etiologies, de les quals la enteropatia inespecífica immunològicament mediada va ser la més

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

freqüent, (un 30% dels pacients) seguida d'altres com l'esprue col·làgena o la duodenitis pèptica⁽¹¹⁰⁾. Des d'un punt de vista de l'objectiu de la present tesi doctoral, els resultats d'aquest estudi tenen molt interès perquè s'ha suggerit que les malalties autoimmunitàries o amb activació del sistema immune poden presentar una enteropatia inespecífica, no gluten dependent, que pot ser morfològicament idèntica a l'MC. La freqüència d'aquesta situació no es coneix amb exactitud.

B. Diagnòstic diferencial de l'enteritis limfocítica

L'EL, també anomenada limfocitosi duodenal o enteropatia limfocítica, es caracteritza per l'existència de lesions mínimes amb arquitectura vellositària preservada, les quals poden ser la conseqüència d'una resposta inespecífica i transitòria a nombroses noxes. Pot estar produïda per diverses etiologies que inclouen l'ESG, la infecció per *Helicobacter pylori* (HP), infestacions per paràsits com *Giardia Lamblia* o *Blastocystis Hominis*, hipersensibilitat a les proteïnes de la llet de vaca, lesió per AINE, colitis microscòpica o limfoma^(103,106,107). Un estudi poblacional, amb detecció endoscòpica de casos, va demostrar una prevalença d'EL del 5,4% a la població general⁽¹¹¹⁾. L'estudi es va realitzar sobre una mostra aleatòria de la població general adulta de Suècia i la taxa de resposta va ser molt alta (74,2% dels 3.000 individus adults de 2 comunitats a Suècia). Aquest estudi va permetre conèixer per primera vegada com és de freqüent l'EL en la població general.

A més, la detecció d'EL és una troballa histològica cada vegada més comuna quan les biòpsies de duodè es realitzen rutinàriament per descartar MC en el context de pacients pertanyents als grups de risc⁽¹¹²⁾. Dos estudis han avaluat prospectivament una àmplia mostra de pacients amb EL per a investigar sistemàticament l'etiologia d'aquesta entitat^(67,113). L'ESG en va ser la causa en el 16,8% i 43,3% dels casos en l'un⁽¹¹³⁾ o l'altre estudi⁽⁶⁷⁾.

Les diferències en la freqüència es poden atribuir a que en el segon d'aquests estudis els pacients es seleccionaven per a biòpsia intestinal, que s'indicava basant-se en el resultat de l'estudi genètic de predisposició. Hi ha, per tant, un

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

biaix important en aquest sentit. De fet, ja s'ha esmentat que l'estratègia de diagnòstic amb la determinació inicial del genotipat HLA-DQ2/DQ8 seguit de biòpsia duodenal en cas positiu, en pacients amb serologia negativa, és útil per aprofundir en l'anomenat iceberg celíac. És important remarcar que en més de la meitat dels pacients es va detectar més d'una etiologia, sent l'ESG i la infecció per HP els dos factors etiològics coexistents més freqüents. En ambdues sèries es considera que cap a un 4% (4% i 3,3%) dels pacients tenen una EL associada a malaltia autoimmune, però no queda clar com s'estableix aquesta associació, ni si aquesta és merament casual.

Per tot l'anteriorment esmentat, la utilització d'una estratègia de diagnòstic seqüencial basada en la resposta a tractaments específics és essencial per a establir l'etiologia d'una EL. Aquesta estratègia seqüencial s'utilitza també en aquesta tesi doctoral.

La demostració que una EL és deguda a ESG, quan la serologia és negativa, passa per tenir una resposta clínica i histològica clara a una DSG, en individus portadors dels gens de predisposició. Aquesta estratègia requereix molt de temps (generalment més d'un any) i precisa d'una bona adherència al seguiment per part dels pacients i dels metges responsables. Els nous mètodes diagnòstics anteriorment esmentats (dipòsits duodenals de transglutaminassa tissular, anticossos anti-transglutaminassa al sobrenedant de biòpsia duodenal o un patró citomètric celíac) poden donar molt suport al diagnòstic d'MC. Malauradament, no estan accessibles a la major part de laboratoris de pràctica assistencial.

Taula 1.6 Diagnòstic diferencial de la lesió duodenal de la malaltia celíaca:

Enteritis limfocítica (Tipus 1)	Atròfia (Tipus 2 i 3)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gastroduodenitis per <i>Helicobacter pylori</i> ▪ Hipersensibilitat alimentària (Proteïnes llet de vaca, soja, etc) ▪ Infeccions (Víriques, parasitàries, bacterianes) ▪ Sobrecrexement bacterià ▪ Fàrmacs (principalment AINE) ▪ Dèficit d'IgA ▪ Immunodeficiència comuna variable ▪ Malaltia de Crohn 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Malaltia d'inclusió de microvilli ▪ Hipersensibilitat alimentària (Proteïnes llet de vaca, soja) ▪ Enteropatia autoimmune ▪ Esprue Tropical ▪ Esprue col·lagen ▪ Celiaquia refractària (incloent limfoma de limfòcits T associat a enteropatia) ▪ Lesions per irradiació i/o quimioteràpia ▪ Malaltia de l'empelt contra l'hoste ▪ Dèficits nutricionals ▪ Secundària a fàrmacs (olmesartan) ▪ Enteropatia immunològicament mediada

*AINE: antiinflamatori no esteroïdal.

1.3.4 Dieta sense gluten

Els pacients amb atròfia duodenal han de seguir una dieta lliure de gluten estricta, i amb les dades de les quals disposem en l'actualitat, s'ha de fer durant tota la vida. En la majoria dels casos, aquesta mesura és suficient per revertir els símptomes, la progressiva negativització de la serologia (en els casos de positivitat inicial), així com la reversió de la lesió histològica. Aquesta reversió serà diferent en funció del grau d'afectació inicial; així, en aquells pacients amb lesió tipus Marsh IIIc (atròfia complerta), assolir la normalització completa de la mucosa no sempre s'aconsegueix i, com ja s'ha esmentat prèviament, en un percentatge de pacients variable⁽⁹¹⁾ persisteix un cert grau de lesió histològica. A l'EL hi ha controvèrsia sobre la necessitat de seguir o no una DSG. La retirada del gluten de la dieta als pacients celíacs està indicada tant per a tractar els símptomes relacionats amb l'MC, com per tractar i prevenir futures complicacions. Els pacients amb EL (Marsh I), se sap que poden tenir el mateix percentatge de símptomes gastrointestinals i extraintestinals, encara que en general, de menor

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

gravetat⁽⁴⁾. En aquests casos s'ha demostrat una bona resposta a la DSG^(65,114) i, per tant, es poden beneficiar de la dieta igual que els pacients amb atròfia duodenal. No hi ha actualment una clara evidència que aquests pacients amb enteropatia lleu tinguin les mateixes complicacions greus que els pacients amb atròfia, sobretot limfoma. La DSG estaria, per tant, indicada en aquells pacients amb enteropatia lleu, en presència de símptomes gastrointestinals o extraintestinals i no necessàriament amb una finalitat preventiva de complicacions. De tota manera i donat que alguns pacients amb EL poden presentar a llarg termini alteracions de la densitat mineral òssia(DMO)⁽¹⁰⁵⁾, mantenir amb una dieta lliure a aquests pacients obliga a fer densitometries periòdiques. La DSG estaria indicada, per tant, independentment del grau de lesió histològica, si hi ha simptomatologia gastrointestinal o extraintestinal associada; no hi ha dades en relació a la prevenció de complicacions, i no estaria indicada en aquells pacients amb enteropatia lleu que es trobin totalment asimptomàtics⁽¹¹⁵⁾.

1.3.5 Relació entre l'enteropatia sensible al gluten i les malalties autoimmunes

Des de fa anys es coneix que els pacients amb MC tenen un percentatge de malalties autoimmunes superior a la població general i aquest fet afecta no només als pacients, sinó també als seus familiars de primer grau⁽¹¹⁶⁾. La relació de l'MC amb malalties autoimmunes, òrgan específiques com són la DM-1, la tiroïditis autoimmuna i l'hepatitis autoimmuna^(7,11-14) està ben establerta des de fa anys. A més, aquestes malalties autoimmunes organoespecífiques constitueixen grups de risc genèticament determinats. El percentatge de positivitat dels al·lels de predisposició HLA-DQ2 i DQ8 són similars als dels familiars de primer grau de pacients celíacs i es troben al voltant del 60%^(4,117-119). Els pacients amb MC tenen també una major prevalença de MAS en comparació amb la població general^(1,7,9,10,12,120-123), però, en canvi, la informació respecte a la prevalença d'MC en pacients amb MAS és molt escassa, parcial i de poca qualitat⁽¹⁵⁻²¹⁾ (taula 1.7). No se sap, per exemple, si la prevalença és variable en funció de les diferents malalties autoimmunitàries i si l'associació es relaciona o no amb l'exposició al gluten.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Un tema controvertit ha estat el fet de saber si la durada de l'exposició al gluten pot influir o no en els fenòmens d'autoimmunitat i en l'aparició de malalties autoimmunitàries. En aquest sentit, un primer estudi publicat l'any 1999 va suggerir que la durada de l'exposició al gluten, predisposava als pacients amb MC a patir més malalties autoimmunes⁽⁹⁾. La conclusió més important de l'estudi va ser que el diagnòstic precoç i una correcta adhesió a la DSG protegia enfront de l'aparició de malalties autoimmunes. Altres autors, però, no arribaren a les mateixes conclusions^(10,124) i, per tant, durant anys el paper que juga el diagnòstic precoç de l'MC i la DSG en la prevenció de l'autoimmunitat és un tema molt debatut⁽¹²⁵⁾. Actualment es creu que la durada de l'exposició al gluten no té especial rellevància en la patogènesi de les malalties autoimmunes ni sistèmiques, ni organoespecífiques en pacients amb MC^(10,124,126). De tota manera, segueix essent un tema no del tot aclarit⁽¹²⁶⁾. Actualment s'accepta que, les mateixes variants de susceptibilitat predisposen al mateix temps a patir MC i a patir diferents fenòmens d'autoimmunitat. El fet que familiars de primer grau de pacients amb MC tinguin més prevalença de malalties autoimmunes⁽¹¹⁶⁾ reforça la idea que hi ha una predisposició genètica que fa que, en condicions ambientals determinades, es manifesti més d'una malaltia autoimmune, incloent també l'MC⁽¹²⁷⁾.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Taula 1.7: Característiques dels estudis publicats sobre la relació entre malalties autoimmunes sistèmiques i malaltia celíaca:

A. Avaluació de malaltia celíaca en pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques												
Autor/any	Disseny de l'estudi	Patologia de base	n	Inclouen determinació de:						Clínica GI	Histologia	
				AAG	Anti.tTG	EMA	Altres	DQ2	DQ8		preDSG	postDSG
Rensch MJ 2001 ⁽¹⁵⁾	Prospectiu	LES	103	Si	No	Si	No	No	No	no	Si	No
Marai 2004 ⁽¹⁶⁾	Prospectiu cas/control	LES	100	No	Si	Si	No	Si	No	no	Si	No
Mirza 2007 ⁽¹²⁸⁾	Case report i revisió casos	LES	14	Si	No	Si	No	No	No	No	Si	No
Ben Abelhani 2012 ⁽¹²⁹⁾	Prospectiu. Serie de casos	LES	24	Si	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	No
Iltanen 1999 ⁽¹⁸⁾	Prospectiu cas-control	SS	34	Si	No	Si	No	Si	No	No	Si	Si
Luft 2003 ⁽¹⁹⁾	Tall transversal Grups control	SS LES AR ES	50 50 50 30	No	Si	Si	No	No	No	No	Si	No
Szodoray 2004 ⁽¹³⁰⁾	Prospectiu	SS	111	Si	Si	Si	No	No	No	No	Si	NO
Liden 2007 ⁽¹³¹⁾	Prospectiu casos i controls	SS	20	Si	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	No
Gómez-Puerta 2004 ⁽¹³²⁾	Case report; revisió literatura	ES	1 5	Si	Si	Si	No	No	No	Si	si	no
Rosato 2009 ⁽²¹⁾	Prospectiu	ES	50	No	Si	Si	No	No	NO	No	Si	No
Nisihara 2011 ⁽¹³³⁾	Prospectiu casos/controls	ES	105	No	No	Si	No	No	No	No	No	-
Forbess 2013 ⁽¹³⁴⁾	Transversal registre hospitalari	ES	72	No	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	No
Shamir 2003 ⁽¹⁷⁾	Prospectiu Casos-controls	SAF	57	No	No	Si	No	No	No	No	No	No

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

Ben Ami Shor 2012 ⁽¹³⁵⁾	Transversal casos controls	SAF/LES/PAN/S S/crío/Weg/C- S/ACG/PAM/ES Altres	923	Si	Si	No	No	No	No	No	No	No
Selva O'Callaghan 2007 ⁽²⁰⁾	Prospectu	MI	51	Si	Si	Si	No	Si	Si	No	Si	Si
Orbach 2009 ⁽¹³⁶⁾	Tall transversal Casos i controls	MI	99	Si	Si	No	No	No	No	No	No	No
Triolo 1995 ⁽¹³⁷⁾	Sèrie de casos	Behçet	11	Si	No	Si	No	No	No	No	Si	No
Aldersley 1997 ⁽¹³⁸⁾	Sèrie de casos	Behçet	52	Si	No	Si	Si	No	No	No	No	No
Zamani 2009 ⁽¹³⁹⁾	Estudi prospectiu	Behçet	288	No	Si	Si	No	No	No	Si	Si	Si
McCormick 1988 ⁽¹⁴⁰⁾	Casos i controls	Sarcoidosi	99	Si	No	No	No	Si	No	No	Si	Si
Papadopoulos 1999 ⁽¹⁴¹⁾	Casos i controls	Sarcoidosi; An Perniciosa	89	Si	No	Si	No	No	No	No	Si	
Rutherford 2004 ⁽¹⁴²⁾	Prospectiu casos i controls	Sarco	102	Si	No	SI	No	Si	Si	No	Si	Si
Stagi 2006 ⁽¹⁴³⁾	Casos en nens	Kawasaki	90	Si	Si	Si	no	No	No	No	Si	No
B. Avaluació de MAS en pacients amb MC												
Autor/any	Tipo d'estudi	Patologia	n	Malaltia a estudi	Mètode diagnòstic							
Freeman 2008 ⁽¹⁴⁴⁾	Retrospectiu	MC	246	LES	ACR criteris; diagnòstic expert. Revisió historial. Resposta a DSG.							
Ludvigson 2012 ⁽¹⁴⁵⁾	Retrospectiu cas-control	MC	29.000	LES	Codificació Internacional de Malalties i registre ambulatori de tractaments							
Karoui 2007 ⁽¹⁴⁶⁾	Prospectiu casos-controls	MC	50-	SAF	Anamnesi dirigida.							
Ludvigsson 2007 ⁽¹⁴⁷⁾	Transversal; registre nacional. Casos i controls	MC	14349	Sarcoidosi								
Hwang 2008 ⁽¹⁴⁸⁾	Transversal; registre nacional	MC	866	Sarcoidosi	Registre diagnòstic							

*AAG: anticossos antigliadina; tTG: anticossos antitransglutaminassa tissular; EMA: anticossos antiendomisi; GI: gastrointestinal; DSG: dieta sense gluten; LES: lupus eritematós sistèmic; SS: síndrome de Sjögren; ES: esclerosi sistèmica; AR: artritis reumatoide; SAF: síndrome antifosfolipídica; PAN: panarteritis nodosa; Weg: síndrome de Wegener; C-S: síndrome de Churg-Strauss; ACG: arteritis de cel.lules gegants; PAM: poliangiitis microscòpica; MI: miopaties inflamatòries; MC: malaltia celíaca.

INTRODUCCIÓ I ANTECEDENTS DEL TEMA

2. HIPÒTESI I JUSTIFICACIÓ

HIPÒTESI I JUSTIFICACIÓ

HIPÒTESI I JUSTIFICACIÓ

Tant els pacients amb MC com els seus familiars de primer grau tenen una prevalença incrementada de malalties autoimmunes. La hipòtesis de l'estudi és que la situació inversa també es produeix, és a dir, que els pacients amb MAS tenen una major freqüència d'MC. Constitueixen, per tant, un grup de risc d'MC sobre els que s'han d'aplicar sistemes de detecció i recerca activa de casos.

L'estudi es justifica pel fet que algunes malalties autoimmunes són complicacions importants de l'MC. Actualment es considera que aquesta relació és el resultat de compartir variants genètiques de susceptibilitat comunes a ambdues condicions. Per aquest motiu, s'ha suggerit que les MAS són grups de risc d'MC, el que implicaria la necessitat d'aplicar programes de cribratge diagnòstic pels afectats d'aquestes malalties. No obstant, tal com s'ha detallat a l'apartat de la introducció, la informació relativa a la prevalença d'MC a cadascuna de les MAS és inexistente o molt limitada, i aplicant criteris variables de diagnòstic d'MC. És necessari, per tant, conèixer la freqüència real d'MC a cadascuna de les MAS i determinar quin és el mètode de diagnòstic més adequat.

Només l'avaluació sistemàtica d'una cohort consecutiva de pacients amb MAS aplicant sistemes validats de diagnòstic d'MC permetria saber si efectivament constitueixen o no grups de risc d'MC. A més, s'ha suggerit també que els pacients amb MAS poden tenir una enteropatia no relacionada amb l'MC, de la qual se'n desconeix la freqüència i el significat clínic.

HIPÒTESI I JUSTIFICACIÓ

OBJECTIUS

3. OBJECTIUS

OBJECTIUS

OBJECTIUS

- Determinar si els individus amb MAS representen un grup de risc per desenvolupar MC, utilitzant una estratègia de cribatge que combina la serologia i el genotipat per a detectar un major nombre de pacients dins de l'espectre de l'ESG.
- Avaluar l'etiologia i l'impacte clínic de l'enteropatia celíaca o no celíaca associada a MAS i la seva relació amb els diferents factors associats a les malalties o al seu tractament.

OBJECTIUS

4. PACIENTS I MÈTODES

PACIENTS I MÈTODES

PACIENTS I MÈTODES

Es van incloure consecutivament els pacients amb el diagnòstic de MAS que van acudir a la consulta externa monogràfica de Medicina Interna de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa (àrea d'influència: 250.000 habitants), entre l'abril del 2006 i el desembre del 2008.

Entre els pacients inclosos, hi havia una gran diversitat de malalties autoinflamàtores i autoimmunes, totes elles però, amb afectació multisistèmica. Per facilitar la interpretació dels resultats s'han categoritzat en quatre grups, tenint en compte la fisiopatologia que s'ha explicat prèviament a la introducció. Així, en un grup hem considerat les malalties autoinflamàtores i les restants, autoimmunes, les hem classificat en tres grups d'acord amb els criteris classificatoris vigents:

- Malalties autoinflamàtores: (sarcoïdosi i Behçet), caracteritzades per la disfunció del sistema immune innat i l'absència d'autoanticossos específics.
- Vasculitis sistèmiques: malalties autoimmunes sistèmiques amb afectació vascular de petit, mitjà o gran vas i en alguns casos presència d'autoanticossos^(149,150). En el nostre cas, s'inclouen: vasculitis associades a ANCA, arteritis de cèl·lules gegants i crioglobulinèmia.
- Malalties autoimmunes sistèmiques del teixit connectiu: es caracteritzen per la potencial afectació inflamatòria de diferents òrgans i sistemes i per la presència d'autoanticossos. Hi ha uns criteris establerts per cadascuna d'elles; en aquest estudi trobem pacients amb LES⁽¹⁵¹⁾, SAF⁽¹⁵²⁾, síndrome de Sjögren (SS)⁽¹⁵³⁾, esclerosi sistèmica (ES)⁽¹⁵⁴⁾, dermatomiositis⁽¹⁵⁵⁾ i malaltia mixta del teixit connectiu (MMTC)⁽¹⁵⁶⁾.
- Malalties indiferenciades del teixit connectiu (MITC): aquells pacients amb presència d'autoanticossos i clínica suggestiva de patologia del teixit connectiu que obliga a un seguiment i/o tractament específic, però que no compleix tots els criteris establerts per una malaltia concreta.

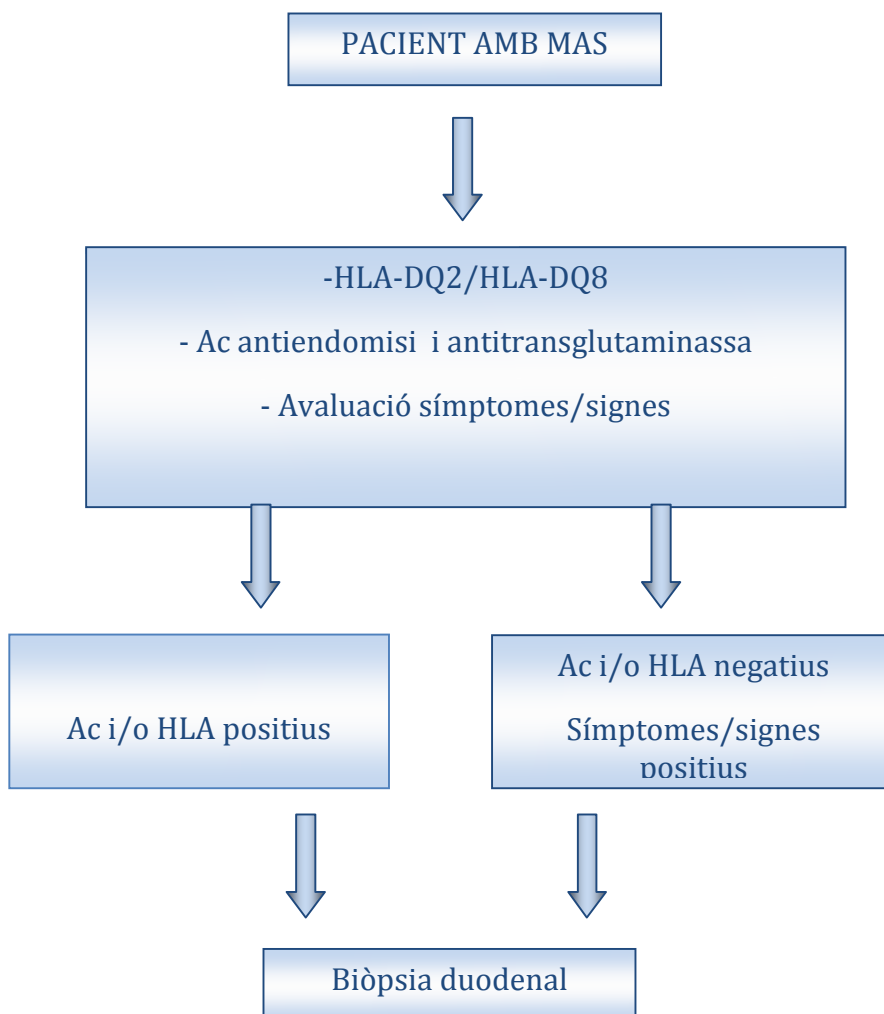
4.1 Estratègia diagnòstica i disseny de l'estudi

A tots els participants es va oferir l'estudi d'MC o d'enteropatia relacionada amb la MAS. Es van extreure 20 mL de sang total per a la determinació serològica d'EMA i anti-tTG i del genotipat d'HLA DQ2/DQ8. A la mateixa mostra sanguínia es van avaluar paràmetres bioquímics i hematològics per tal de determinar la repercussió biològica d'una possible enteropatia. Es van analitzar també els paràmetres immunològics relacionats amb la malaltia autoimmune de base. Es va guardar una mostra de reserva per determinar els anticossos antienteròcit en aquells casos d'enteropatia d'etiologia no aclarida. El percentatge d'acceptació de la determinació analítica va ser del 100%. També, es va avaluar la presència i gravetat de simptomatologia digestiva (dolor abdominal, distensió abdominal, flatulència, alteració del ritme deposicional i astènia) mitjançant un qüestionari de símptomes prèviament validat, utilitzant una Escala Analògica Visual(EAV) amb valors que van de 0 a 100 (annex 9.1)^(4,86,157). Es va considerar que un pacient estava simptomàtic quan la puntuació de l'EAV era superior a 20 i que tenia símptomes greus quan la puntuació era superior a 50. Per tal d'avaluar la repercussió d'una possible malabsorció de calç i vitamina D sobre la DMO, al subgrup de pacients amb lesió duodenal microscòpica se'ls hi va realitzar una densitometria òssia.

La realització de biòpsia duodenal es va oferir en les següents situacions (figura 4.1):

- 1) A tots els individus amb o sense símptomes o signes suggestius d' MC subjacent en els quals es va detectar la presència de marcadors serològics i/o genètics positius.
- 2) A aquells pacients amb símptomes digestius o dades analítiques suggestives de possible enteropatia (veure més avall) però amb serologia i genètica de malaltia celíaca negatives.

Figura 4.1: Estratègia diagnòstica:



*MAS: *malaltia autoimmune sistèmica*; Ac: *anticòs*.

4.2 Avaluació clínica de la *malaltia autoimmune sistèmica*

En el moment de la inclusió es recolliren les següents dades demogràfiques i característiques clíniques relacionades amb la MAS: edat, sexe, índex de massa corporal (IMC), temps d'evolució de la malaltia (mesos), tractament amb immunosupressors (dosi i el temps de tractament) i el fàrmac utilitzat. Es va considerar que un pacient rebia tractament amb corticoides a dosis altes si prenia una dosi mitja superior a 10mg/Kg/dia durant més de tres mesos. L'activitat de la malaltia es va valorar de la següent manera: 1) Inactiva si el pacient no precisava tractament 2) Estable si la malaltia es mantenia inactiva amb tractament de

manteniment sense canvis en els darrers 3 mesos i 3) Activa si el pacient presentava brot agut en el moment de l'avaluació.

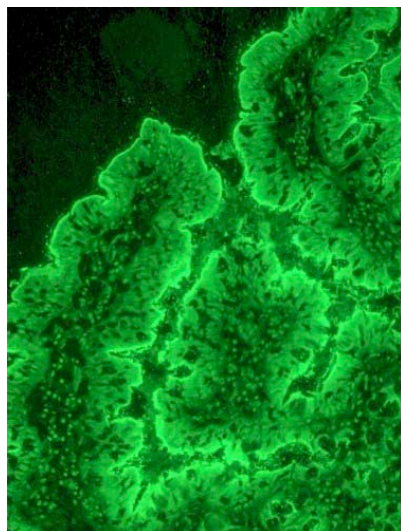
Es van registrar també altres malalties autoimmunes organoespecífiques concomitants amb una reconeguda relació amb l'MC, com la tiroïditis autoimmuna, la DM-1 i antecedents familiars d'MC o de neoplàsia digestiva.

4.3 Detecció d'anticossos

La determinació d'IgA-EMA es va realitzar mitjançant IFI en mostres de sèrum a dilució 1:5, utilitzant una metodologia ben establerta i prèviament descrita⁽⁷⁰⁾. Com a substrat per a la IFI es varen utilitzar seccions d'esòfag distal de primat comercialitzades (Biomedical Diagnostics Mame-la-Vallée, France). La determinació d'IgA-tTG es va realitzar mitjançant un mètode ELISA quantitatiu i automatitzat amb un "kit" comercialitzat disponible (Celikey, Sweden Diagnostics GmbH, Freiburg, Germany) que utilitza com a antigen antitransglutaminassa tissular recombinant humana. Es consideraren positius valors superiors a 8 UI/mL, tal com s'estableix pel fabricant. En tots els casos es va determinar l'IgA total en sèrum mitjançant nefelometria (BN II, Dade Behring, Frankfurt, Germany). En els casos en què es va detectar dèficit d'IgA, es va determinar l'IgG EMA.

Per tal de descartar l'existència d'una enteropatia autoimmuna, els anticossos antienteròcit es varen determinar mitjançant immunoflorescència indirecta sobre teixit intestinal de primat disponible en un "kit" comercial (EUROIMMUN). Les seccions s'incuben amb mostres de sèrum del pacient en una dilució 1:10 amb PBS-Tween. S'utilitza un conjugat d'IgA antihumana marcada amb fluoresceïna.

Imatge 4.1 Anticossos antienteròcit visualitzats per la tècnica d'immunoflorescència indirecta:



4.4 Marcadors genètics

Es varen utilitzar tècniques estàndard d'extracció d'ADN mitjançant l'amplificació per reacció en cadena de la polimerassa (PCR) i detecció del producte. Per a purificar l'ADN genòmic del total de la sang, es va utilitzar un "kit" comercial, Generation Capture Column "kit" (Gentra Systems, Minneapolis, Minesota, USA). El genotipat de l'HLA-DQ2 (al·lels DQA1*0501 i DQB1*0201) i HLA-DQ8 (DQA1*0301 i DQB1*0302), es va fer mitjançant amplificació PCR utilitzant una seqüència de primers específics en un GeneAmp PCR 2400 System (Pekin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA). Els productes d'amplificació de la PCR es varen detectar mitjançant electroforesi en un gel d'agarosa 2%, visualitzant-se mitjançant llum ultraviolada. Es va considerar que l'HLA-DQ2 era positiu si es detectava la presència dels dos al·lels; només es va fer el genotipat d'HLA-DQ8 en aquells casos amb HLA-DQ2 negatiu.

4.5 Biòpsia duodenal i estudis histològics

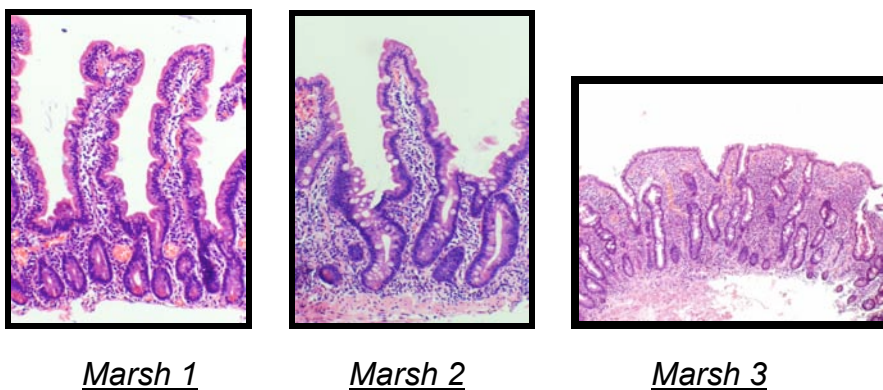
Seguint les recomanacions actuals, es varen prendre quatre biòpsies endoscòpiques de la segona i tercera porció del duodé, que es van processar

PACIENTS I MÈTODES

utilitzant tinció d'hematoxilina/eosina i immunofenotipat de CD3; les mostres van ser avaluades per un patòleg expert en patologia gastrointestinal (imatge 4.2).

Les troballes histològiques es van classificar seguint els criteris de Marsh-Oberhuber⁽¹⁰¹⁾, comentats prèviament a la taula 1.5.

Imatge 4.2: Histopatologia de la malaltia celíaca:



4.6 Paràmetres bioquímics, hematològics i immunològics

Entre els paràmetres bioquímics i immunològics es va determinar el metabolisme del ferro (siderèmia, transferrina, saturació de la transferrina i ferritina), les transaminasses, *reactants de fase aguda*, proteïna C reactiva, VSG, hormones tiroïdals (TSH, T4L), ANA i fraccions C3 i C4 del complement.

Dins els paràmetres hematològics: hemograma complet, índex eritrocitaris (VCM, RDW) i recompte de reticulòcits.

Per a la definició d'anèmia es van utilitzar els criteris de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) (hemoglobina inferiors a 13g/dl en homes i inferior a 12g/dl en dones). Es va considerar anèmia ferropènica en presència d'anèmia microcítica hipocroma amb recompte de reticulòcits baix, i amb un metabolisme de ferro caracteritzat per siderèmia baixa, saturació de la transferrina baixa i ferritina sèrica inferior a 12ng/ml.

4.7 *Avaluació de la densitat mineral òssia*

Com ja s'ha dit en un apartat precedent, la DMO es va realitzar en aquells amb algun grau de lesió histològica duodenal. Addicionalment es va realitzar en aquells pacients amb criteris de risc per a tenir alterada la DMO (p. ex. tractament perllongat amb corticoides a dosis de >10mg/d), Es va determinar T i Z-score a la regió lumbar i coll femoral esquerre, utilitzant absorptiometria de raigs X d'energia dual (DXA) (Lunar DPX-aph). D'acord amb els criteris de la World Health Organization (WHO), es defineix osteopenia com un valor de DMO entre 1 SD i 2.5 SD per sota del valor estàndard per adults joves (T score -1 a -2.5), i osteoporosi com un valor de DMO superior a 2.5 SD per sota del valor promig en adults joves (T score <-2.5) (WHO 1994).

4.8 *Estudi etiològic de l'enteropatia*

La troballa d'una enteropatia de l'espectre de lesions de l'MC prèviament esmentat, quan la serologia és negativa, obliga a fer un diagnòstic diferencial que estableixi l'etiologia de la lesió i que permeti administrar un tractament específic. Aquest fet és particularment rellevant quan la arquitectura vellositària està preservada i només s'observa un increment dels LIE (EL). Per tal d'avaluar l'etiologia de l'EL, es van descartar altres causes d'aquesta, com ara la presència de paràsits intestinals, la malaltia de Crohn, la infecció per HP o la ingesta d'AINE. La presència *HP* es va investigar mitjançant el test d'ureasa i l'anàlisi histològic amb tinció d'hematoxicilina/eosina de la mucosa gàstrica. Així mateix, es va suspendre el tractament amb AINE un mes abans de la presa de la biòpsia duodenal.

Es va recomanar seguir DSG a tots els pacients que a la biòpsia presentaven atròfia vellositària i serologia positiva així com a tots els pacients simptomàtics amb EL, un cop s'havien descartat altres causes d'aquesta. En els casos en què es va detectar dèficit de ferro es va iniciar tractament amb suplement i, en els individus amb DMO baixa, es va iniciar tractament amb calci i vitamina D. Després d'almenys un any de tractament amb DSG es van repetir els texts clínics,

analítics, serològics i histològics. També es va repetir la densitometria a aquells individus que la tenien patològica inicialment.

4.8.1 Valoració de la resposta a la dieta sense gluten

Els criteris utilitzats per a l'avaluació de la resposta a la DSG foren els següents:

- **Resposta clínica completa:** desaparició de tots els símptomes (EAV<20), i alteracions analítiques i densitomètriques.
- **Resposta clínica parcial:** si la puntuació a l'EAV havia disminuït 30 punts i/o es va detectar una clara milloria analítica o densitomètrica (però no resolució).
- **Resposta histològica completa:** Millora de Marsh III a Marsh I o Marsh 0, o en aquells pacients Marsh I, la normalització de la limfocitosi intraepitelial o un 50% de millora respecte a la biòpsia basal.
- **Resposta histològica parcial:** millora del grau d'atròfia o una reducció del 25%-50% de la limfocitosi intraepitelial en les Marsh I.

El diagnòstic d'ESG s'estableix quan:

- Es constata algun grau de resposta tant clínica com histològica i/o resposta serològica.
- En el cas dels pacients que no varen acceptar la realització d'una biòpsia de control, la negativització de la serologia en cas que fos positiva es va considerar criteri de, com a mínim, resposta parcial.

4.9 Anàlisi estadístic

Les dades es van recollir en una base d'accés i, posteriorment, es van bolcar en una d' *spss* pel seu tractament estadístic. Les variables qualitatives es van recollir mitjançant finestres desplegable amb les categories corresponents sempre que va ser possible i les quantitatives en camps amb condicions limitants, a fi de disminuir el marge d'error. La investigadora principal era l'única persona que introduïa dades.

Les variables qualitatives s'expressen com a percentatges de cada categoria i les quantitatives com a mitges o desviacions típiques (DT) quan es pot assumir una distribució normal, o com a medianes i extrems en cas contrari. La normalitat es determinava mitjançant el test de Kolmogorov Smirnov. Les relacions bivariades qualitatives es van avaluar mitjançant Chi-quadrat o test de Fisher quan els efectius esperats són <5% en més del 25% dels encreuaments de les variables comparades. Els resultats es van considerar estadísticament significatius amb $p < 0,05$ (risc $\alpha = 5\%$).

Tots els anàlisis es van fer utilitzant SPSS v15 per a Windows (SPSS Inc, Chicago, Ill, USA).

4.10 Aspectes ètics

L'estudi va ser acceptat pel Comitè d'Ètica d'Investigació Clínica de l'Hospital Universitar Mútua de Terrassa en data 28 d'octubre de 2009 (annex 9.2). Es va obtenir el consentiment informat (annex 9.3) per escrit de tots els pacients per a realitzar l'estudi diagnòstic de malaltia celíaca, incloent-hi l'estudi genètic i un consentiment específic per a la realització de l'endoscòpia i la biòpsia duodenal quan aquesta va ser necessària.

PACIENTS I MÈTODES

RESULTATS

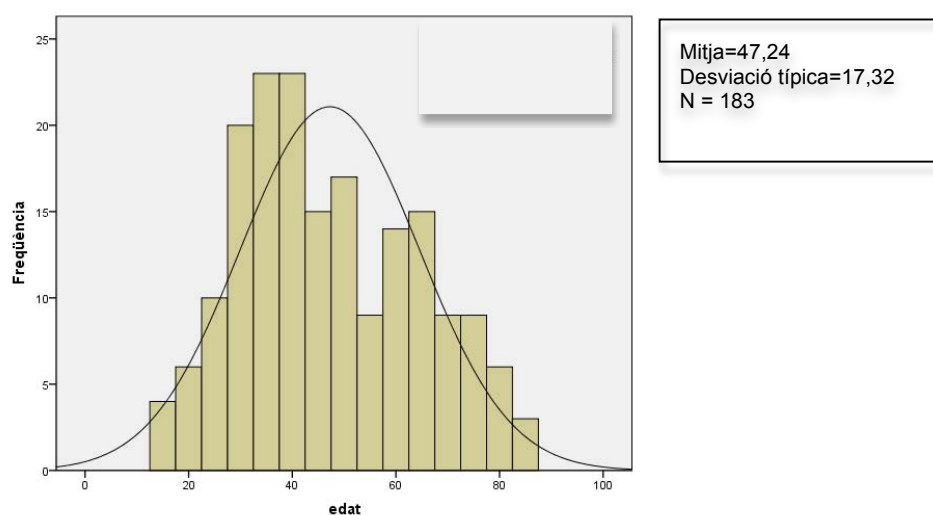
RESULTATS

5.1 Descripció de la mostra

5.1.1 Característiques demogràfiques

En el present estudi es van incloure 183 pacients amb MAS. D'aquests, 34 pacients eren homes (18,6%) i 149 dones (81,4%), essent la mitja d'edat de la mostra de 47,24 anys (DT 17,3). A la figura 5.1 es mostra la distribució de la població per edat.

Figura 5.1: Distribució de la mostra per edat:



5.1.2 Característiques clíniques

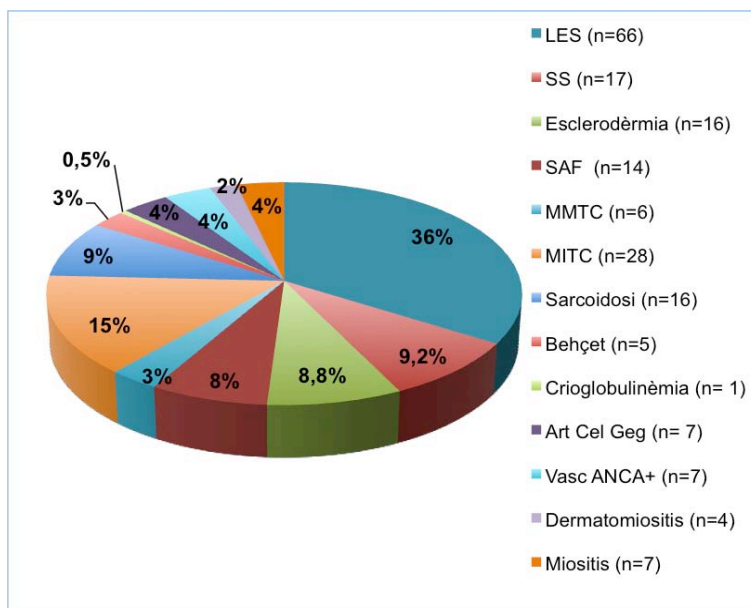
5.1.2.1 Característiques de les malalties autoimmunes sistèmiques

La mediana del temps d'evolució de les MAS des del moment del diagnòstic va ésser de 36 mesos (rang:0-360).

A la figura 5.2 es representa la freqüència de diagnòstic de cadascuna de les MAS dels pacients inclosos a l'estudi en el moment de la inclusió.

RESULTATS

Figura 5.2: Distribució de les malalties autoimmunes sistèmiques a la mostra estudiada:



LES: lupus eritematós sistèmic; SS: síndrome de Sjögren; SAF: síndrome antifosfolipídica; MMTC: malaltia mixta del teixit connectiu; MITC: malaltia indeterminada del teixit connectiu; Art Cel Geg: arteritis de cèl·lules gegants; Vasc ANCA+: vasculitis associada a ANCA.

D'acord amb els criteris d'agrupació definits a l'apartat de 'Metodologia', basats en les característiques fisiopatològiques de cada malaltia, els pacients van quedar distribuïts de la següent manera:

- **Connectivopatia:** 119 pacients (65%). 55 LES, 17 síndrome de Sjögren, 16 esclerodèrmia, 14 SAF primari, 6 MMTC, 7 miositis, 4 dermatomiositis. Val la pena insistir en el fet que aquest era el diagnòstic en el moment de la inclusió, ja que en el cas dels pacients amb miositis, cinc d'ells van acabar complint criteris de LES. Tot i produir-se una reclassificació del diagnòstic, aquests cinc pacients es van mantenir dins del mateix grup de les connectivopaties.
- **MITC:** 28 pacients (15,3%).
- **Malalties autoinflamatores:** 21 pacients (11,5%). 16 sarcoïdosi i 5 malaltia de Behçet.

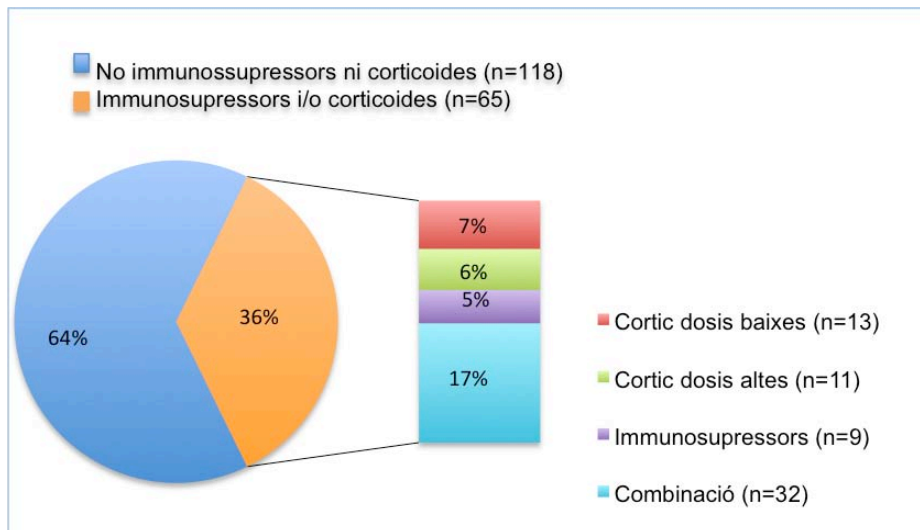
RESULTATS

- **Vasculitis:** 15 pacients (8,2%). Una crioglobulinèmia, 7 arteritis de cèl·lules gegants i 7 vasculitis associades a ANCA.

Pel que fa a l'activitat inflamatòria de la malaltia en el moment de la inclusió, d'acord amb els criteris definits a l'apartat 4.2, 92 pacients es trobaven en fase estable, 33 en brot i, en 58 pacients, la malaltia estava inactiva.

Per al control de l'activitat inflamatòria de la MAS, un 36% de pacients rebien un o més tractaments immunosupressors. Un 2,2% i un 15,8% rebien tractament amb AINE i antimalàrics respectivament. Dels 65 pacients que prenen tractament amb immunosupressors i/o corticoides (figura 5.3), 13 prenen corticoides a dosis baixes, 11 corticoides a dosis altes en monoteràpia, 9 prenen altres immunosupressors en monoteràpia i 32 pacients segueixen teràpia immunosupressora combinada. Els immunosupressors emprats són azatioprina, micofenolat, ciclofosfamida, metotrexat i ciclosporina

Figura 5.3: Tractament amb immunosupressors i/o corticoides:



RESULTATS

5.1.2.2 Característiques clíniques relacionades amb la presència d'enteropatia

Tal com s'especifica a l'apartat de metodologia, per tal de valorar la repercussió clínica d'una eventual enteropatia associada, es van avaluar dades clíniques i analítiques com ara l'IMC o la presència d'anèmia, amb els resultats següents:

Índex de massa corporal: La mitja de l'IMC de la població inclosa va ser de 25,5 (extrems 17-52). Només 2 pacients presentaven criteris de magror i la majoria tenien un índex de massa corporal normal i no presentaven signes de desnutrició, mentre que un 41% de pacients presentaven criteris de sobrepès o obesitat.

Respecte de les dades analítiques avaluades, a la taula 5.1 s'exposen els valors mitjos i DT de les més rellevants. Vint-i-nou dels 136 (21,3%) tenien ferropènia, 16 dels 115 (13,9%) dèficit d'àcid fòlic, 44 de 183 hipertransaminèmia i 13 de 166 (7,8%) alteració de la funció tiroïdal.

A la taula 5.2 es proporcionen el nombre i el percentatge de pacients amb símptomes i signes que poden relacionar-se amb la presència d'enteropatia.

Així mateix, en aquesta sèrie de pacients amb MAS es va detectar que alguns d'ells tenien, a més, altres malalties autoimmunes organoespecífiques clarament associades a l'MC, com són la DM-1 i la tiroïditis autoimmune i d'altres no relacionades com la colitis ulcerosa. Així mateix, 6 pacients d'aquesta sèrie tenien familiars de primer grau amb MC, el que els conferia un risc particularment elevat de patir MC. Cap dels pacients diagnosticats d'ESG tenien malalties autoimmunes organoespecífiques associades o antecedents familiars d'MC. A la taula 5.3 es detallen el nombre de pacients que tenien altres malalties autoimmunes organoespecífiques associades.

RESULTATS

Taula 5.1 : Dades analítiques de la mostra estudiada:

Variable	Mitja	Desviació típica
Hb (g/dl)	12,52	1,53
Hto (%)	38,2	5,5
VCM (fL)	87,4	7
Ferro (µg/dL)	91,82	31
Ferritina (ng/mL)	85	136,9
Fòlic (µg/dL)	10	12,9
GOT (U/L)	24,27	21,4
GPT (U/L)	21,3	19,7
GGT (U/L)	46,45	85,7
FA (U/L)	153,2	990,1
T4 (µg/dL)	2,4	9,9
TSH (µUI/L)	3,65	10,6
VSG (mm/h)	25,4	22,3
PCR (mg/L)	12,22	37,2

RESULTATS

Taula 5.2: Dades clíniques relacionables amb la presència d'enteropatia:

Síntoma o signe	Freqüència	Percentatge
Anèmia	49/183	26,8%
Osteopènia	27/82	32,9%
Osteoporosi	10/82	8,2%
Dolor abdominal (EAV≥20)	75/183	41%
Dolor abdominal greu (EAV≥50)	45/183	24,6%
Distensió abdominal (EAV≥20)	91/183	49,7%
Distensió abdominal greu (EAV≥50)	52/183	28,4%
Alteració del ritme deposicional (EAV≥20)	82/183	44,8%
Alteració greu del ritme deposicional (EAV≥50)	41/183	22,4%
Flatulència (EAV≥20)	130/183	71%
Flatulència greu (EAV≥50)	58/183	31,7%
Astènia (EAV≥20)	142/183	77,6%
Astènia greu (EAV≥50)	98/183	53,6%

EAV: escala analògica visual

Taula 5.3: Malalties autoimmunes organoespecífiques entre la població a estudi:

Malaltia organoespecífica autoimmune	Freqüència de casos
Diabetis mellitus 1	3
Tiroïditis autoimmune	13
Psoriasis	2
Cirrosi biliar primària	2
Miastènia gravis	1
Colitis ulcerosa	1
Antecedents familiars cèliaquia	6

5.2 Diagnòstic de malaltia celíaca

5.2.1 Marcadors serològics i de predisposició genètica de la malaltia celíaca

Els marcadors serològics d'MC (EMA i anti-tTG), van resultar positius en una única pacient amb MITC i portadora també del gen HLA-DQ2.

Respecte de la predisposició genètica a patir MC, dels 183 pacients inclosos, 93 (50,8%) van presentar positivitat pels haplotips HLA-DQ2 o HLA-DQ8. En 68 casos (37,2%), la predisposició va venir determinada per la positivitat de l'haplotip HLA-DQ2 (al·lels DQA1*0501 i DQB1*0201 positius) i en 25 dels 115 pacients restants (13,7% del total) la predisposició va venir marcada per la positivitat de l'haplotip HLA-DQ-8 (al·lels DQA1*0301 i DQB1*0302 positius).

D'entre els 90 pacients que tenien un estudi genètic d'MC negatiu, n'hi havia 51 (27,8% del total de 183 pacients) que presentaven algun al·lel de l'haplotip HLA-DQ2. La distribució dels al·lels del DQ2 en les diferents malalties es detalla a la taula 5.4. Malgrat que tenir un sol al·lel del DQ2 confereix un cert risc de patir MC, aquest risc és molt baix i per tant, la biòpsia duodenal es va proposar només als pacients que tenien els dos al·lels del DQ2 i/o del DQ8 positius.

A la taula 5.4 s'explica la distribució dels haplotips HLA-DQ2 i HLA-DQ8 en funció del grup de MAS de base. El percentatge d'HLA-DQ2 positiu a les connectivopaties i a la MITC es troba al voltant del 40%, el que representa un risc intermedi per a MC. Aquest percentatge és significativament superior ($p=0.02$) al que es troba a les vasculitis i malalties autoinflamatòries (13% i 24% respectivament), que tenen percentatges de susceptibilitat genètica per patir MC, superposables als de la població general.

RESULTATS

Taula 5.4: Freqüència dels haplotips HLA-DQ2 i HLA-DQ8, i dels al·lels DQ-2 en els grups de malaltia autoimmunitària sistèmica establerta:

	Grup A Connectivopaties (n=119)	Grup B MITC (n=28)	Grup C Vasculitis (n=15)	Grup D Malalties Autoinflamàtores (n=21)	P*
HLA-DQ2+	48 (40%)	13 (46%)	2 (13%)	5 (24%)	0,02
DQA1*0501+/DQB1*0201+	LES 27 (40,9%) ES 3 (18,8%) MMTC 4 (66,7%) SAF 4 (28,8%) SS 10 (58,8%)				
DQA1*0501+/DQB1*0201-	19 (16%)	4 (14%)	3 (20%)	2 (10%)	
DQA1*0501-/DQB1*0201+	13 (11%)	4 (14%)	3 (20%)	3 (14%)	
DQA1*0501-/DQB1*0201-	39 (33%)	7 (25%)	7 (47%)	11 (52%)	
HLA-DQ8**	n=71	n=15	n=13	n=16	0,9
DQA1*0301+/DQB1*0302+	16/71 (22%)	3/15 (20%)	3/13 (23%)	3/16 (19%)	

MITC: malaltia indeterminada del teixit connectiu; LES: lupus Eritematos Sistèmic (n=66); ES: esclerosi sistèmica (n=14); MMTC: malaltia Mixta del teixit connectiu (n=6); SAF: síndrome antifosfolípida (n=14); SS: síndrome d'Sjögren (n=17). *Test de Fisher comparant els Grups A i B vs els Grups C i D. **HLA-DQ8 només es va fer en els 115 pacients que eren HLA-DQ2 negatius.

RESULTATS

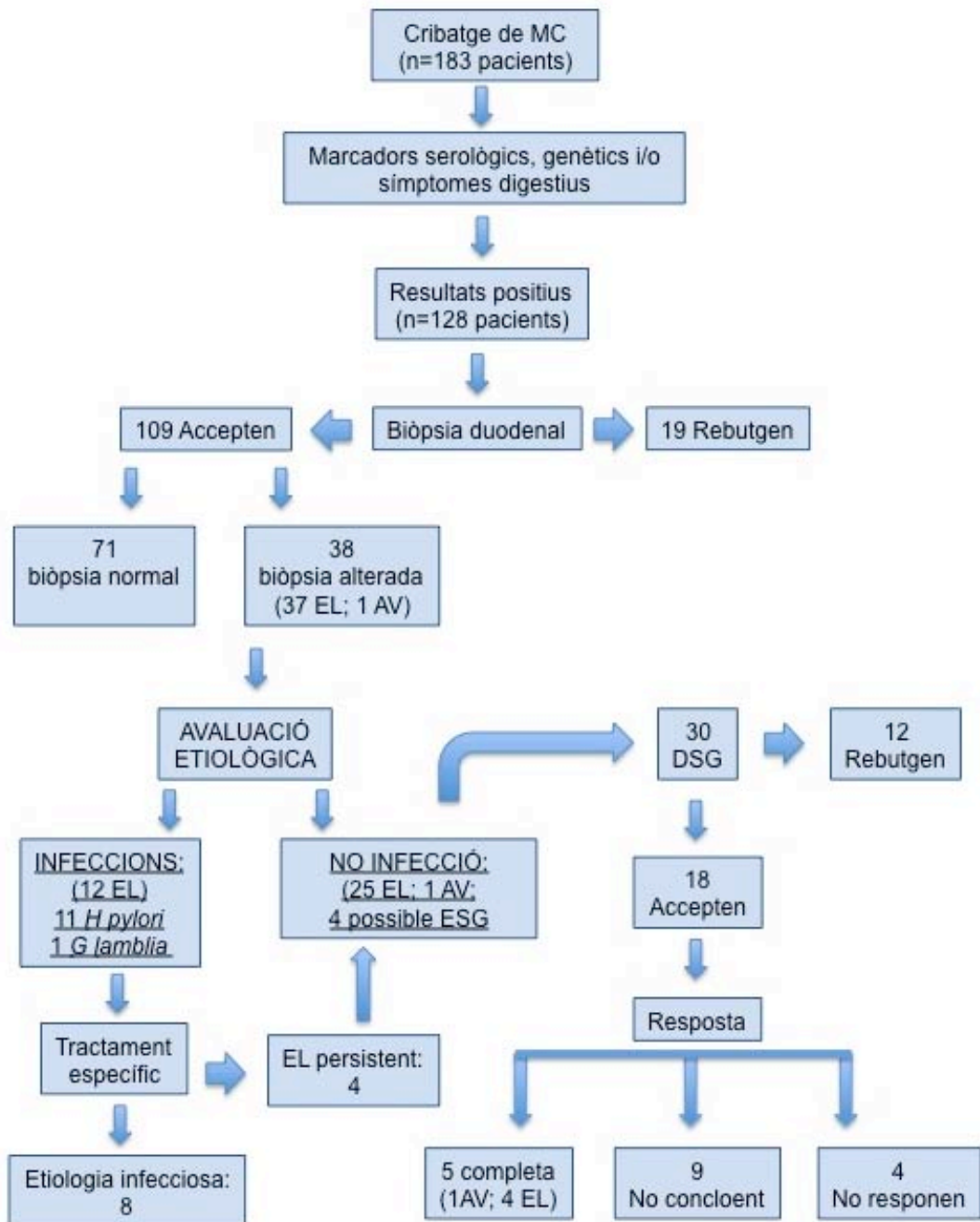
5.2.2 Diagnòstic d'enteropatia

La sospita d'enteropatia es va confirmar amb la realització d'una endoscòpia digestiva alta amb presa de biòpsies de duodè, d'acord amb l'algoritme exposat a l'apartat de metodologia i segons el qual es va sol·licitar biòpsia duodenal als pacients que presentaven serologia i/o estudi genètic d'MC positiu i/o clínica digestiva o extradigestiva suggestiva d'enteropatia.

Els resultats d'aplicar aquesta estratègia diagnòstica i terapèutica estan exposats de forma esquemàtica a la figura 5.4. Del total de 183 pacients estudiats, en 128 casos hi havia sospita de celiaquia, bé per positivitat de marcadors genètics (93 pacients), o bé per presència de símptomes intestinals o extraintestinals (35 pacients). A aquests 128 pacients se'ls va proposar la realització d'una fibrogastrososcòpia amb presa de biòpsies duodenals per tal de confirmar el diagnòstic. Dinou pacients amb marcadors genètics positius, però sense símptomes, varen rebutjar la realització de l'endoscòpia. Un total de 109 pacients van acceptar la realització de la gastroscòpia i la biòpsia duodenal. D'aquests 109 pacients, en 38 es van detectar alteracions histopatològiques a la biòpsia duodenal (34,5%). En 1 cas amb serologia positiva per MC es va detectar atròfia duodenal (classificació de Marsh 3c), mentre que en els altres 37 casos es va detectar una EL (Classificació de Marsh 1). La mitjana de LIE en aquests pacients va ser 35.5 per 100 cèl·lules epitelials (rang 25-100).

RESULTATS

Figura 5.4: Resultats després d'aplicar l'algoritme diagnòstic i terapèutic seguit en el protocol de l'estudi:



*MC: malaltia celíaca; EL: enteritis limfocítica; AV: atròfia vellositària; ESG: enteropatia sensible al gluten; DSG: dieta sense gluten.

RESULTATS

5.2.2.1 Característiques dels pacients amb biòpsia duodenal. Comparació amb els pacients sense biòpsia duodenal

Per tal de valorar la possible existència d'un biaix de selecció respecte del tipus i característiques dels pacients amb MAS que van acceptar la biòpsia, es van analitzar les característiques demogràfiques i clíniques d'aquests pacients. Pel que fa a les característiques demogràfiques (taula 5.5), no hi ha diferències significatives en quan a edat, sexe, ni temps d'evolució de la malaltia.

Taula 5.5: Característiques demogràfiques dels pacients amb i sense biòpsia duodenal:

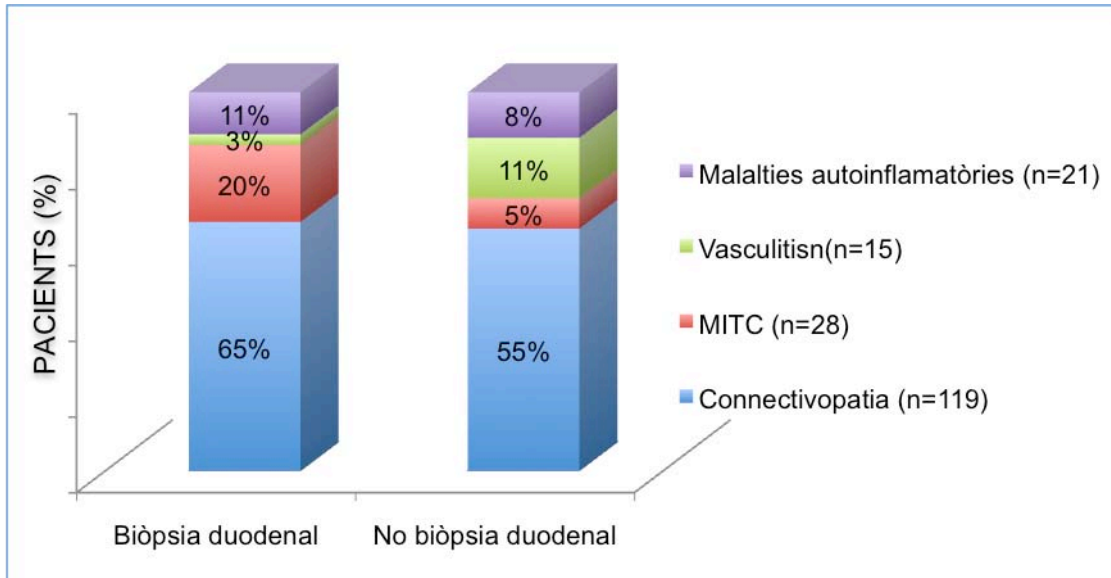
	Pacients amb biòpsia duodenal	Pacients sense biòpsia duodenal	P*
Edat (media(DT))	45,13 (15,8)	50,28 (18,9)	,06
Sexe D/H	93 (86%)/16 (14%)	56 (75%)/19 (25%)	,56
Temps d'evolució de la malaltia (mesos)	86	99	,09

D:dones H:homes. * Edat i sexe: test de Fisher; temps d'evolució de la malaltia: U-Mann- Withney

En quan a la distribució de les MAS agrupades en relació a la realització de la biòpsia duodenal, destaca que es biòpsia a menys número de pacients amb vasculitis, fet que es pot explicar per la menor freqüència de gens positius entre aquests pacients (figura 5.5).

RESULTATS

Figura 5.5: Distribució de les malalties autoimmunes sistèmiques agrupades entre els pacients amb biòpsia duodenal i els que no es van fer biòpsia duodenal:



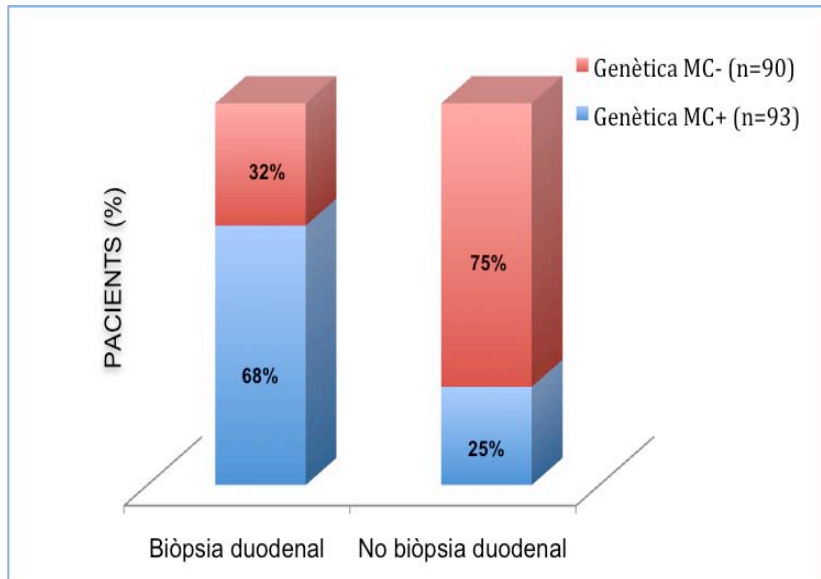
*MITC: malaltia indeterminada del teixit connectiu.

En el mateix sentit, conseqüentment al disseny de l'estudi, hi va haver un percentatge superior de pacients biopsiats entre els que tenien estudi genètic de predisposició a MC positiu (figura 5.6).

Respecte de la predisposició genètica dels pacients sotmesos a biòpsia duodenal, 53 de 109 presentaven HLA-DQ2 positiu i 21 de 56 presentaven HLA-DQ8 positiu, havent-hi 35 pacients negatius per HLA DQ2/DQ8 (Figura 5.7). D'aquests 35 pacients, 19 presentaven algun dels 2 al·lels del DQ2 (DQA1*0501 o DQB1*0201). Cal recordar que en aquest cas el risc de patir MC és baix però no impossible. Els 16 pacients restants no presentaven cap al·lel del DQ2 i eren DQ8 negatiu.

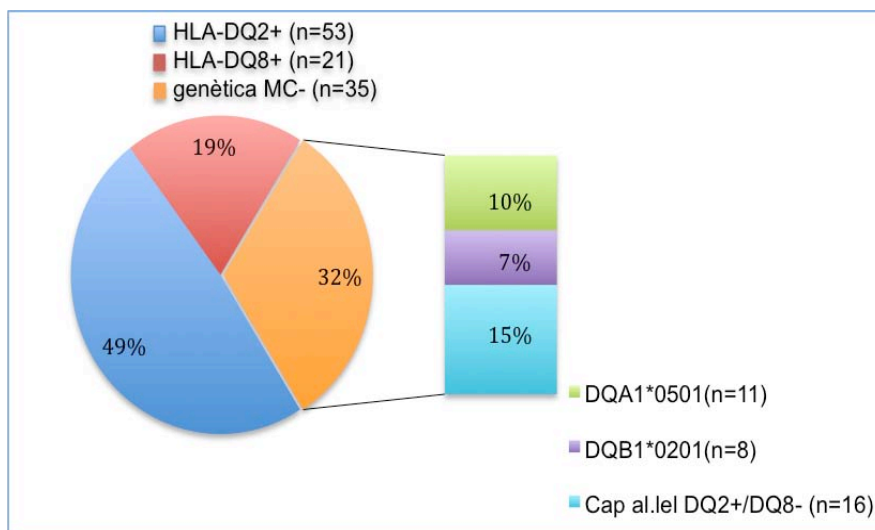
RESULTATS

Figura 5.6: Distribució dels gens que confereixen susceptibilitat per la malaltia celíaca entre els pacients sotmesos i no sotmesos a biòpsia:



*MC: malaltia celíaca. Genètica MC+: HLA-DQ2 o HLA-DQ8 positius

Figura 5.7: Estudi genètic de predisposició a malaltia celíaca entre els pacients amb biòpsia duodenal:



*Genètica MC-: genètica malaltia celíaca negativa

Els pacients biopsiats tenen també més simptomatologia digestiva respecte als no biopsiats, sense assolir significació estadística (taula 5.6). Pel que fa a

RESULTATS

l'anèmia, els pacients biopsiats també tendeixen a tenir-ne amb major freqüència (30,6% front al 21,4% dels pacients sense biòpsia). En relació a l'alteració de la DMO (osteopènia o osteoporosi), la tendència és que sigui més freqüent entre els pacients no biopsiats (41% de biopsiats front al 57% dels que no tenen biòpsia). En cap dels casos hi ha diferències estadísticament significatives.

Taula 5.6: Clínica suggestiva d'enteropatia entre els pacients amb i sense biòpsia duodenal:

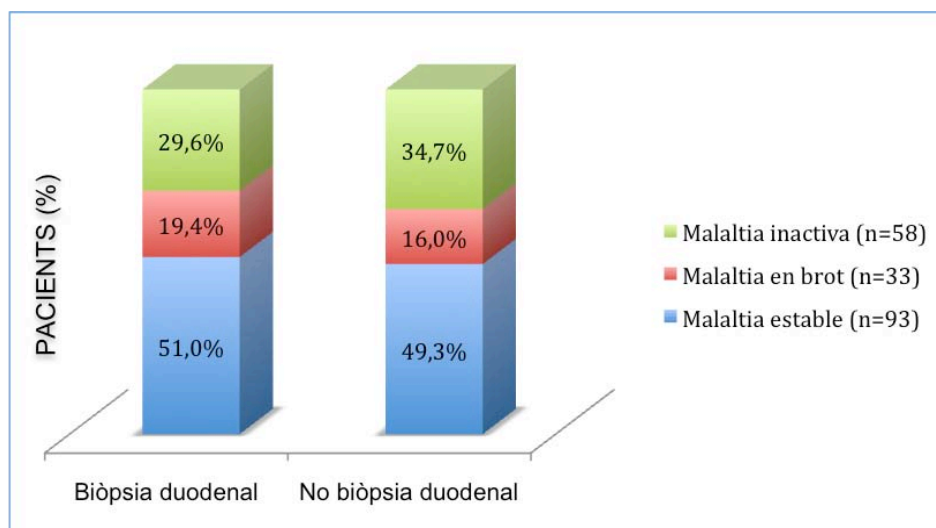
Síntoma o signe (Si/No)	Pacients amb biòpsia duodenal (%) (n=109)	Pacients sense biòpsia duodenal (%) (n=74)	p
Dolor abdominal	59,3	38,7	,01
Distensió abdominal	59,3	45,3	,06
Alteració del ritme deposicional	60,2	44,0	,03
Flatulència	84,3	70,7	,27
Astènia	87,0	77,3	,08

Pel que fa a la situació de la malaltia, que es mostra a la figura 5.8, tampoc hi ha diferències entre el grup de pacients sotmesos a biòpsia i els que no tenen biòpsia (p=0,71).

En relació al tractament de base dels pacients sotmesos a biòpsia duodenal, el 34% (37 dels 109) segueixen tractament amb immunosupressors o corticoides: 7 dels 109 corticoides a dosis baixes; 2 dels 109 corticoides a dosis altes; 5 dels 109 immunosupressors en monoteràpia i 23 de 109 rebien teràpia immunosupressora combinada.

RESULTATS

Figura 5.8: Situació de la malaltia entre els pacients amb i sense biòpsia duodenal:



5.2.3 Avaluació etiològica de l'enteritis limfocítica

L'avaluació etiològica de l'EL es va fer valorant la resposta a tractaments específics administrats pas a pas. D'aquesta manera, i tal com s'especifica a l'apartat de mètodes, es va fer un tractament antibiòtic quan es va identificar una possible etiologia infecciosa. La raó de considerar en primer lloc l'etiologia infecciosa en comptes d'una ESG (en un grup considerat de risc per MC), és la major simplicitat i més curta durada del tractament antibiòtic en comparació amb la dificultat i llarga durada que comporta una intervenció dietètica amb retirada completa del gluten.

Així doncs, dels 109 pacients biopsiats, 38 pacients presentaven augment de LIE, en 11 casos es va detectar la presència d'*HP* a la biòpsia antral i en 1 cas es va detectar la presència de *G. Lamblia* a la biòpsia duodenal; en aquests 12 pacients, amb una possible causa infecciosa de l'EL, es va fer tractament específic de la causa, i, un cop finalitzat el tractament, es va realitzar novament una biòpsia duodenal i antral de control per a confirmar la resolució de la infecció i de l'EL. En 6 d'aquests pacients amb infecció per HP, l'EL es va resoldre amb tractament antibiòtic específic. Les biòpsies antrals van demostrar a més

RESULTATS

l'eradicació d'HP i per tant en aquests 6 casos l'EL es va considerar de causa infecciosa (Veure figura 5.4).

En 4 casos l'EL va persistir malgrat que la biòpsia antral va demostrar que s'havia aconseguit una eradicació eficaç d'HP i, per tant, es va plantejar la possibilitat d'una ESG. A aquests 4 pacients, juntament amb la resta de 25 pacients amb EL sense evidència de causa infecciosa o farmacològica de l'EL, se'ls va oferir una dieta sense gluten per valorar la possibilitat de l'existència d'MC amb arquitectura vellositària preservada. En els 2 pacients restants, un amb infecció per HP i un amb infecció per *G. Lamblia*, van persistir tant l'EL com la infecció, malgrat l'administració de tractaments antibiòtics seqüencials i l'EL es va considerar secundària a infecció no resolta.

Finalment doncs, a 30 pacients amb enteropatia i elevada sospita d'ESG (25 EL sense altra etiologia identificada, 4 EL persistent posteradició d'HP i una atròfia vellositària amb serologia positiva), se'ls va proposar l'inici de DSG.

D'aquests 30 pacients, van acceptar iniciar DSG 18 pacients, 14 dels quals presentaven predisposició genètica a MC determinada per HLA-DQ2 positiu, dos individus eren HLA-DQ8 i, els dos individus restants, no presentaven predisposició genètica, encara que un d'ells presentava un dels al·lels del gen HLA-DQ2 (DQA1*0501). D'aquests 18 pacients, només 5 van presentar una resposta clínica i histològica completa a la DSG, incloent la pacient anteriorment esmentada amb atròfia duodenal i serologia positiva. A les figures 5.9 i 5.10 es pot observar la clara millora tant dels símptomes digestius com del recompte de LIE d'aquells pacients que van presentar una bona resposta a la DSG. Per tant, en aquests pacients es va establir el diagnòstic d'ESG.

Els cinc pacients amb ESG eren HLA-DQ2 positius, cap d'ells patia una malaltia autoimmune organoespecífica. Un dels pacients en què es va establir el diagnòstic d'MC era l'únic cas amb serologia positiva (anti-EMA) i amb atròfia vellositària a la biòpsia duodenal. En 4 dels 5 casos, a part de la millora de la clínica digestiva relacionada amb la desaparició de l'enteropatia, es va objectivar també una clara millora dels símptomes relacionats amb la MAS de base, per efecte de la DSG; l'únic cas que no va registrar millora va ser una pacient afectada d'SS, amb síndrome seca, persistint tant la sequetat oral, com l'ocular.

RESULTATS

En canvi, va ser particularment remarcable l'efecte beneficiós de la DSG en una pacient amb esclerodèrmia (taula 5.6).

La prevalença d'ESG a les MAS, considerant tot l'espectre de gravetat de l'MC, ha estat per tant, del 4,58% (5 de 109 pacients).

Dels 12 pacients que presentaven EL i no van acceptar fer una DSG, 7 tenien un estudi genètic negatiu i, per tant, el diagnòstic d'ESG és altament improbable. Els 5 restants, amb estudi genètic d'MC positiu, estaven totalment asimptomàtics. Quatre dels 12 pacients que no van acceptar fer la DSG sí que van acceptar fer un seguiment histològic. En aquests, la biòpsia duodenal va mostrar la resolució espontània de l'EL en 3, un d'ells amb estudi genètic d'MC positiu.

RESULTATS

Figura 5.9: Evolució dels valors de l'escala analògica visual de símptomes digestius, abans i després de la dieta sense gluten:

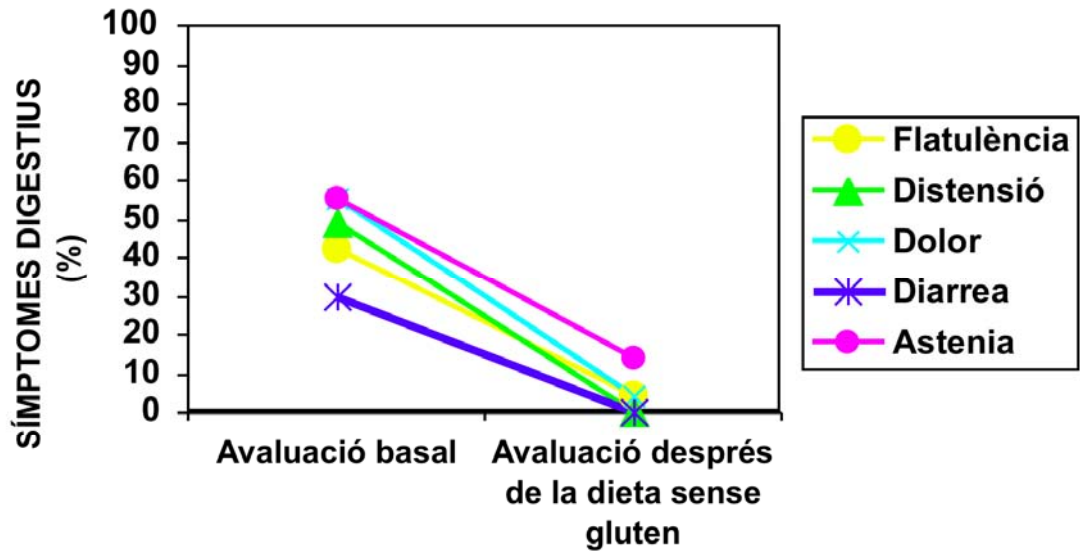
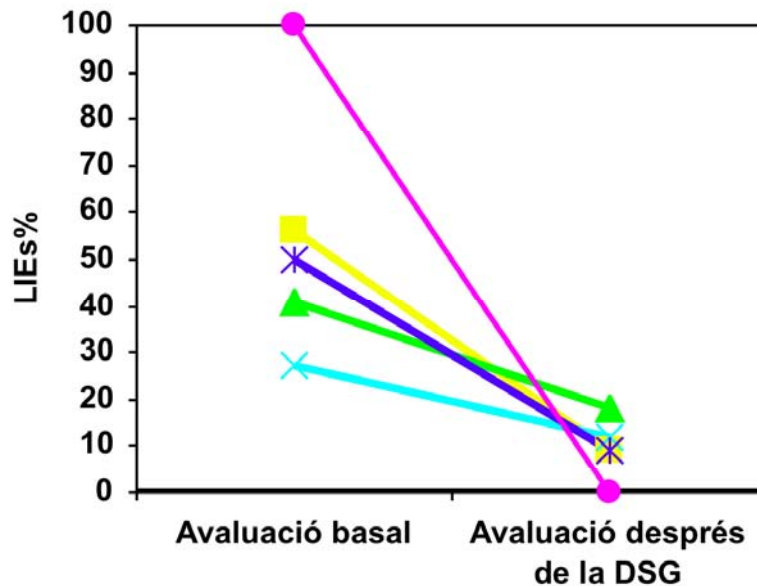


Figura 5.10: Evolució del recompte de limfòcits intraepitelials en els pacients que van respondre a la dieta sense gluten:



*LIE: limfòcits intraepitelials

RESULTATS

Taula 5.6: Característiques histològiques, clíniques i resposta a la dieta sense gluten dels pacients amb enteropatia sensible al gluten:

MAS	Histologia	Síntomes relacionats amb l'ESG	Síntomes relacionats amb la MAS	Resposta dels símptomes relacionats amb la MAS
Síndrome de Sjögren	Enteritis limfocítica	Dolor abdominal	Síndrome seca	No
MITC	Enteritis limfocítica	Distensió abdominal	Serositis i artromiàlgies	Millora artromiàlgies
Malaltia de Behçet	Enteritis limfocítica	Anèmia i dolor abdominal	Aftes orals i genital / uveïtis posterior	Resolució de les aftes
Esclerosi sistèmica	Enteritis limfocítica	Dolor abdominal	Raynaud, esclerodactília, artràlgies	Millora de les artràlgies i Raynaud
MITC	Atròfia vellositària	Anèmia i símptomes digestius greus	Raynaud, artritis i astènia	Millora d'astènia i Raynaud

*MAS: malaltia autoimmune sistèmica; ESG: enteropatia sensible al gluten; DSG: dieta sense gluten; MITC malaltia indeterminada del teixit connectiu

5.3 Anàlisi de l'enteritis limfocítica idiopàtica en pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques

L'estratègia diagnòstica prèviament esmentada, aplicada als 38 casos d'EL, va permetre, per tant, establir que en 8 casos era d'etiologia infecciosa, majoritàriament per HP, i en 5 casos secundària a ESG, mentre que en 5 casos més amb estudi genètic d'MC positiu i que no van acceptar fer DSG perquè estaven asimptomàtics, no es va poder establir un diagnòstic de certesa d'MC.

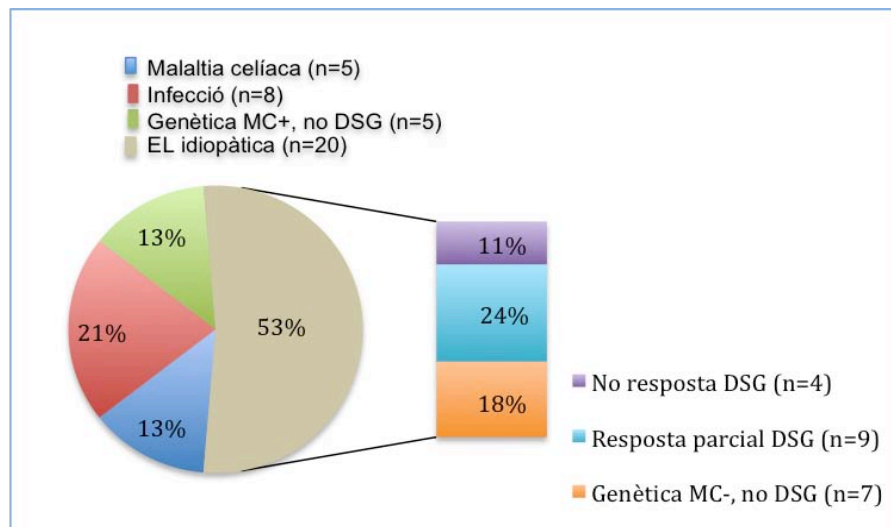
En els 20 casos restants amb EL es va plantejar la possibilitat que la lesió histològica de la mucosa duodenal pogués ser secundària a la pròpia MAS de base. Aquests 20 casos representaven el 18,3% dels pacients amb MAS que van acceptar la biòpsia duodenal (n=109) i tots ells havien presentat una mala

RESULTATS

resposta o resposta incompleta a la DSG (13 casos) o tenien un estudi genètic per HLA-DQ2 i HLA-DQ8 negatius (n=7). A la figura 5.11 es detallen gràficament totes aquestes categories. Per les seves característiques demogràfiques, aquests 20 pacients tenien una edat mitja de 43,35 anys (DE 14,3) i majoritàriament eren dones (18 de 20). El temps d'evolució de la MAS va ser de 37,9 mesos. No es va trobar relació entre el temps d'evolució de la malaltia i la presència o no d'EL ($p=0,13$).

Pel que fa a l'activitat de la MAS i la presència o no d'EL idiopàtica, tampoc es va observar una relació significativa. A la figura 5.12 es detallen els percentatges de pacients en les diferents situacions clíniques en relació amb l'activitat de la MAS i la presència o no d'EL ($p=0,76$).

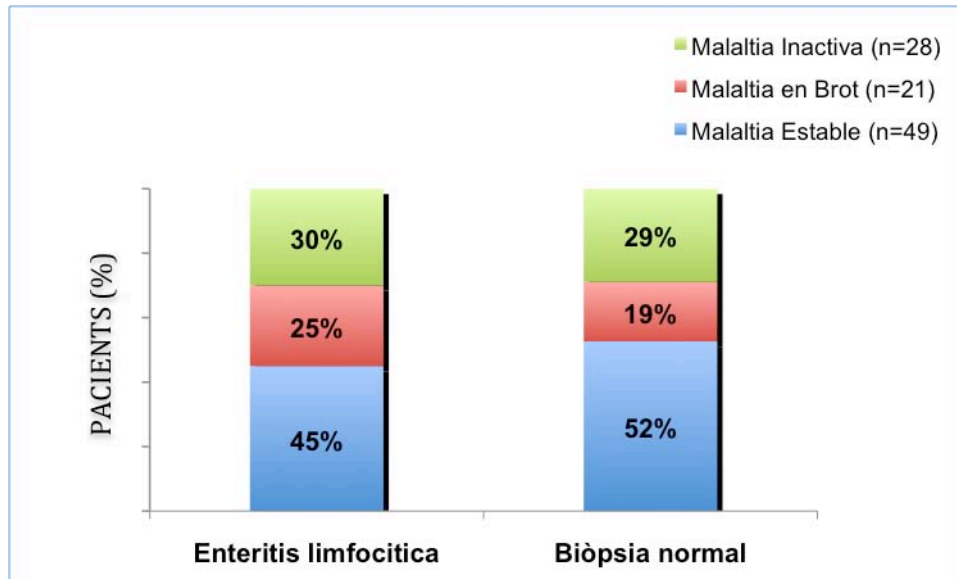
Figura 5.11: Etiologia de l'enteritis limfocítica i característiques dels pacients amb enteritis limfocítica de causa indeterminada:



MC: malaltia celíaca; DSG: dieta sense gluten

RESULTATS

Figura 5.12: Relació entre la situació de la malaltia autoimmunitària sistèmica i la presència o no d'enteritis limfocítica:



Respecte de la relació entre l'administració de tractament immunosupressor i l'existència o no d'enteropatia, tampoc s'observen diferències significatives. És important destacar que el tractament immunosupressor amb metotrexat i azatioprina es distribueix igual entre els dos grups de pacients; només tres pacients amb EL rebien tractament immunosupressor (dos amb metotrexat i un amb azatioprina). A la Taula 5.7 es detalla la distribució de pacients segons si tenien o no EL i el tipus de tractament administrat.

Taula 5.7: Tractament amb immunosupressió i/o corticoides entre els pacients amb o sense enteritis limfocítica:

	Enteritis limfocítica	No enteritis limfocítica
Corticoides a dosis baixes	3 (15%)	2 (2,6%)
Corticoides a dosis altes	0	3 (3,9%)
Immunosupressors en monoteràpia	0	3 (3,9%)
Immunosupressor en teràpia combinada	3 (15%)	16 (21%)
Sense tractament	14 (70%)	52 (68%)

RESULTATS

Es va valorar també si el tipus de MAS podia tenir relació amb la presència o no d'EL (figura 5.13). En aquest sentit, els pacients amb vasculitis i malalties autoinflamàtores (grups C i D) van mostrar una tendència cap a un major percentatge de pacients amb EL en comparació amb els pacients amb malalties autoimmunes del teixit connectiu (grups A i B). Aquesta diferència no va arribar a assolir significació estadística probablement per l'escàs nombre de pacients, particularment al grup de malalties autoinflamàtores i vasculitis (41,6% vs 20,2%, $p = 0,12$; OR: 3.2, IC 95%: 0,7-13,8). Crida l'atenció que aquests pacients dels grups C i D amb un major percentatge d'EL són els que tenen un percentatge més baix de marcadors genètics d'MC positius (veure Taula 5.4). Aquest resultat podria indicar que, en aquests tipus de MAS, l'EL no és deguda, en general, a una reacció immunològica enfront del gluten.

El tipus de disseny de l'estudi va determinar, per definició, l'existència d'un biaix a favor de recomanar biòpsia a aquells pacients amb marcadors genètics d'MC positius i, per tant, hauria estat previsible trobar un major percentatge de pacients amb EL en aquest grup de pacients. Malgrat això, no es va detectar un major percentatge de pacients amb HLA-DQ2/DQ8 positiu entre els que tenien EL idiopàtica (55%) en comparació amb els que tenien biòpsia normal (66% HLA-DQ2/DQ8 positiu) ($p=0,43$, IC 95%: 0,5-4,2). Addicionalment, 9 dels 35 pacients amb HLA-DQ2/DQ8 negatiu (25,7%) tenien una EL de causa desconeguda.

Per acabar de caracteritzar l'enteropatia en els casos d'EL d'etiologia desconeguda, es van determinar els anticossos antienteròcit; aquests van ser negatius en tots els casos. Només en un pacient sense clínica digestiva i amb biòpsia duodenal normal i que tenia una síndrome antifosfolipídica primària es van detectar anticossos anticèl·lules caliciformes positius. Per tant, en cap cas l'EL podia ésser considerada una forma lleu d'una enteropatia autoimmune.

RESULTATS

Imatge 5.1: Anticossos anticèl·lules caliciformes visualitzats per la tècnica d'immunoflorescència indirecta:

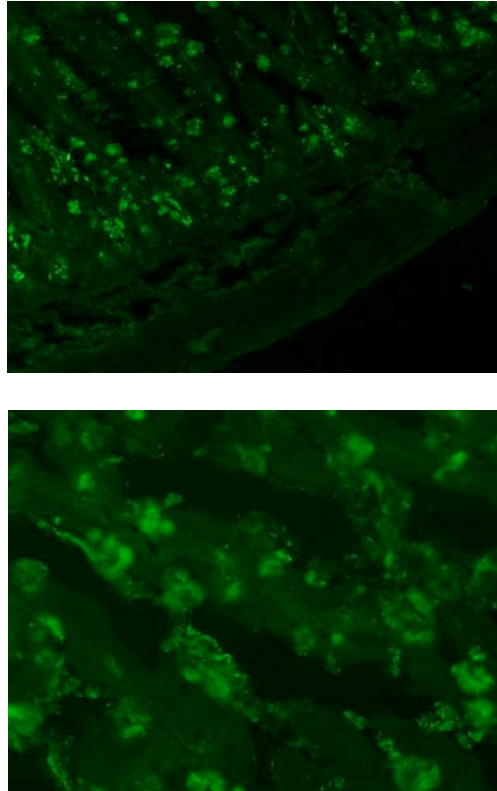
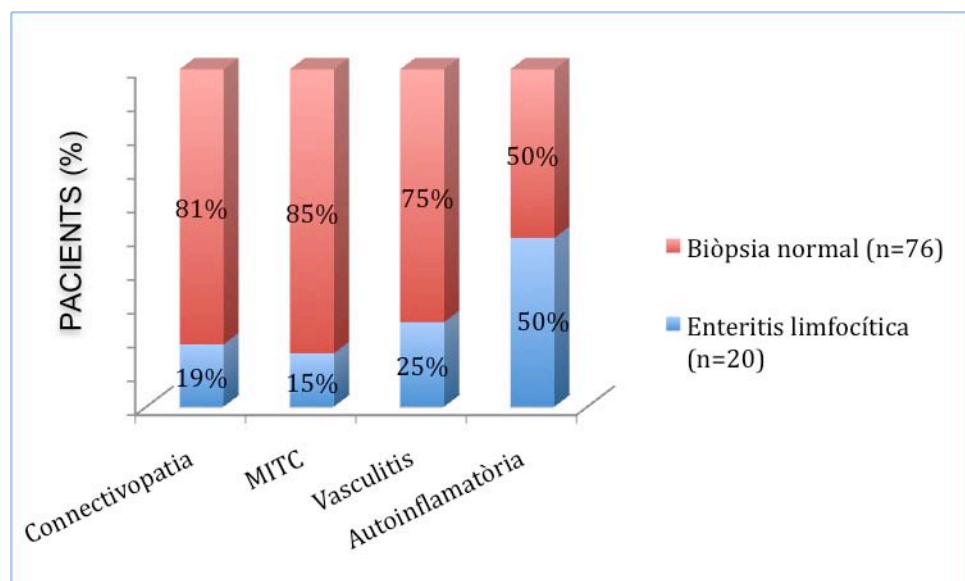


Figura 5.13: Distribució dels pacients amb o sense enteritis limfocítica segons la malaltia autoimmuna sistèmica de base:



EL: enteritis limfocítica; MITC: malaltia indeterminada del teixit connectiu.

RESULTATS

5.3.1 Repercussió clínica de l'enteropatia limfocítica associada a les malalties autoimmunes sistèmiques

Per tal de valorar si l'EL associada a les MAS tenia una rellevància clínica es va avaluar tant la simptomatologia digestiva com les alteracions analítiques relacionades dels pacients amb EL en comparació amb els símptomes dels pacients amb biòpsia duodenal normal. Pel que fa als símptomes digestius, es va observar que 19 (95%) dels 20 pacients amb EL d'etiologia no aclarida tenien algun símptoma gastrointestinal: 11 dolor abdominal, 11 distensió abdominal, 11 flatulència i 10 alteració del ritme deposicional; a més, 15 pacients tenien astènia. En la majoria de casos, la intensitat d'aquests símptomes va ser moderada (VAS entre 20-50), i un 80% dels casos (16 pacients) van tenir almenys un símptoma digestiu d'intensitat greu (EAV>50). De fet, els pacients amb EL idiopàtica tenien tendència a tenir un major percentatge de símptomes d'intensitat greu (EAV >50) en comparació amb els que no tenien EL (80% vs 58% p=0,077). No obstant això, cap de les característiques clíniques considerades aïlladament (dolor abdominal, distensió, flatulència, astènia, diarrea, proves de funció hepàtica i anèmia) van mostrar cap relació amb la presència d'EL. Tampoc es van detectar diferències en l'estat de DMO, ni en l'anèmia entre els pacients amb i sense EL. De la mateixa manera, no es van observar diferències en els paràmetres sanguinis restants entre els dos grups. Aquestes dades clíniques i analítiques es mostren de forma detallada a les taules 5.8 i 5.9 .

RESULTATS

Taula 5.8: Freqüència de símptomes gastrointestinals greus (VAS >50) i manifestacions extraintestinals en pacients amb malaltia autoimmunitària sistèmica amb o sense enteritis limfocítica:

Síntoma o signe	EL (n=20)	No EL (n=76)	P
Flatulència	6(30%)	26(34%)	0,8
Dolor abdominal	6(30%)	22(29%)	1
Diarrea	6(30%)	17(22%)	0,56
Astènia	12(60%)	43(56%)	1
Distensió abdominal	8(40%)	25(33%)	0,6
Anèmia	7(35%)	24(31%)	0,8
Osteoporosi o osteopènia	4/20(20%)	20/72(28%)	0,6

Resultats expressats com a número (percentatge), La comparació estadística es va fer amb el test de Fisher. EL: enteritis limfocítica.

Taula 5.8: Dades analítiques més rellevants en pacients amb malaltia autoimmunitària sistèmica amb o sense enteritis limfocítica:

Variable	Enteritis limfocítica (n=20)		No enteritis limfocítica (n=76)		p
	Mitja	Desviació típica	Mitja	Desviació típica	
Hb (mg/dL)	12,20	1,24	12,41	1,471	,564
VCM (fL)	85,85	6,12	88,41	6,53	,118
Ferro (µg/dL)	92,93	31,43	94,22	31,24	,9
GOT (U/L)	23,90	15,49	25,86	27,28	,76
GPT (U/L)	23,85	20,66	22,88	19,81	,84
GGT (U/L)	29,65	31,18	51,97	98,44	,32
VSG (mm/h)	24,44	23,40	25,37	22,20	,87
PCR (mg/L)	7,00	7,87	8,77	21,94	,73

La comparació estadística es va fer amb el test de Fisher.

RESULTATS

6. DISCUSSIÓ

DISCUSSIÓ

6.1 Consideracions metodològiques

El present estudi, a diferència de la majoria d'estudis que avaluen la prevalença d'MC en pacients amb MAS, utilitzant només la serologia com a mètode de cribratge, ha aplicat un disseny prospectiu inèdit que ha permès identificar tot l'espectre de gravetat de l'enteropatia. Proporciona, per tant, dades molt rellevants de prevalença d'MC a les MAS. Aquest protocol ha consistit en l'ús de serologia i l'estudi genètic d'MC (HLA-DQ2 i -DQ8), així com de símptomes i signes suggestius d'enteropatia com a mètodes de selecció per a la realització d'una biòpsia duodenal. A més, per al diagnòstic d'MC s'han utilitzat criteris ben establerts de diagnòstic. A part del fet de conèixer en profunditat la prevalença de l'MC a les MAS, la detecció de tot l'espectre de gravetat histològica és important perquè se sap que les formes d'enteropatia lleu també poden produir símptomes intestinals i extraintestinals idèntics als de l'MC amb atròfia^(4,158,159). Per tant, els pacients que tenen aquestes formes lleus d'MC amb arquitectura vellositària conservada es poden beneficiar d'una DSG. Aquesta estratègia, ja ha estat prèviament validada per a la detecció d'MC en altres poblacions de risc (familiars de primer grau)⁽⁴⁾ i ha demostrat la seva utilitat, diagnosticant tres vegades més casos en comparació amb la realització de biòpsia duodenal basada en la positivitat de la serologia.

Aquesta estratègia diagnòstica permet conèixer, per primera vegada, la freqüència, les característiques histològiques i la rellevància clínica de l'enteropatia detectada en pacients amb MAS, ja sigui en relació al gluten o produïda per altres causes.

Per tal de valorar el que aporta el present estudi a les dades prèviament publicades a la literatura, a la taula 1.7 s'expliquen les característiques metodològiques dels treballs més rellevants, exceptuant els reports de casos aïllats, assenyalant el disseny de l'estudi, el número de pacients, si es fa determinació d'anticossos i/o biòpsia duodenal i si contempla la presència de simptomatologia intestinal. Cal precisar que cap dels estudis que fan referència a aquests símptomes expliquen que s'utilitzi cap sistema de categorització de la intensitat d'aquests. Simplement es recullen com una variable qualitativa, indicant la seva presència o no. En el present estudi s'han objectivat les manifestacions

DISCUSSIÓ

clínicas mitjançant l'ús d'escala analògiques que faciliten la comparació intrapacient abans i després de l'administració de la DSG, per tal de valorar la resposta.

6.2 Prevalença de malaltia celíaca entre els pacients amb malalties autoimmunes sistèmiques

La prevalença d'MC amb atròfia vellositària en la població de 183 pacients amb MAS ha estat del 0,57% i, si considerem tot l'espectre de gravetat histològica, des d'EL fins a atròfia vellositària en aquells pacients que per protocol van acceptar ser sotmesos a biòpsia duodenal (5 de 109 pacients), la prevalença ha estat del 4,58%. La prevalença d'MC amb atròfia és similar a la reportada a la població general de referència⁽¹⁰⁵⁾ i no dona suport a la hipòtesi que les MAS siguin malalties de risc per a patir MC. No sembla tampoc que un percentatge del 4,58% sigui un percentatge elevat d'ESG a les MAS sinó més aviat al contrari. De fet, si comparem la prevalença d'ESG trobada als pacients amb MAS (4,58%) amb la detectada als familiars de primer grau de pacients amb MC, tot utilitzant la mateixa estratègia diagnòstica (21%)⁽⁴⁾, està clar que en el primer cas és clarament inferior. Pel que fa a l'EL, un estudi poblacional realitzat a Suècia va establir, per primera vegada, la seva prevalença a la població general i va demostrar que aquesta entitat histopatològica (independentment de l'etiologia) era present a un 5,4% de les biòpsies endoscòpiques⁽¹¹¹⁾. Per tant la prevalença de EL a les MAS és superposable a la de la població general.

Més enllà d'això no podem establir més comparacions perquè aquesta estratègia diagnòstica aplicada al present estudi no s'havia utilitzat mai per avaluar la prevalença d'MC a les MAS i s'ha de tenir en compte que amb la seva utilització hem estat capaços d'identificar la màxima enteropatia possible.

Les dades prèviament publicades que tracten de l'associació d'MC amb diferents tipus de MAS són controvertides (taula 6.1). Les raons de les discrepàncies s'han explicat a l'apartat precedent de la discussió i inclouen la manca d'estandardització de les tècniques de cribratge (generalment mètodes serològics), les diferències en els criteris diagnòstics d'MC i la petita grandària de

DISCUSSIÓ

la mostra dels pacients avaluats.

Els estudis de prevalença en pacients amb LES mitjançant serologia com a mètode de cribratge van trobar un 1% de positivitat de la serologia, el que no indica una forta relació en comparació amb la de la població de referència⁽¹⁶⁾. Aquests resultats concorden amb els del present estudi, ja que l'únic cas d'MC amb atròfia va ser el d'una pacients amb una MITC. Un altre estudi remarcable pel nombre de pacients inclosos és l'estudi de Ben Ami Shor et al., que es va publicar coincidint amb la finalització de la present tesi doctoral. En aquest estudi es van analitzar les mostres de 923 pacients amb 18 tipus de malalties autoimmunes incloent SAF, AR, LES, SS i diferents tipus de vasculitis, entre d'altres. No van trobar cap pacient amb anti-tTG positiva de tipus IgA, el que suggereix que cap d'aquests pacients tenia MC amb atròfia vellositària. En canvi sí que van trobar percentatges de positivitat del 6,1%, l'11,5% i l'11,1% d'anti-tTG de tipus IgG al SAF, l'arteritis de cèl·lules gegants i colitis ulcerosa, respectivament. Aquests resultats són sorprenents si tenim en compte que hi ha en general molt bona correlació entre els valors d'anti-tTG de tipus IgG i de tipus IgA i que, en qualsevol cas, són més fiables aquests últims quan no existeix un dèficit d'IgA. Segons especifiquen els propis autors, el mètode serològic emprat està en fase de desenvolupament i no està encara disponible comercialment. En cap cas de positivitat dels anti-tTG de tipus IgG es va fer una biòpsia duodenal confirmatòria i, per tant, és molt possible que es tracti de falsos positius de la tècnica⁽¹³⁵⁾. En aquest estudi i en d'altres (veure taula 1.7) s'utilitzen els AAG com a mètode de cribratge serològic d'MC^(15,16,18), cosa que fa difícil poder comparar els resultats. Aquest mètode serològic es va desestimar per a la present tesi doctoral, ja que com s'ha comentat a la introducció, és un marcador molt inespecífic i actualment no està recomanat per al diagnòstic d'MC⁽⁵⁶⁾. De fet, en alguns d'aquests estudis s'observa com aquest marcador, especialment en pacients amb MAS, té un VPP molt baix, especulant que la seva elevada prevalença podria ser deguda a que aquestes malalties presenten dany tissular intestinal i que aquest fet per si mateix fa incrementar el percentatge d'AAG⁽¹⁸⁾. Aquesta escassa precisió diagnòstica és el motiu pel qual no s'ha utilitzat en el present estudi.

DISCUSSIÓ

Dels 5 casos de MAS que presentaven ESG de la present tesi doctoral, 4 tenien una EL i la MAS de base va ser en un cas SS, una MITC, una malaltia de Behçet i una ES; en cap d'aquests pacients hi havia altres malalties autoimmunes organoespecífiques associades. Els criteris diagnòstics per a establir l'existència d'una ESG van ser molt estrictes, de tal manera que era necessària la demostració d'una bona resposta inequívoca a la DSG. Aquesta pot ser una limitació de l'estudi ja que no sempre és fàcil amb canvis histològics i clínics subtils determinar si s'ha produït o no una bona resposta a la DSG. De fet, en l'estudi que conforma la present tesi doctoral hi va haver 9 casos de pacients amb estudi genètic d'MC positiu en els quals la resposta a la DSG no va ser conclouent⁽¹⁶⁰⁾ (veure Annexe 9.4). Posteriorment a la finalització d'aquesta tesi doctoral, el mateix grup de recerca on s'ha desenvolupat el present estudi va publicar la utilitat per al diagnòstic d'MC de l'avaluació mitjançant citometria de flux de les subpoblacions de limfòcits $\gamma\delta$. L'estudi demostra que un patró citomètric cel·lular (limfòcits $\gamma\delta > 8.5\%$) és altament específic d'MC (sensibilitat 85%, especificitat 100%), més fins i tot que la determinació de dipòsits subepiteliaus de transglutaminassa⁽⁹⁰⁾. Els estudis que es facin en el futur hauran d'incloure marcadors cel·lulars i moleculars d'aquests tipus per tal d'establir el diagnòstic de certesa sense haver d'esperar, per una banda, a valorar la resposta a l'exclusió del gluten de la dieta i, per altra, evitar que un bon nombre de pacients segueixin amb un diagnòstic incert. De fet, estudis recents demostren que, amb els mètodes de diagnòstic que s'han emprat a la present tesi doctoral, fins en un 25% de pacients amb EL no és possible establir un diagnòstic etiològic de certesa^(67,113).

A la literatura mèdica, l'associació més consistent entre MAS i MC s'ha establert amb l'SS^(18,130,161). L'estudi prèviament publicat sobre aquest subgrup de pacients que té una major qualitat i rigor inclou un total de 34 pacients amb SS. A més de determinar l'estudi genètic d'MC (HLA-DQ2 i DQ8) i els EMA, se'ls va proposar a tots fer una biòpsia duodenal. Cinc dels 34 pacients (14,7%) tenien atròfia subtotal a la biòpsia, tots ells tenien positivitat d'HLA-DQ2 i en 3 d'ells els EMA van ser positius. Malgrat que no reporten l'efecte de la DSG, que és un criteri diagnòstic molt important en els pacients amb serologia negativa, sí que troben que tots els pacients amb atròfia tenien un increment de la densitat dels limfòcits jejunals $\gamma\delta$, el

DISCUSSIÓ

que, tal com s'ha comentat anteriorment, dóna un gran valor al diagnòstic.

El present estudi ha inclòs un nombre també reduït de pacients amb SS (17 casos) i malgrat que no es va proposar biòpsia a tots ells, sí que es va proposar a tots els pacients amb estudi genètic positiu d'MC i/o clínica digestiva i, per tant, és molt poc probable que hagi passat per alt algun pacient amb MC sense diagnosticar. En aquest sentit, s'ha trobat un pacient amb una EL (Marsh tipus I) amb una clara resposta a una DSG. D'altra banda, el 58,8% de positivitat de l'haplotip HLA-DQ2 que s'ha trobat al subgrup de pacients amb SS és idèntic al que s'ha descrit a l'estudi prèviament comentat⁽¹⁸⁾ i està al mateix nivell que el que es detecta en grups de risc d'MC ben reconeguts, com són els familiars de primer grau, la DM-1 i la tiroïditis autoimmune. Aquests resultats i els prèviament publicats donen suport al fet que l'SS s'inclouï a la llista de grups de risc de pacients que es beneficien de fer un cribratge poblacional, com s'ha proposat prèviament⁽¹⁶¹⁾.

Respecte a la relació de l'ES amb l'MC^(19,21). Als estudis prèviament publicats a la literatura, el nombre de pacients inclosos també va ser molt limitat^(19,21) i/o el diagnòstic d' MC va ser retrospectiu i, per tant, poc rigorós⁽¹⁹⁾, o bé els casos no es van confirmar histològicament⁽¹⁷⁾. En el nostre estudi, la cohort de pacients amb ES ha estat petita, però el baix percentatge de positivitat d'HLA-DQ2 –DQ8 en aquest subgrup de pacients no suggereix una predisposició a patir MC. No obstant això, una pacient amb ES tenia una EL que va presentar una molt bona resposta clínica i histològica a la DSG i va ser catalogada d'EL secundària a ESG. La resposta clínica a la DSG va ser també espectacular pel que fa a la clínica cutània i, per tant, la resposta clínica de la MAS de base mereix una consideració especial.

Quatre dels 5 pacients amb ESG del present estudi van mostrar una bona resposta dels símptomes de la malaltia autoimmune subjacent per efecte de la DSG. Aquest efecte beneficiós de la DSG que aconsegueix un millor control de la malaltia de base ja s'ha suggerit en altres entitats, com per exemple la DM-1^(119,162), encara que els resultats no són concloents. En canvi, igual com passa al nostre estudi, altres estudis tampoc han trobat que els símptomes de l'SS (sobretot sequedat ocular i oral) es vegin millorats per efecte de la DSG⁽¹⁸⁾.

DISCUSSIÓ

La prevalença d'MC en les diferents MAS ha de ser valorada en major profunditat en sèries més àmplies de pacients, el que obliga a la realització d'estudis multicèntrics a causa de la baixa prevalença d'aquestes malalties. Alguns aspectes, com el fet de si la DSG pot tenir un efecte beneficiós sobre l'evolució de la MAS de base, són prou rellevants com per merèixer una investigació més àmplia.

DISCUSSIÓ

Taula 6.1: Mètode diagnòstic de malaltia celíaca i prevalença de la mateixa en els estudis publicats sobre relació de malalties autoimmunes sistèmiques i malaltia celíaca:

Autor/ any	Malaltia autoimmune sistèmica (n)	Mètode diagnòstic de celiaquia emprat	Prevalença de malaltia celíaca
Rensh MJ /2001 ⁽¹⁵⁾	LES (103)	Serologia / Biòpsia	23,3% / 0%
Marai /2004 ⁽¹⁶⁾	LES (100)	Serologia / biòpsia	1% / 1%
Ben Abdelghani /2012 ⁽¹²⁹⁾	LES (24)	Serologia / biòpsia	8,3% / 4,16%
Iltanen /1999 ⁽¹⁸⁾	SS (34)	Serologia/ tipatge genètic/ biòpsia	14%/56% / 14%
Luft /2003 ⁽¹⁹⁾	SS (50)	Serologia	12%
Szodoray/2004 ⁽¹³⁰⁾	SS (101)	Serologia / biòpsia	5,4% / 4,5%
Liden/2007 ⁽¹³¹⁾	SS (20)	Serologia / tipatge genètic / biòpsia	10% /35% / 5%
Rosato/2009 ⁽²¹⁾	ES (50)	Serologia / biòpsia	10% / 8%
Nisihara/2011 ⁽¹³³⁾	ES (105)	Serologia / biòpsia	0% / 0%
Forbess/2013 ⁽¹³⁴⁾	ES (72)	Serologia / biòpsia	4% / 0%
Shamir/2003 ⁽¹⁷⁾	SAF (57)	Serologia	14%
Ben Ami Shor/ 2012 ⁽¹³⁵⁾	MAS (923)	Serologia	6%
Selva O'Callaghan /2007 ⁽²⁰⁾	MII (51)	Serologia / tipatge genètic / biòpsia	31% / 70%/ 6%
Orbach/2009 ⁽¹³⁶⁾	MII (99)	Serologia	5,9%
Triolo/1995 ⁽¹³⁷⁾	Behçet (11)	Serologia / biòpsia	27% / 9%
Aldersey/1997 ⁽¹³⁸⁾	Behçet (52)	Serologia	7,7%
Zamani/2009 ⁽¹³⁹⁾	Behçet (288)	Serologia / biòpsia	4,8% / 0,3 %
McCormik/1988 ⁽¹⁴⁰⁾	Sarcoïdosi (99)	Serologia / biòpsia	41% / 1%
Papadopoulos/1999 ⁽¹⁴¹⁾	Sarcoïdosi (89)	Serologia / biòpsia	15,4% / 8,1%
Rutherford/2004 ⁽¹⁴²⁾	Sarcoïdosi (102)	Serologia / biòpsia	12% / 1%
Stagi/2006 ⁽¹⁴³⁾	Kawasaki (90)	Serologia / biòpsia	5% / 5%

6.3 Prevalença dels marcadors genètics de malaltia celíaca

L'estudi de la predisposició genètica mitjançant els haplotips HLA-DQ2 i DQ8 permet, no només indicar la realització d'una biòpsia duodenal en els casos positius, sinó també determinar el grau de risc de patir MC en una població determinada. En aquest sentit, a la població de pacients amb MAS s'ha detectat un percentatge de positivitat global del HLA-DQ2 del 37,2% i d'un 13,8% d'HLA-DQ8. Aquests valors, en el seu conjunt, són molt semblants als que ens trobem a la població general de referència⁽⁵⁾. Una visió detallada dels percentatges de positivitat de les diferents MAS permet veure, no obstant, que les diferències en els percentatges de predisposició genètica a patir l'MC són notables. Així, observem que a les malalties del teixit connectiu, principalment representades per pacients amb LES, o els pacients amb MITC, s'ha detectat un percentatge de positivitat que oscil·la entre el 40% i el 50% d'HLA-DQ2. Si es compara amb el de la població general (20%) i el dels grups de risc (60%)⁽⁵⁾, com són els familiars de primer grau o els pacients amb DM-1, representa una predisposició genètica intermèdia. Ja s'ha comentat que a l'SS, un percentatge de positivitat d'HLA-DQ2 del 58% suggereix que es tracta d'un veritable grup de risc, mentre que de les altres malalties del teixit connectiu no es poden extreure conclusions fermes perquè el nombre de pacients inclosos és reduït.

No està clar, de tota manera, que aquest increment lleu en el percentatge d'HLA-DQ2, en comparació al de la població general, representi un increment del risc de patir MC en pacients amb malalties del teixit connectiu. L'existència d'una predisposició genètica per MC intermèdia, s'ha detectat també al nostre medi en pacients amb colitis limfocítica amb percentatges de positivitat d'HLA-DQ2 del 48% i tampoc es va trobar que aquests pacients presentessin una major prevalença d'MC amb atròfia⁽¹⁶³⁾. Per tant, aquest increment de positivitat dels haplotips HLA-DQ2 i DQ8 en aquestes entitats es pot considerar el resultat d'un "background" genètic compartit més que no pas d'una predisposició genètica a patir MC. És coneguda la base genètica comuna compartida entre l'MC i altres malalties autoimmunes. Les primeres evidències sobre aquesta relació es van trobar sobretot en proteïnes codificades pel CMH de classe II (HLA-II)^(16,18,131,164-166), especialment aquelles que codifiquen pels isotips DQ i DR (haplotips DR3-

DISCUSSIÓ

DQ2; DR7-DQ2 i DR4-DQ8), però al llarg dels anys, s'han trobat altres *loci* compartits entre l'MC i altres malalties autoimmunes sense relació amb HLA ⁽¹⁶⁴⁾.

De tota manera, els percentatges de positivitat d'HLA-DQ2 i DQ8 en les diferents MAS són substancialment diferents, el que suggereix que el risc d'MC no és exactament igual a totes elles. De fet, els pacients amb vasculitis o malalties autoinflamàtores amb percentatges detectats d'HLA-DQ2 del 13% i 24% respectivament no semblen constituir grups de risc de patir MC i no estaria justificat en aquests fer cribratge poblacional.

Els estudis futurs s'han de focalitzar a incrementar el nombre de pacients de les diferents malalties del teixit connectiu, deixant de banda les vasculitis i malalties autoinflamàtores, per tal de determinar-ne la predisposició genètica. I caldrà aprofundir en l'estudi d'aquelles malalties en les quals es confirma que tenen una predisposició intermèdia o alta.

6.4 Síntomes i signes de malaltia celíaca

En els estudis de prevalença d'MC amb MAS disponibles actualment són pocs els que avaluen de forma reglada la simptomatologia digestiva suggestiva d'MC, la resposta d'aquests símptomes a la DSG o la resposta de les manifestacions pròpies de la malaltia autoimmuna de base a aquesta dieta. Aquest és un aspecte important, de rigor metodològic, ja que la lesió histopatològica de l'MC no és patognomònica i altres entitats poden produir lesions similars (taula 1.6). Per tant, la resposta clínica i/o serològica a la DSG és un aspecte fonamental per valorar el diagnòstic i molt més tenint en compte que s'ha descrit que la pròpia malaltia autoimmuna o els fàrmacs emprats per tractar-la poden produir lesions duodenals indistingibles a les de l'MC. En l'estudi prèviament esmentat d'Iltanen et al. realitzat en pacients amb SS⁽¹³⁾, sí que es reporta que els pacients diagnosticats d'MC presenten símptomes digestius lleus i que, la DSG, no va tenir cap efecte sobre els símptomes de sequetat. Szodoray, reflexa també en un estudi dut a terme en SS⁽¹³⁰⁾ que els símptomes digestius (especialment discomfort abdominal) estaven igualment presents en els pacients que van ésser diagnosticats d'MC i en els que no, essent habitualment lleus, i atribuïnt-los a

DISCUSSIÓ

afectació digestiva de la pròpia patologia (gastritis atròfica, p.ex.), o per associació amb altres malalties com la colitis microscòpica. En la mateixa línia, Forbess troba que els pacients amb ES que avalua, també presenten simptomatologia digestiva, tant si pateixen MC, com si no⁽¹³⁴⁾. En l'estudi més extens realitzat en pacients amb la malaltia de Behçet (n=288 pacients), Zamani et al.⁽¹³⁹⁾ detecten una prevalença serològica del 4,86%, utilitzant anti-tTG humana i EMA. Cap dels pacients amb serologia positiva presentava clínica digestiva i l'únic pacient amb atròfia tenia una anèmia lleu. Aquests resultats són sorprenents, sobretot tenint en compte que els autors usen un "kit" comercial de detecció que, segons especifiquen a la metodologia, té una sensibilitat i especificitats del 100% i 94% respectivament. De fet només 4 pacients tenien un cert grau de lesió histològica. En canvi, sí que suggereixen un cert efecte beneficiós sobre l'evolució de la malaltia de Behçet per efecte de la DSG. En l'únic cas d'aquesta tesi amb malaltia de Behçet i ESG es va produir una millora, tant de la clínica digestiva, com de la malaltia de base, per efecte de la DSG. De tota manera i tal com s'ha comentat prèviament, el percentatge de positivitat de l'estudi genètic d'MC a les malalties autoinflamatòries no suggereixen que aquestes puguin ser considerades grups de risc i, per tant, la troballa d'un pacients amb malaltia de Behçet i ESG podria ser merament casual.

Un aspecte remarcable respecte a la clínica digestiva i extradigestiva dels pacients amb MAS, és que malgrat ser molt prevalent (80% en els pacients amb EL i 58% en els pacients amb biòpsia normal), no hi va haver diferències entre els pacients amb o sense enteropatia i, per tant, la simptomatologia no és útil per a discriminar entre qui té enteropatia i qui no la té. Aquesta manca de capacitat discriminativa de la simptomatologia digestiva per al diagnòstic d'enteropatia ja ha estat també reportada en altres estudis que valoren la relació entre MC i les MAS^(18,130,134,139). El motiu d'aquesta alta prevalença de clínica digestiva en pacients amb MAS pot ser per diverses raons, entre elles per la pròpia afectació intestinal per la malaltia, sobrecreixement bacterià per trastorns de la motilitat, intestinal, etc. La simptomatologia més freqüent va ser l'astènia, la flatulència i la distensió abdominal. En els cinc pacients diagnosticats d'ESG, estaven presents els mateixos símptomes, però, a diferència de la resta de la població de pacients amb MAS, van presentar una resposta inequívoca a la DSG.

6.5 Enteritis limfocítica idiopàtica

Una avantatja del present estudi en comparació amb altres que avaluen la relació entre MC i MAS és que el tipus de disseny emprat permet establir, per primera vegada, la freqüència de l'enteropatia dels pacients amb MAS, estigui relacionada o no amb la resposta immunològica al gluten, així com les característiques histològiques i la seva rellevància clínica. Molts estudis a la literatura donen per suposat que els pacients amb MAS poden tenir una enteropatia per la pròpia malaltia (tant enteritis limfocítica, com atròfia vellositària) sense que mai s'hagi avaluat la seva freqüència i transcendència clínica d'una manera sistemàtica. L'intent d'aproximació als percentatges més fiables de lesió duodenal rellevant (atròfia) relacionada amb les MAS, és un estudi recent realitzat al Coeliac Center at Beth Israel Deaconess Medical Center (BIDMC), que és un centre de referència per MC amb més de 1.200 pacients registrats. Van detectar que 30 pacients tenien atròfia duodenal no celíaca i després d'un estudi exhaustiu van concloure que en 10 pacients era secundària a la pròpia MAS de base. Per tant, almenys l'atròfia duodenal secundària a MAS sembla ser una entitat molt poc freqüent⁽¹¹⁰⁾. En aquest sentit, la present tesi doctoral demostra que un terç dels pacients amb MAS tenien una enteropatia lleu, majoritàriament consistent en una EL o, dit d'una altra manera, la immensa majoria de pacients amb MAS tenen una mucosa duodenal completament normal i, per tant, l'enteropatia als pacients amb MAS, contràriament al que es suposava, és molt poc prevalent. Respecte de l'etiologia, ja hem vist que la resposta a tractaments seqüencials específics va permetre establir una etiologia infecciosa en el 21% dels casos, principalment per HP, mentre que l'ESG va ser responsable només d'un 13,1% de les EL, incloent el cas amb atròfia de les vellositats. A la resta de pacients, l'etiologia de l'EL no es va poder establir i, per tant, en 2/3 dels pacients amb EL i MAS, aquesta enteropatia podria estar teòricament relacionada amb la malaltia de base⁽¹¹³⁾. Aquest fet sembla particularment cert pel que fa als pacients amb vasculitis o malalties autoinflamatòries, ja que en aquests pacients, malgrat tenir un percentatge d'EL superior al dels pacients amb malalties del teixit connectiu (41,6% d'EL vs. 20,2% d'EL), tenien un percentatge significativament inferior de marcadors genètics per MC. Per tant, això suggereix que aquesta lesió duodenal, sobretot als pacients amb vasculitis o malalties autoinflamatòries, pot estar relacionada amb la pròpia

DISCUSSIÓ

malaltia autoimmune.

De tota manera, és remarcable que l'EL no es va relacionar ni amb l'activitat de la malaltia, ni amb el tractament immunosupressor i, a més, en alguns casos en els que es va realitzar un seguiment endoscòpic, es va demostrar que la lesió va ser autolimitada. Per tant, aquesta EL no sembla que tingui gaire entitat.

El fet de no haver trobat relació entre l'EL i el tractament immunosupressor administrat és molt important perquè també s'ha descrit que fàrmacs com el metotrexat, l'azatioprina o micofenolat de mofetil⁽¹⁶⁷⁻¹⁶⁹⁾ poden produir una enteropatia indistingible de l'MC, de manera similar a com molt recentment s'ha descrit amb l'olmesartan (fàrmac antihipertensiu de la família dels ARA2)^(108,109). La prevalença d'aquesta lesió en pacients tractats amb aquests immunosupressors no es coneix, però en base als resultats trobats en aquests estudi, tampoc sembla que sigui molt prevalent.

Per acabar d'avaluar la possible etiologia de l'EL en els pacients amb MAS es van determinar també els anticossos antienteròcit, per tal de descartar alguna forma d'enteropatia autoimmune, encara que aquesta és una entitat amb quadre clínic molt greu que generalment afecta a pacients en edat pediàtrica⁽¹⁷⁰⁾. En tots els casos van ser negatius i, per tant, l'EL d'aquests pacients tampoc pot ser considerada una forma lleu d'enteropatia autoimmune. Un dels pacients va presentar però positivitat pels anticossos anticèl.lules caliciformes, que també s'han relacionat amb l'enteropatia autoimmune, entre altres entitats com ara MC o malaltia inflamatòria intestinal^(170,171), sense que es pogués relacionar posteriorment amb la presència d'enteropatia de cap tipus. El paper patogènic dels anticossos antienteròcit i els anticossos anticèl.lules caliciformes no està clar, i fins i tot es pensa que pugui tractar-se d'epifenòmens⁽¹⁷²⁾. Per tant, l'EL de causa no aclarida detectada en aquest estudi sembla en general molt poc específica i és, probablement, una entitat irrellevant. Aquest fet contrasta amb el que passa amb l'EL produïda per ESG en la que es troba una relació clara entre la intensitat dels símptomes i la gravetat del dany intestinal (de Marsh I a Marsh III) i que s'ha constatat tant en l'EL detectada en grups de risc per MC⁽⁴⁾, com en els estudis on es detecta MC per cribratge poblacional⁽¹⁰⁵⁾.

En conclusió, la major part de pacients amb MAS tenen una mucosa duodenal

DISCUSSIÓ

normal i no sembla que les MAS siguin un grup de risc per MC excepte en el cas de l'SS. Algunes MAS, com les malalties del teixit connectiu, presenten una predisposició genètica a patir MC intermèdia i, per tant, cal aprofundir en l'estudi d'aquest subgrup de MAS. L'EL d'etiologia no aclarida, que presenten menys d'una tercera part dels pacients amb MAS, sobretot les vasculitis i les malalties autoinflamatòries, sembla ser molt inespecífica i clínicament irrellevant.

6.6 Limitacions

L'heterogeneïtat i escassa prevalença de les MAS objectes de l'estudi representa una limitació important a l'hora de dur a terme qualsevol investigació al respecte. L'acord per establir criteris diagnòstics és un intent per classificar-les i dóna'ls-hi més uniformitat. En quan a l'MC, la varietat de criteris diagnòstics emprats a la literatura, ha estat també una limitació important per comparar resultats entre estudis. En aquest treball, s'ha intentat pal·liar aquestes limitacions agrupant els pacients segons similitud de diagnòstics –fets segons criteris internacionals preestablerts- i preestablint una estratègia diagnòstica d'MC uniforme i validada. Malgrat tot, aquestes limitacions, inherents a la patologia estudiada, hi són, pel que els resultats obtinguts han de ser interpretats com a punt de partida per a futurs estudis.

El fet que no tots els pacients tributaris de fer-se endoscòpia acceptessin, també resulta una limitació, encara que els pacients que van rebutjar-la fou perquè es trobaven asimptomàtics i el motiu de la indicació era la predisposició genètica; aquest fet fa pensar que probablement tendrien la mateixa o menys enteropatia que aquells que tenien símptomes.

L'escàs nombre de pacients afectats d'ESG fa difícil poder definir les característiques d'aquesta, en quan a patologia de base i la seva possible relació amb el tractament.

Així mateix, també són pocs els pacients amb EL de causa no filiada, fet que dificulta avaluar les característiques comunes d'aquests pacients en relació a la patologia de base, genètica, tractaments, etc. Ara bé, sí que és clara la tendència

DISCUSSIÓ

a menor prevalença d'HLA-DQ2/DQ8 però amb més tendència a EL, que es detecta entre de pacients amb vasculitis i malalties autoinflamatòries.

CONCLUSIONS

7. CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

En el present estudi no es detecta una major prevalença d'MC en els pacients amb MAS i, per tant, les MAS en general no es poden considerar grup de risc tributari d'estratègies de cribratge sistemàtic d'MC.

La prevalença dels marcadors genètics d'MC és molt semblant a la que trobem a la població general, encara que en el cas de l'HLA-DQ2 és discretament superior.

Es detecten importants diferències en els percentatges de positivitat dels marcadors genètics d'MC a les MAS, el que fa que no es pugui parlar d'una predisposició general augmentada per la MC a les MAS. Concretament, els percentatges de positivitat per a HLA-DQ2 a les connectivopaties i a la SS corresponen a un risc intermedi i alt, respectivament, de patir MC. El cribratge sistemàtic, serològic i genètic d'MC està justificat, per tant, a la SS. En altres connectivopaties estaria justificat només si hi ha clínica suggestiva.

La prevalença serològica de marcadors d'MC i la prevalença d'ESG histològicament confirmada a les MAS no sembla diferir de la que es troba a la població general de referència.

La baixa prevalença d'ESG associada a MAS i la diversitat de patologies involucrades (MITC, SS, ES i malaltia de Behçet) no permet establir l'existència d'associacions clares, podent ésser associacions merament casuals.

Una tercera part dels pacients amb MAS van presentar EL, dels quals se'n va establir el diagnòstic etiològic en un 34% -infecciosa o per ESG-, quedant la resta sense diagnòstic etiològic i podent, per tant, estar relacionada amb la MAS de base.

CONCLUSIONS

L'enteropatia d'etiologia no aclarida present a les MAS no sembla mostrar un important impacte clínic i no té relació amb l'activitat de la MAS, ni amb el seu tractament. La seva prevalença és baixa, afectant a una quarta part dels pacients amb MAS, essent més freqüent als pacients amb malalties autoinflamatòries i vasculitis.

La major prevalença d'enteropatia d'etiologia no aclarida al subgrup de pacients amb malalties autoinflamatòries i vasculitis, que a més presenten un baix percentatge de predisposició genètica a patir MC, suggereix que la lesió intestinal pot estar relacionada amb la malaltia de base en aquests subgrups de MAS.

Els resultats d'aquests estudi obliguen a realitzar estudis multicèntrics que ampliïn el nombre de pacients avaluats amb la mateixa MAS i metodologia a fi de poder confirmar si el risc genètic intermedi d'algunes connectivopaties es tradueix en un risc real de patir MC. D'altra banda, cal confirmar si l'enteropatia no celíaca detectada en pacients amb malalties autoinflamatòries i vasculitis té una veritable rellevància clínica o no.

8. INFERÈNCIES PEL FUTUR

■

INFERÈNCIES PEL FUTUR

INFERÈNCIES PEL FUTUR

Davant dels resultats d'aquest estudi, cal aprofundir en 2 aspectes:

1- Relació entre ESG i determinades MAS que han mostrat predisposició genètica intermedia o alta com són el LES i l'SS.

2- Caracteritzar l'enteropatia no celíaca associada a les malalties autoinflamatòries i vasculitis: confirmar que una proporció considerable d'aquests pacients tenen una enteritis limfocítica idiopàtica, probablement relacionada amb la malaltia de base. Tenint en compte que la lesió que s'observa al duodè distal pot reflectir lesió en trams distal de budell prim, podria ser d'interès determinar marcadors fecals inflamatoris (calprotectina, lactoferrina) i en els casos positius avaluar la totalitat del budell mitjançant mètodes morfològics (càpsula endoscòpica i/o enteroresonància).

Tant en un cas com en l'altra, serà necessari utilitzar mètodes més sofisticats de diagnòstic diferencial de les enteritis limfocítiques com la citometria en biòpsia duodenal en fresc (presència augmentada de limfòcits $\gamma\delta$ en l'ESG), i la presència d'antitransglutaminassa tissular a nivell duodenal, més sensible i específic que la serologia per al diagnòstic d'ESG.

INFERÈNCIES PEL FUTUR

ANNEXES

ANNEXES

Annex 9.1: Escala analògica visual per a l'avaluació de símptomes digestius:

VALORACIÓ GLOBAL DEL PACIENT SOBRE ELS SEUS SIMPTOMES

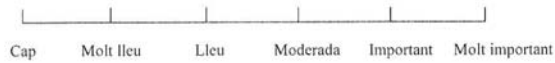
Com completar la escala analògica visual:

- Si us plau, llegiu les preguntes que se li formularan a continuació amb molta atenció.
- A cada una de les escales que es mostren a baix, insereix una sola ratlla vertical que creui l'escala en el punt que reflecteix la situació dels seus símptomes durant la setmana passada.

1.- ¿Com ha estat la flatulència (ventositats) que ha presentat durant la setmana passada?



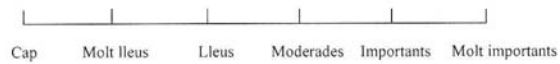
2.- ¿Com ha estat la distensió abdominal que ha presentat durant la setmana passada?



3.- ¿Com ha estat el malestar/dolor abdominal que ha presentat durant la setmana passada?



4.- ¿Com han estat les alteracions presentades en la regularitat del seu hàbit intestinal durant la setmana passada?



5.- En referència al seu estat general, ¿ha presentat cansanci o debilitat fora del normal durant la setmana passada?



ANNEXES

Annex 9.2: Aprovació de l'estudi pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica:



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dr. Ramón Pla Poblador, como Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari Mútua Terrassa

CERTIFICO:

Que ha sido sometido a este Comité en su reunión del día 28 de octubre de 2009 (Acta 10/09) para su aceptación, el Proyecto de investigación titulado "Diagnóstico diferencial de las enteritis linfocíticas: fenotipos inmunológicos en la mucosa intestinal"

Que una vez evaluado dicho estudio, así como la capacidad del equipo investigador y medios disponibles del Centro, este Comité considera adecuado el estudio y su realización por el Dr. Fernando Fernández Bañares.

Terrassa a 28 de Octubre de 2014.

Dr. Ramon Pla
Presidente del CEIC

Annex 9.3: Consentiment informat presentat als pacients:

CONSENTIMENT INFORMAT. MALALTIA CELÍACA I MALALTIES AUTOINMUNES SISTEMÍQUES

Vosté pateix una malaltia autoimmunità. La malaltia celíaca és una malaltia de transmissió genética en la que es produeix una reacció immunològica cap a una proteïna anomenada glúten, continguda en alguns aliments com el blat, cibada, ordi i sègol. Aquesta reacció immunològica comporta l'existència d'una alteració de l'absorció d'aliments, vitamines i minerals al budell prim.

Nombrosos estudis han demostrat que la malaltia celíaca és més prevalent entre la gent que presenta alguna malaltia autoimmunità. El diagnòstic precoç és important per a evitar una prolongada exposició al glúten i tots els efectes negatius que això comporta. Se sap que les complicacions es relacionen amb el temps d'exposició.

Es disposa actualment de marcadors genéticos que determinen la predisposició a patir la malaltia, el que permet identificar les persones a risc de patir-la. Aquest marcadors genéticos es determinen mitjançament una anàlisi de sang i la major part de persones a risc de patir la malaltia son positius per aquests marcadors. En aquestes persones positives per als marcadors genéticos, s'ha de realitzar periòdicament una anàlisi de sang per a determinar la presència en el sèrum d'uns anticossos (anticossos antitransglutaminasa i antiendomisi) que són positius en casi el 100% de les persones que tenen una malaltia celíaca amb lesió important (atrofia). No obstant, existeix la sospita que en pacients amb lesions més lleus, (inflamació i subatrofia) aquests anticossos poden ser negatius i només pot diagnosticar-se la malaltia celíaca de forma precoç mitjançament la realització de biòpsia intestinal. La recollida d'aquestes mostres és senzilla i es realitza mitjançament una fibrogastroscòpia amb biòpsia duodenal.

Li oferim la possibilitat de realització d'aquestes proves més precises en el context d'un estudi.

Si vosté està d'acord en que li fem el cribratge de la malaltia farem una analítica de sang amb una ençquesta i en cas de que algú resultat de la analítica indiqués que hi han indicis de que vosté pateix la malaltia celíaca farem una fibrogastroscòpia amb biòpsies duodenals. Un cop tinguem els resultats farem una entrevista amb vosté per comentarlos i decidir si es convenient la realització d'un tractament que en aquest cas seria una dieta sense gluten. El seguiment de la malaltia el farem en diverses entrevistes posteriors.

La seva participació en aquest estudi és totalment lliure i voluntària.

Independentment de la seva decisió, la realització d'un estudi genético i determinació periòdica d'anticossos específics són mesures altament recomanables. En qualsevol moment vosté pot negarse a seguir amb l'estudi de la malaltia en qualsevol moment sense que això interfereixi en la nostra pràctica habitual envers la seva malaltia de base.

En tot moment nosaltres garantizem que els resultats obtinguts son absolutament confidencials.

Els riscos que presenta el fer la fibrogastroscòpia amb biòpsia duodenal son pocs i en la majoria dels casos relacionats amb possibles sagnats digestius posteriors.

Nosaltres garantizem el seu tractament en cas de que es presenti alguna complicació:

ANNEXES

He llegit i he entés el perquè se'm realitzarà aquest estudi. Estic d'acord en el que he llegit i per tant dono el meu consentiment. En qualsevol cas puc retirar-me de l'estudi en un moment donat:

Nom del Dr/Dra: _____ Nom del pacient: _____

Signatura Dr/Dra. _____ Signatura pacient: _____

Annex 9.4: Article derivat del present estudi publicat al *Digestive and liver disease* any 2012(160):

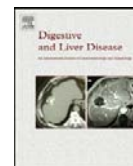
Digestive and Liver Disease 44 (2012) 636–642



Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://SciVerse.Sciencedirect.com)

Digestive and Liver Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dld



Alimentary Tract

Prevalence and clinical relevance of enteropathy associated with systemic autoimmune diseases

Maria-José Vives^a, Maria Esteve^{b,e}, Meritxell Mariné^{a,e}, Fernando Fernández-Bañares^{b,e}, Montserrat Alsina^c, Antonio Salas^{d,e}, Carme Loras^{b,e}, Anna Carrasco^{b,e}, Pere Almagro^a, Josep M^a Viver^{b,e}, Mónica Rodríguez-Carballeira^{a,*}

^a Department of Internal Medicine, Hospital Universitari MútuaTerrassa, Fundació per la Recerca MútuaTerrassa, Universitat de Barcelona, Terrassa, Catalonia, Spain

^b Department of Gastroenterology, Hospital Universitari MútuaTerrassa, Fundació per la Recerca MútuaTerrassa, Universitat de Barcelona, Terrassa, Catalonia, Spain

^c Department of Immunology (Catlab), Hospital Universitari MútuaTerrassa, Fundació per la Recerca MútuaTerrassa, Universitat de Barcelona, Terrassa, Catalonia, Spain

^d Department of Pathology, Hospital Universitari MútuaTerrassa, Fundació per la Recerca MútuaTerrassa, Universitat de Barcelona, Terrassa, Catalonia, Spain

^e Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 June 2011

Accepted 19 February 2012

Available online 1 April 2012

Keywords:

Autoimmune diseases

Coeliac disease

Diagnosis and aetiology of enteropathy

Enteropathy

ABSTRACT

Objective: To assess whether systemic autoimmune diseases are a risk group for coeliac disease and if there is a systemic autoimmune diseases-associated enteropathy.

Methods: 183 patients with systemic autoimmune diseases were included. Duodenal biopsy was carried out on patients with positive coeliac genetics (HLA-DQ2-DQ8) and/or serology and/or symptoms of the coeliac disease spectrum. When enteropathy was found, causes, including gluten sensitivity, were investigated and categorized according to a sequentially applied treatment. Results were analysed with Chi-square or Fisher exact tests.

Results: The prevalence of coeliac disease with atrophy was 0.55% (1 of 183 patients). Thirty-eight of the 109 patients (34.8%) who underwent duodenal biopsy had lymphocytic enteropathy (8 infectious, 5 due to gluten sensitive enteropathy, 5 HLA-DQ2/DQ8 who did not accept gluten-free diet and 20 of unknown aetiology). Lymphocytic enteropathy was unrelated to disease activity or immunosuppressants. HLA-DQ2 was more frequent in connective tissue disease (41.5%) compared with systemic vasculitis and autoinflammatory diseases (17.9%) ($p = 0.02$), whereas a lower percentage of lymphocytic enteropathy was observed in the former (20.2% vs. 41.6%). Lymphocytic enteropathy was clinically irrelevant in cases with no definite aetiology.

Discussion: One third of systemic autoimmune diseases patients had enteropathy of uncertain clinical meaning in the majority of cases, which was rarely due to gluten sensitive enteropathy.

© 2012 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The association of organ-specific autoimmune disorders, such as type 1 diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis and chronic autoimmune hepatitis, with coeliac disease (CD) is well established [1–5]. The risk of developing systemic autoimmune diseases (SAD) seems to be higher among patients with CD than in the general population [2,3,6–12]. However evidence regarding increased CD prevalence in patients with SAD is scarce [13–19]. The most widely used strategy for CD detection in well-recognized risk groups is based on testing for anti-transglutaminase antibodies (tTGA) and antiendomysial antibodies (EmA), which have high sensitivity and

specificity in diagnosing CD patients with villous atrophy (VA) [5,20]. Nonetheless, the sensitivity of these antibodies decreases to less than 30% in patients with lymphocytic enteropathy (LE) [20–24]. Diagnosing patients with this infiltrative stage is also important since CD-like symptoms may occur in patients with preserved villous architecture [23,25–30].

A strategy based on HLA-DQ2- and HLA-DQ8-typing followed by intestinal biopsy if positive allows for the identification of patients from the whole spectrum of CD, especially those with mild enteropathy. This strategy, based on the high negative predictive value of a negative genetic study, has demonstrated its utility in the diagnostic work-up for chronic diarrhoea with functional characteristics [31] and anaemia of unknown origin [32], as well as in the screening of first-degree relatives of CD patients [23]. As far as we know, this diagnostic strategy has never been used to evaluate patients with SAD. The aims of the present study were: (1) to determine whether SAD is a risk group for CD by using a diagnostic strategy based on genetic study followed by duodenal biopsy, and

* Corresponding author at: Department of Internal Medicine, Hospital Universitari MútuaTerrassa, University of Barcelona, Pl. Dr. Robert 5, 08221 Terrassa, Barcelona, Catalonia, Spain. Tel.: +34 93 736 50 50x1215; fax: +34 93 736 50 43.

E-mail address: mrodriguez@mutuaterrassa.es (M. Rodríguez-Carballeira).

(2) to assess whether there is a SAD-associated enteropathy and, if so, to assess its clinical relevance.

2. Materials and methods

2.1. Patients

All patients with SAD seen in the outpatient clinic of a tertiary referral hospital (catchment area: 250,000 inhabitants) were consecutively recruited between April 2006 and December 2008. The diagnosis of SAD was based on the American College of Rheumatology (ACR) criteria [33] and the patients were categorized into 4 groups according to similar physiopathological characteristics: group A, connective tissue diseases (patients fulfilling ACR criteria); group B, undifferentiated connective tissue diseases (patients fulfilling some but not all of the ACR criteria); group C, systemic vasculitis; group D, 'autoinflammatory diseases'. Demographic and clinical characteristics related to SAD were recorded: duration of SAD (months), treatment with immunosuppressants, disease status – active, inactive or stable (inactive under immunosuppressants) – and concomitant organ-specific autoimmune diseases (autoimmune thyroiditis, type 1 diabetes and vitiligo). Blood parameters (haemogram, liver function tests, sideremia, acute phase reactants, thyroidal function and antinuclear antibodies, anti-DNA and extractable nuclear antibodies, and complement C3 and C4 fraction) were determined using standard analytical methods.

The study protocol was approved by the ethics committee of the hospital.

2.2. Diagnostic strategy and study design

After written informed consent was obtained, blood sampling was drawn for HLA-DQ2/DQ8 genotyping and serology (EmA and t-TGA assays). As a first diagnostic strategy, duodenal biopsy was offered to all patients with positive genetic markers for CD and/or positive serology. As a second diagnostic strategy, duodenal biopsy was proposed to symptomatic patients with negative genetic and serological markers for CD.

A self-administered questionnaire of digestive symptom severity using a Visual Analogue Scale (VAS) (range: 0–100) was obtained from all patients [23,30]. Bone mineral density (BMD) was also recorded for some patients (see below). A subject was considered to be symptomatic when either complaining of at least one digestive symptom and/or having positive blood test (anaemia, hypertransaminasemia) and/or bone densitometry with impairment. A symptom was considered to be present when it scored >20 points and severe when it scored more than 50 points in the VAS.

After duodenal biopsy was performed, possible aetiologies such as parasites or Crohn's disease were ruled out in patients with enteropathy. *Helicobacter pylori* (HP) infection was investigated by means of urease test and histopathological assessment in all the cases. HP eradication after specific treatment was based on urease test and/or histopathological assessment. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were withdrawn at least 1 month before histological examination from all patients taking them. In patients with persistent enteropathy in spite of the elimination of possible causative agents, the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy (GSE) was considered and a gluten-free diet (GFD) was recommended. Adherence was recorded and iron and/or calcium plus vitamin D supplementation was prescribed when deficiencies or bone density impairment was detected. Clinical, histological, analytical and serological assessments were made for all patients who adhered to a GFD at least one year after starting up. A

patient was considered to be in complete clinical response when all symptoms disappeared (VAS <20 points) and when a normalization of analytical abnormalities occurred. Partial clinical response was defined as more than 30 points' reduction in the VAS score. Complete histological response was defined as evolution from Marsh III to Marsh 0–I, or Marsh I evolution to Marsh 0. An unequivocal diagnosis of GSE required both clinical and histological and/or serological response.

Finally, in patients with enteropathy of uncertain aetiology a possible relation with the underlying SAD, including anti-enterocyte antibodies, was investigated.

2.3. Antibody detection

Serum IgA-EmA was determined by indirect immunofluorescence assay in serum samples at 1:5 dilution, as described previously [34]. Commercial sections of monkey distal oesophagus (BioMedical Diagnostics, Mame-la-Vallée, France) were used as indirect immunofluorescence substrate. Serum IgA class t-TGA was analysed using an automated quantitative ELISA method by means of a commercially available detection kit (Celikey, Sweden Diagnostics GmbH, Freiburg, Germany) using recombinant human tissue transglutaminase as antigen [35]. Values >8 U/ml were considered positive, as established by the manufacturer. Total serum IgA was measured using rate nephelometry (BN II, Dade Behring, Frankfurt, Germany). In cases of IgA deficiency, IgG class EmA was determined.

Anti-enterocyte antibodies and anti-goblet cell antibodies were assessed by indirect immunofluorescence on monkey intestinal tissue on an available commercial kit (EUROIMMUN AG, Lübeck Germany).

2.4. Genetic markers

Standard techniques were used for DNA extraction, polymerase chain reaction (PCR) amplification and product detection. To purify genomic DNA from whole blood, a commercial reagent, Generation Capture Column Kit (Gentra Systems, Minneapolis, Minnesota, USA), was used. HLA-DQ2 (DQA1*0501 and DQB1*0201 alleles) and HLA-DQ8 (DQA1*0301 and DQB1*0302) genotyping was performed by PCR amplification using sequence-specific primers [36] on a GeneAmp PCR 2400 System (Pekin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA). HLA-DQ2 was considered to be positive when both alleles were positive.

2.5. Duodenal biopsy and histological studies

Four endoscopic biopsies from the 2nd to the 3rd portions of the duodenum were processed using haematoxylin/eosin staining and CD3 immunophenotyping, and they were blindly evaluated by an expert gastrointestinal pathologist (A.S.). Histopathological findings were staged according to the Marsh criteria revised by Rostami et al. [37]. A cut-off of 25 IEL/100 epithelial cells was established for the diagnosis of LE [38]. We validated this cut-off in our area in 15 consecutive patients who underwent upper gastrointestinal endoscopic examination due to heartburn or as a follow-up of Barret oesophagus in whom gastric and duodenal mucosa were macroscopically normal; all were consuming gluten and had no relatives with coeliac disease. Mean IEL count in this control group was 14.1% and mean + 2SD was 24.9%.

2.6. Measurement of bone mineral density

BMD was assessed in a subgroup of patients showing some degree of histological abnormality (Marsh I–III). T and Z-scores were measured in lumbar spine and left femoral neck using dual-energy

Table 1
Frequency of the HLA-DQ2 haplotype (positive DQA1*0501 and DQB1*0201) and the alleles of DQ2 in the established groups of systemic autoimmune diseases.

	Group A Connective tissue disease (n = 119)	Group B Undifferentiated connective tissue disease (n = 28)	Group C Vasculitis (n = 15)	Group D Autoinflammatory diseases (n = 21)	P [*]
HLA-DQ2+ DQA1*0501+/DQB1*0201+	48 (40%) SLE 27 (40.9%) SE 3 (18.8%) MCTD 4 (66.7%) PAS 4 (28.6%) SD 10 (58.8%)	13 (46%)	2 (13%)	5 (24%)	0.02
DQA1*0501+/DQB1*0201–	19 (16%)	4 (14%)	3 (20%)	2 (10%)	
DQA1*0501–/DQB1*0201+	13 (11%)	4 (14%)	3 (20%)	3 (14%)	
DQA1*0501–/DQB1*0201–	39 (33%)	7 (25%)	7 (47%)	11 (52%)	
HLA-DQ8 ^{**}	n = 71	n = 15	n = 13	n = 16	
DQA1*0301+/DQB1*0302+	16/71 (22%)	3/15 (20%)	3/13 (23%)	3/16 (19%)	0.9

SLE, systemic lupus erythematosus (n = 66); SE, systemic sclerosis (n = 14); MCTD, mixed connective tissue disease (n = 6); PAS, primary antiphospholipid syndrome (n = 14); SD, Sjögren disease (n = 17).

^{*} Fisher exact test comparing groups A and B vs. Groups C and D. Results are expressed as numbers (percentage).

^{**} HLA-DQ8 was only done in the 115 HLA-DQ2-negative patients.

X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar DPX-aph). According to World Health Organization criteria, osteopenia is defined as a value *T* score –1 to –2.5, and osteoporosis is defined as a value of *T* score <–2.5 [39].

2.7. Statistical analysis

Qualitative variables were expressed as percentages and quantitative variables as mean and standard deviation (SD) when normality could be assumed, or as median or limits if not. Qualitative bivariate relationships were analysed with Chi-square tests or Fisher exact test as appropriate. Results were considered statistically significant at *p* < 0.05. All analyses were performed using SPSS v15 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1. Clinical characteristics of the systemic autoimmune diseases population

One hundred and eighty-three SAD patients were included (34 males, 149 females; mean age; 47.2 years (SD: 17.3)). The median time from SAD diagnosis to inclusion was 63 months (range: 0–360). The disease status was inactive in 59 patients (32.2%), stable in 95 (51.9%) and active in 29 (15.8%). According to the type of SAD, 119 patients had a connective tissue disease (66 systemic lupus erythematosus; 16 systemic sclerosis; 6 mixed connective tissue disease; 14 primary antiphospholipid syndrome; 17 Sjögren syndrome); 28 undifferentiated connective tissue disease; 15 systemic vasculitis (1 cryoglobulinaemia; 7 giant cell arteritis; 7 ANCA associated vasculitis); and 21 'autoinflammatory diseases' (5 Behçet and 16 Sarcoidosis). Twenty-two of 183 patients had a concomitant organ-specific autoimmune disease.

Forty patients (22%) were treated with immunosuppressants with 23 (52%) of them receiving combined immunosuppression. Fourteen patients (7.6%) were treated with azathioprine, 6 (3.3%) received methotrexate, 10 (5.5%) micophenolate mofetil, 4 (2.2%) cyclophosphamide, 1 (0.5%) cyclosporine and 32 high doses of corticosteroids (>10 mg for more than 3 months).

3.2. Genetic markers of coeliac disease

Genetic markers of CD (HLA-DQ2 or -DQ8) were positive in 93 of the 183 patients (50.8%); 68 of them had positive DQ2 (37.2%). In Table 1 a detailed description of genetic marker distribution in the

4 groups of SAD is shown. The presence of DQ2 was significantly higher in the 2 groups with connective tissue disease (groups A and B) as compared to the other groups with systemic vasculitis and autoinflammatory diseases (groups C and D) (41.5% vs. 17.9%; *p* = 0.02; OR: 2.9; 95% CI: 1.1–8.0).

3.3. Histopathological findings at baseline

The diagnostic and therapeutic work-up followed per protocol is shown in Fig. 1. A duodenal biopsy was proposed to 128 of the 183 SAD patients (93 with positive genetic markers and 35 due to intestinal or extra-intestinal symptoms). Nineteen asymptomatic patients with positive genetic markers did not accept the biopsy. In the end, 109 patients underwent duodenal biopsy, 74 of them having a positive genetic study for CD susceptibility (53 HLA-DQ2+ and 21 HLA-DQ8+), and the remaining 35 DQ2/DQ8-negative patients due to symptoms of the CD clinical spectrum.

Only one female suffering from undifferentiated connective tissue disease had both positive DQ2 and serological markers (EmA and t-TGA). The duodenal biopsy showed VA (Marsh IIIc) and a complete clinical and serological response was obtained after a GFD. Thus, the prevalence of CD with biopsy-proven atrophy in the whole SAD population was 0.55% (1 of 183 patients with SAD) and 0.68% among the 147 patients with connective tissue disease.

Thirty-eight of the 109 patients (34.8%) who underwent duodenal biopsy had increased IEL with a median number of 35.5 per 100 epithelial cells (range 25–100).

3.4. Histopathological response of enteropathy to specific treatment

In 12 of the 38 patients with LE an infectious aetiology of the LE was recognized (11 had *HP* infection and 1 had *Giardia lamblia* infestation). In 6 cases the LE disappeared after successful *HP* eradication. In 4 cases the LE persisted after successful *HP* eradication and the possibility of GSE was considered. In the remaining 2 patients in whom *HP* infection and *Giardiasis* persisted after specific treatment, LE was considered to be due to unresolved infection.

A GFD was proposed to 30 patients (26 with non-recognized infectious or drug-induced aetiology of LE and the previous 4 patients with persistent LE after successful *HP* eradication) and this was accepted by 18 (14 HLA-DQ2+, 2 HLA-DQ8+, 1

ANNEXES

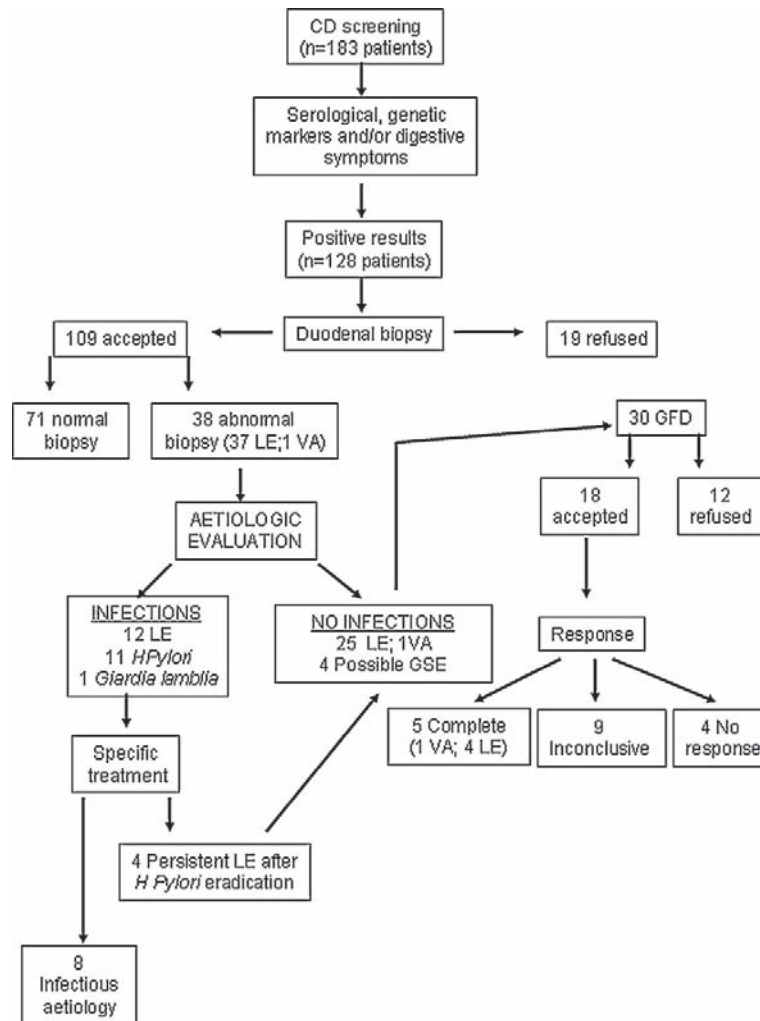


Fig. 1. Flow diagram of the diagnostic and therapeutic work-up of enteropathy in patients with systemic autoimmune diseases. LE, lymphocytic enteropathy; VA, villous atrophy; GSE, gluten-sensitive enteropathy; GFD, gluten-free diet.

HLA-DQ2A1+ and 1 HLA-DQ2/DQ8-). A complete clinical and histological response to the GFD was observed in 5 patients, all of them with positive HLA-DQ2 (1 with VA and 4 with LE). In all, except one case with Sjögren syndrome with persistence of sicca syndrome, the majority of symptoms related to underlying SAD improved with the GFD (Table 2). Particularly remarkable was the

dramatic amelioration of cutaneous symptoms in one patient with systemic sclerosis.

The prevalence of GSE in SAD patients, considering the entire spectrum of histological severity, was 4.58% (5 of the 109 patients who underwent duodenal biopsy). None of them had a concomitant organ-specific autoimmune disease.

Table 2
Clinical characteristics of the 5 patients with gluten-sensitive enteropathy.

Underlying disease	Histopathological findings	Predominant clinical manifestations of GSE spectrum	Underlying disease predominant symptoms	Underlying disease response to GFD
Sjögren disease	Lymphocytic enteropathy	Abdominal pain	Sicca syndrome	No
UCTD	Lymphocytic enteropathy	Abdominal distension	Serositis and arthromyalgia	Yes
Behçet	Lymphocytic enteropathy	Anaemia and abdominal pain	Aphthous ulcers of the mouth and genitalia; posterior uveitis	Yes
Systemic sclerosis	Lymphocytic enteropathy	Abdominal pain	Raynaud, sclerodactylia, arthralgia	Yes
UCTD	Villous atrophy	Anaemia and severe digestive symptoms	Raynaud, arthritis, asthenia	Yes

UCTD, undifferentiated connective tissue disease; GSE, gluten sensitive enteropathy; GFD, gluten free diet.

Table 3

Lack of relationship between disease status, immunosuppressants and the presence of lymphocytic enteropathy.

	Lymphocytic enteropathy (n = 20)	Normal duodenal mucosa (n = 76)	p
Immunosuppressants	4 (20%)	27 (35%)	0.3
Disease activity	^a Stable: 9 (45%)Inactive: 6 (30%)Active: 5 (25%)	Stable: 40 (53%)Inactive: 22 (29%)Active: 14 (18%)	0.77

Results are expressed as numbers (percentage). Statistical comparisons were made with Fisher's exact test.

^a Stable: stable disease with maintenance treatment.**Table 4**

Frequency of severe gastrointestinal symptoms (VAS > 50) and extraintestinal manifestations in systemic autoimmune disease patients with or without lymphocytic enteropathy.

	Lymphocytic enteropathy (n = 20)	Normal duodenal biopsy (n = 76)	p
Flatulence	6 (30%)	26 (34%)	0.8
Abdominal pain	6 (30%)	22 (29%)	1
Diarrhoea	6 (30%)	17 (22%)	0.56
Asthenia	12 (60%)	43 (56.6%)	1
Abdominal distension	8 (40%)	25 (33%)	0.6
Anaemia	7 (35%)	24 (31.6%)	0.8
Osteoporosis or osteopenia	4/20 (20%)	20/72 (28%)	0.6

Results are expressed as numbers (percentage). Statistical comparisons were made with Fisher's exact test; VAS, visual analogue scale; SAD, systemic autoimmune diseases.

Of the 12 patients with LE who did not accept a GFD, 7 had negative genetic study and the remaining 5 with positive CD genetic markers were completely asymptomatic. Four of these 12 patients accepted a further follow-up biopsy, with 3 of them (1 positive for HLA-DQ2) showing spontaneous histological normalization.

3.5. Lymphocytic enteropathy of unknown aetiology in patients with systemic autoimmune diseases

After completion of the diagnostic work-up of LE, including infections, drugs and GSE, for 20 cases (18.3% of SAD patients who underwent duodenal biopsy) no definite aetiology could be established (11 patients with incomplete or non-response to a GFD and 7 individuals refusing a GFD but having negative DQ2 and DQ8). In these cases, we investigated a possible relationship of LE with the underlying SAD. However, no significant association was found between the presence of LE and disease activity or immunosuppressants (Table 3).

Regarding the relationship of LE with the type of SAD, patients with vasculitis and autoinflammatory diseases (groups C and D) showed a non-significant trend towards LE more frequently than did patients with connective autoimmune diseases (groups A and B) (41.6% vs. 20.2%; $p = 0.12$; OR: 3.2; 95% CI: 0.7–13.8). Remarkably, as we noted above, patients from groups C and D had the lowest percentage of positive CD genetic markers (Table 1). In addition, though there was a selection bias in favour of recommending biopsy to those patients with positive coeliac genetic markers, there were no significant differences in the percentage of positive HLA-DQ2/DQ8 in patients with LE (55%) as compared to patients with normal duodenal biopsy (66%) ($p = 0.43$; 95% CI: 0.5–4.2). In addition, 9 of 35 HLA-DQ2/DQ8 negative patients (25.7%) had LE of unknown origin.

To definitively characterize the enteropathy in cases with LE of unknown aetiology, the anti-enterocyte antibodies were determined; these were negative in all cases. The anti-goblet cell antibodies were positive in only one patient with primary antiphospholipid syndrome who had no gastrointestinal symptoms and in whom the duodenal biopsy was normal.

3.6. Prevalence of gastrointestinal symptoms in lymphocytic enteropathy of systemic autoimmune diseases

Nineteen of the 20 SAD patients with LE (95%) of unknown aetiology had gastrointestinal symptoms (11 abdominal pain, 11

distension, 11 flatulence and 10 diarrhoea). Fifteen patients had asthenia. In the majority of cases these symptoms were mild (VAS values from 20 to 50). However, 16 patients (80%) had at least one gastrointestinal symptom of severe intensity (VAS > 50). Patients with LE showed a trend towards having severe symptoms more frequently than patients with normal mucosa (80% LE vs. 58% non-LE, $p = 0.077$). However, none of the clinical characteristics taken alone (abdominal pain, distension, flatulence, asthenia, diarrhoea, liver function test and anaemia) showed any relationship with LE (Table 4). There were also no differences in bone mineral density status or anaemia between patients with and those without LE. There were also no differences in the remaining blood parameters between groups.

4. Discussion

The prevalence of 0.57% of CD with VA found in the present study, similar to that reported in the general reference population [30], does not lend support to the idea that the majority of SAD patients are risk diseases for CD. In addition only a mild increase in the percentage of positive HLA-DQ2 genetic predisposition for CD (40%) compared to the general population was found in patients with connective tissue diseases, particularly systemic lupus erythematosus, but this was not the case not in patients with vasculitis (13%) or "autoinflammatory diseases" (24%). This mild increase in the percentage of HLA-DQ2 in patients with systemic lupus erythematosus but not of CD suggests that this genetic marker represents a common genetic background among certain types of SAD and CD rather than being a predisposing condition to CD. A similar finding was reported by our group concerning a cohort of patients with lymphocytic colitis in whom 48% of HLA-DQ2 was found in the absence of associated CD [40].

Previously published data dealing with the association of CD with different types of SAD are controversial. The reasons for the discrepancies probably include a lack of standardization of the screening techniques (generally serological methods), differences in CD diagnostic criteria, and the small sample size of patients evaluated. Prevalence studies in patients with systemic lupus erythematosus using serology as a screening method did not find a strong relationship with CD (1%) as compared to that of the reference population [14]. These results are in agreement with those of the present study, in which the only case of CD with villous atrophy was a patient with an undifferentiated connective tissue disease (fulfilling some but not all of the systemic lupus

erythematosus criteria). However, the most consistent association established is with Sjögren syndrome [16,41,42]. In our study, one patient with Sjögren syndrome had an LE (Marsh type I) with a clear response to a GFD. Moreover, the 58.8% of DQ2 positivity, identical to that previously described [16], is in the same range as the well-recognized CD risk groups (first degree relatives, type I diabetes and autoimmune thyroiditis). These results argue in favour of Sjögren syndrome being included in case-finding strategies, as has previously been proposed [42]. The relationship of CD with systemic sclerosis [17,19] and antiphospholipid syndrome [15] is more questionable. In previous studies the number of patients included was limited [17,19] and/or the CD diagnosis was retrospective [17] or not histologically confirmed [15]. In our study the cohort of patients with systemic sclerosis and antiphospholipidic syndrome was also small, but the low percentage of HLA-DQ2 positivity in these 2 entities does not suggest a predisposition to CD. However, the dramatic response of the systemic sclerosis symptoms to a GFD in a patient with LE due to gluten sensitivity was remarkable. Thus, the relationship between systemic sclerosis and CD and the possible beneficial effect of a GFD on the SAD outcome in patients showing gluten sensitivity requires further study with larger samples.

In contrast to other published studies assessing the prevalence of CD in patients with autoimmune conditions, the type of study design we used, performing a duodenal biopsy in patients with positive CD genetic markers and/or gastrointestinal symptoms, allowed us to establish, for the first time, the frequency, histological characteristics and clinical relevance of the enteropathy found in SAD patients, whether related with gluten sensitive enteropathy or not. In this sense, we found that one third of SAD patients showed a mild enteropathy, consisting of LE. The response to a specific treatment during the follow-up established an infectious aetiology, mainly *HP* infection, in 21% of the cases, even though a GSE was responsible for only 13.1% of the LE, including the case with villous atrophy.

Of note, in the majority of cases of LE the aetiology could not be established. It has been suggested that patients with autoimmune diseases may have intraepithelial lymphocytosis due to the disease itself [43]. The results of our study suggest that this could be the case in patients with vasculitis and “autoinflammatory diseases” but not in patients with connective tissue diseases. However, the vast majority of patients with SAD had completely normal duodenal mucosa, and when LE was detected, it was unrelated to the disease status in terms of activity of the disease or immunosuppressant therapy, and in some cases it was self-limited. The existence of a possible associated autoimmune enteropathy was also investigated due to the high percentage of gastrointestinal complaints in patients with SAD (80% in patients with LE and 58% in patients with normal biopsy), particularly in those with LE. However, the anti-enterocyte antibodies were negative in all cases and symptoms were generally mild, which argues against the existence of this association. We have no explanation for the high frequency of gastrointestinal complaints in SAD patients without evidence of enteropathy, but similar findings were also found in patients with Sjögren syndrome and normal duodenal mucosa [41].

Finally, the lack of a relationship of intestinal symptoms and extra intestinal manifestations with the presence of LE is an additional argument lending support to the idea that this type of enteropathy found in patients with SAD is non-specific and is probably an irrelevant entity. This is in contrast to what happens with LE due to GSE and LE related to *HP* infection. In this sense, in GSE a close dependency has been demonstrated between the severity of intestinal damage (Marsh I to Marsh III) and the intensity of clinical manifestations both in CD detected in groups of risk [23] and CD detected by mass screening [30].

A limitation of the study was the heterogeneity of the different SAD included. As previously mentioned, the larger population of Sjögren syndrome and systemic sclerosis patients merits further assessment. In addition, not all SAD patients accepted duodenal biopsy. However most patients who did not accept biopsy had negative genetic study for CD or were completely asymptomatic. It seems reasonable to believe that these patients will have equal or less enteropathy than the symptomatic ones.

In conclusion, one third of SAD patients had a mild enteropathy, which is due to a GSE in a low proportion of cases. The aetiology of this enteropathy remains generally unknown; however, it is clinically not relevant and does not seem to be specifically related to the underlying SAD.

Conflict of interest statement

None declared.

Acknowledgment

The ‘Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)’ is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Spain.

References

- [1] Ch'ng CL, Jones MK, Kingham JG. Celiac disease and autoimmune thyroid disease. *Clin Med Res* 2007;5:184–92.
- [2] Fasano A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2006;22:674–9.
- [3] Kumar V, Rajadhyaksha M, Wortsman J. Celiac disease-associated autoimmune endocrinopathies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:678–85.
- [4] Mirzaagha F, Azali SH, Islami F, et al. Coeliac disease in autoimmune liver disease: a cross-sectional study and a systematic review. *Dig Liver Dis* 2010;42:620–3.
- [5] Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131:1981–2002.
- [6] Collin P, Reunala T, Pukkala E, et al. Coeliac disease – associated disorders and survival. *Gut* 1994;35:1215–8.
- [7] Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636–51.
- [8] Ventura A, Magazzu G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology* 1999;117:297–303.
- [9] Satagna GC, Solerio E, Scaglione N, et al. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. *Gut* 2001;49:502–5.
- [10] Guariso G, Conte S, Presotto F, et al. Clinical, subclinical and potential autoimmune diseases in an Italian population of children with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1409–17.
- [11] Barton SH, Murray JA. Celiac disease and autoimmunity in the gut and elsewhere. *Gastroenterol Clin North Am* 2008;37:411–28, vii.
- [12] Neuhausen SL, Steele L, Ryan S, et al. Co-occurrence of celiac disease and other autoimmune diseases in celiacs and their first-degree relatives. *J Autoimmun* 2008;31:160–5.
- [13] Rensch MJ, Szyjkowski R, Shaffer RT, et al. The prevalence of celiac disease autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1113–5.
- [14] Marai I, Shoenfeld Y, Bizzaro N, et al. IgA and IgG tissue transglutaminase antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004;13:241–4.
- [15] Shamir R, Shoenfeld Y, Blank M, et al. The prevalence of coeliac disease antibodies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2003;12:394–9.
- [16] Iltanen S, Collin P, Korpela M, et al. Celiac disease and markers of celiac disease latency in patients with primary Sjogren's syndrome. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1042–6.
- [17] Luft LM, Barr SG, Martin LO, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase in Sjogren's syndrome and related rheumatic diseases. *J Rheumatol* 2003;30:2613–9.
- [18] Selva-O'Callaghan A, Casellas F, de Torres I, et al. Celiac disease and antibodies associated with celiac disease in patients with inflammatory myopathy. *Muscle Nerve* 2007;35:49–54.
- [19] Rosato E, De Nitto D, Rossi C, et al. High incidence of celiac disease in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2009;36:965–9.
- [20] Rostom A, Dubé C, Cranney A, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005;128:538–46.

ANNEXES

- [21] Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery. *Am J Gastroenterol* 2000;95:712–4.
- [22] Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, et al. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999;94:888–94.
- [23] Esteve M, Rosinach M, Fernandez-Bañares F, et al. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut* 2006;55:1739–45.
- [24] Santaolalla R, Fernandez-Bañares F, Rodriguez R, et al. Diagnostic value of duodenal antitissue transglutaminase antibodies in gluten-sensitive enteropathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:820–9.
- [25] Picarelli A, Maiuri L, Mazzilli MC, et al. Gluten-sensitive disease with mild enteropathy. *Gastroenterology* 1996;111:608–16.
- [26] Kurppa K, Collin P, Sievänen H, et al. Gastrointestinal symptoms, quality of life and bone mineral density in mild enteropathic coeliac disease: a prospective clinical trial. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:305–14.
- [27] Kaukinen K, Mäki M, Partanen J, et al. Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for. *Dig Dis Sci* 2001;46:879–87.
- [28] Wahnschaffe U, Ullrich R, Riecken EO, et al. Celiac disease-like abnormalities in a subgroup of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2001;121:1329–38.
- [29] Tursi A, Brandimarte G. The symptomatic and histologic response to a gluten-free diet in patients with borderline enteropathy. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:13–7.
- [30] Marine M, Fernandez-Bañares F, Alsina M, et al. Impact of mass screening for gluten-sensitive enteropathy in working population. *World J Gastroenterol* 2009;15:1331–8.
- [31] Fernandez-Bañares F, Esteve M, Salas A, et al. Systematic evaluation of the causes of chronic watery diarrhea with functional characteristics. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2520–8.
- [32] Monzon H, Forne M, Gonzalez C, et al. Mild enteropathy as a cause of iron-deficiency anaemia of previously unknown origin. *Dig Liver Dis* 2011 [Epub ahead of print].
- [33] Rheumatology.org. Bibliography of criteria, guidelines, and health status assessments used in rheumatology. *Am Coll Rheumatol*; 2011. Available at: www.rheumatology.org/practice/clinical/bibliography/s.asp.
- [34] Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984;111:395–402.
- [35] Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, et al. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. *J Clin Pathol* 2002;55:488–94.
- [36] Olerup O, Aldener A, Fogdell A. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* 1993;41:119–34.
- [37] Rostami K, Kerckhaert JP, Tiemessen R, et al. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:439–42.
- [38] Hayat M, Cairns A, Dixon MF, et al. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol* 2002;55:393–4.
- [39] Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994;843:1–129.
- [40] Fernandez-Bañares F, Esteve M, Farre C, et al. Predisposing HLA-DQ2 and HLA-DQ8 haplotypes of coeliac disease and associated enteropathy in microscopic colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1333–8.
- [41] Szodoray P, Barta Z, Lakos G, et al. Coeliac disease in Sjogren's syndrome – a study of 111 Hungarian patients. *Rheumatol Int* 2004;24:278–82.
- [42] Roblin X, Helluwaert F, Bonaz B. Celiac disease must be evaluated in patients with Sjogren syndrome. *Arch Intern Med* 2004;164:2387.
- [43] Aziz I, Evans KE, Hopper AD, et al. A prospective study into the aetiology of lymphocytic duodenitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1392–7.

ANNEXES

10. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*. 2001;120(3):636–51.
2. Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. AGA technical review on Celiac Sprue. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*. 2001;120:1526–40.
3. Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(3):712–4.
4. Esteve M, Rosinach M, Fernández-Bañares F, Farré C, Salas A, Alsina M, et al. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut*. 2006;55(12):1739–45.
5. Farré C, Humbert P, Vilar P, Varea V, Aldeguer X, Carnicer J, et al. Serological markers and HLA-DQ2 haplotype among first-degree relatives of celiac patients. Catalanian Coeliac Disease Study Group. *Dig Dis Sci*. 1999;44(11):2344–9.
6. Celiac Disease [GeneReviews®. 1993] - PubMed - NCBI.
7. Fasano A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2006;22(6):674–9.
8. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S25–32.
9. Ventura A, Magazzù G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. *Gastroenterology*. 1999;117(2):297–303.
10. Sategna Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimo G, Mengozzi G. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. *Gut*. 2001;49(4):502–5.
11. Ch'ng CL, Jones MK, Kingham JGC. Celiac disease and autoimmune thyroid disease. *Clin Med Res*. 2007;5(3):184–92.

BIBLIOGRAFIA

12. Kumar V, Rajadhyaksha M, Wortsman J. Celiac disease-associated autoimmune endocrinopathies. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(4):678–85.
13. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology.* 2006;131(6):1981–2002.
14. Mirzaagha F, Azali SH, Islami F, Zamani F, Khalilipour E, Khatibian M, et al. Coeliac disease in autoimmune liver disease: a cross-sectional study and a systematic review. *Dig Liver Dis.* 2010;42(9):620–3.
15. Rensch MJ, Szykowski R, Shaffer RT, Fink S, Kopecky C, Grissmer L, et al. The prevalence of celiac disease autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(4):1113–5.
16. Marai I, Shoenfeld Y, Bizzaro N, Villalta D, Doria a, Tonutti E, et al. IgA and IgG tissue transglutaminase antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13(4):241–4.
17. Shamir R, Shoenfeld Y, Blank M, Eliakim R, Lahat N, Sobel E, et al. The prevalence of coeliac disease antibodies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2003;12(5):394–9.
18. Iltanen S, Collin P, Korpela M, Holm K, Partanen J, Polvi A, et al. Celiac disease and markers of celiac disease latency in patients with primary Sjögren’s syndrome. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(4):1042–6.
19. Luft LM, Barr SG, Martin LO, Chan EKL, Fritzler MJ. Autoantibodies to tissue transglutaminase in Sjögren’s syndrome and related rheumatic diseases. *J Rheumatol.* 2003;30(12):2613–9.
20. Selva-O’Callaghan A, Casellas F, de Torres I, Palou E, Grau-Junyent JM, Vilardell-Tarrés M. Celiac disease and antibodies associated with celiac disease in patients with inflammatory myopathy. *Muscle Nerve.* 2007;35(1):49–54.
21. Rosato E, De Nitto D, Rossi C, Libanori V, Donato G, Di Tola M, et al. High incidence of celiac disease in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2009;36(5):965–9.
22. Davidson A, Diamond B. General Features of Autoimmune Disease. In: Rose NR, Mackay IR, editors. *The Autoimmune Diseases.* 4th ed. Elsevier Inc; 2006. p. 25–36.

BIBLIOGRAFIA

23. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med*. 2001 Aug 2;345(5):340–50.
24. Gu H, Tarlinton D, Müller W, Rajewsky K, Förster I. Most peripheral B cells in mice are ligand selected. *J Exp Med*. 1991;173(6):1357–71.
25. Vallejo AN, Davila E, Weyand CM, Goronzy JJ. Biology of T lymphocytes. *Rheum Dis Clin North Am*. 2004;30(1):135–57.
26. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol*. 1997;84:223–43.
27. Kanazawa N, Furukawa F. Autoinflammatory syndromes with a dermatological perspective. *J Dermatol*. 2007;34(9):601–18.
28. Aróstegui JI, Yagüe J. [Hereditary systemic autoinflammatory diseases. Hereditary periodic fever syndromes]. *Med Clin (Barc)*. 2007;129(7):267–77.
29. Galeazzi M, Gasbarrini G, Ghirardello A, Grandemange S, Hoffman HM, Manna R, et al. Autoinflammatory syndromes. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(1 Suppl 40):S79–85.
30. Aróstegui JI. [Hereditary systemic autoinflammatory diseases]. *Reumatol Clin*. 2011;7(1):45–50.
31. Doria A, Zen M, Bettio S, Gatto M, Bassi N, Nalotto L, et al. Autoinflammation and autoimmunity: bridging the divide. *Autoimmun Rev*. 2012;12(1):22–30.
32. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD. Gastrointestinal manifestations in systemic autoimmune diseases. *Mædica*. 2011;6(1):45–51.
33. Tian X-P, Zhang X. Gastrointestinal involvement in systemic lupus erythematosus: insight into pathogenesis, diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2010;16(24):2971–7.
34. Ebert EC, Hagspiel KD. Gastrointestinal and hepatic manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Clin Gastroenterol*. 2011;45(5):436–41.
35. Medeiros DA, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus and ulcerative colitis. *Lupus*. 2009;18(8):762–3.
36. Abramson S, Kramer SB, Radin A, Holzman R. Salmonella bacteremia in systemic lupus erythematosus. Eight-year experience at a municipal hospital. *Arthritis Rheum*. 1985;28(1):75–9.

BIBLIOGRAFIA

37. Gupta D, Mirza N. Systemic lupus erythematosus, celiac disease and antiphospholipid antibody syndrome: a rare association. *Rheumatol Int.* 2008;28(11):1179–80.
38. Hrycek A, Siekiera U. Coeliac disease in systemic lupus erythematosus: a case report. *Rheumatol Int.* 2008;28(5):491–3.
39. Sheikh SH, Shaw-Stiffel TA. The gastrointestinal manifestations of Sjögren's syndrome. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(1):9–14.
40. Trucco Aguirre E, Olano Gossweiler C, Méndez Pereira C, Isasi Capelo ME, Isasi Capelo ES, Rondan Olivera M. [Celiac disease associated with systemic sclerosis]. *Gastroenterol Hepatol.* 2007;30(9):538–40.
41. Uthman I, Khamashta M. The abdominal manifestations of the antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(11):1641–7.
42. Vianna JL, D'Cruz DP, Khamashta MA, Asherson RA, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies in a patient with Crohn's disease and thrombosis. *Clin Exp Rheumatol.* 1992;10(2):165–8.
43. Espinosa G, Font J, García-Pagan JC, Tàssies D, Reverter JC, Gaig C, et al. Budd-Chiari syndrome secondary to antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic characteristics of 43 patients. *Medicine (Baltimore).* 2001;80(6):345–54.
44. Pagnoux C, Mahr A, Cohen P, Guillevin L. Presentation and outcome of gastrointestinal involvement in systemic necrotizing vasculitides: analysis of 62 patients with polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, Wegener granulomatosis, Churg-Strauss syndrome, or rheumatoid arthritis-associated . *Medicine (Baltimore).* 2005;84(2):115–28.
45. Grigg EL, Kane S, Katz S. Mimicry and deception in inflammatory bowel disease and intestinal behçet disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2012;8(2):103–12.
46. Dulai PS, Rothstein RI. Disseminated sarcoidosis presenting as granulomatous gastritis: a clinical review of the gastrointestinal and hepatic manifestations of sarcoidosis. *J Clin Gastroenterol.* 2012;46(5):367–74.
47. Tonutti E, Bizzaro N. Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):472–6.
48. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2012;367(25):2419–26.

BIBLIOGRAFIA

49. Green PHR, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med.* 2007;357(17):1731–43.
50. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, Castillejo G, Chmielewska A, Crespo Escobar P, et al. Randomized Feeding Intervention in Infants at High Risk for Celiac Disease. *N Engl J Med.* 2014;371(14):1304–15.
51. Greco L, Timpone L, Abkari A, Abu-Zekry M, Attard T, Bouguerrà F, et al. Burden of celiac disease in the Mediterranean area. *World J Gastroenterol.* 2011;17(45):4971–8.
52. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood.* 2007;109(2):412–21.
53. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PHR, Hadjivassiliou M, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med.* 2012;10:13.
54. Tio M, Cox MR, Eslick GD. Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35(5):540–51.
55. Ludvigsson JF. Commentary: coeliac disease, mortality and malignancy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35(7):839–40; discussion 840–2.
56. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(1):136–60.
57. Meeuwisse GW, Lindquist B. Glucose-galactose malabsorption. Studies on the intermediate carbohydrate metabolism. *Acta Paediatr Scand.* 1970;59(1):74–9.
58. McNeish AS, Harms HK, Rey J, Shmerling DH, Visakorpi JK, Walker-Smith JA. The diagnosis of coeliac disease. A commentary on the current practices of members of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). *Arch Dis Child.* 1979;54(10):783–6.
59. Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950-2001. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2003;1(1):19–27.

BIBLIOGRAFIA

60. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(9):2360–5; quiz 2366.
61. Guandalini S, Ventura A, Ansaldi N, Giunta AM, Greco L, Lazzari R, et al. Diagnosis of coeliac disease: time for a change? *Arch Dis Child*. 1989;64(9):1320–4; discussion 1324–5.
62. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child*. 1990;65(8):909–11.
63. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(1):1–19.
64. Fernández-Bañares F, Esteve M, Salas A, Alsina M, Farré C, González C, et al. Systematic evaluation of the causes of chronic watery diarrhea with functional characteristics. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(11):2520–8.
65. Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J, et al. Diagnosing mild enteropathy celiac disease: a randomized, controlled clinical study. *Gastroenterology*. 2009;136(3):816–23.
66. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med*. 2010;123(8):691–3.
67. Rosinach M, Esteve M, González C, Temiño R, Mariné M, Monzón H, et al. Lymphocytic duodenosis: aetiology and long-term response to specific treatment. *Dig Liver Dis*. 2012;44(8):643–8.
68. Simell S, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Ståhlberg M-R, Viander M, et al. Fate of five celiac disease-associated antibodies during normal diet in genetically at-risk children observed from birth in a natural history study. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(9):2026–35.
69. Mariné M, Farre C, Alsina M, Vilar P, Cortijo M, Salas A, et al. The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33(4):477–86.

BIBLIOGRAFIA

70. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol.* 1984;111(4):395–402.
71. Rostom a, Dube C, Cranney a, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology.* 2005;128(4 Suppl 1):S38–46.
72. Zintzaras E, Germeis AE. Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analysis. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(2):187–92.
73. Abrams JA, Brar P, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Utility in clinical practice of immunoglobulin a anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4(6):726–30.
74. Dickey W. Diagnostic immunology in celiac disease. *Expert Rev Clin Immunol.* 2009;5(4):471–9.
75. Dieterich W, Esslinger B, Trapp D, Hahn E, Huff T, Seilmeier W, et al. Cross linking to tissue transglutaminase and collagen favours gliadin toxicity in coeliac disease. *Gut.* 2006;55(4):478–84.
76. 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.
77. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and “Club del Tenue” Working Groups on Coeliac Disease. *Gut.* 1998;42(3):362–5.
78. Villalta D, Alessio MG, Tampoia M, Tonutti E, Brusca I, Bagnasco M, et al. Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency. A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue transglutaminase, 1 IgG anti-gliadin and 1 IgG anti-deaminated gliadin peptide antibody assays. *Clin Chim Acta.* 2007;382(1-2):95–9.
79. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G, Gigliobianco A, Lombardi D, Gasbarrini G. Low prevalence of antigliadin and anti-endomysium antibodies in subclinical/silent celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(5):1507–10.

BIBLIOGRAFIA

80. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(4):888–94.
81. Stern M. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;31(5):513–9.
82. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabó I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005;17(1):85–91.
83. Rostami K, Kerckhaert JP6, Tiemessen R, Meijer JW, Mulder CJ. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1999;11(4):439–42.
84. Hopper AD, Cross SS, Hurlstone DP, McAlindon ME, Lobo AJ, Hadjivassiliou M, et al. Pre-endoscopy serological testing for coeliac disease: evaluation of a clinical decision tool. *BMJ.* 2007;334(7596):729.
85. Dickey W, McMillan SA. Increasing numbers at a specialist coeliac clinic: contribution of serological testing in primary care. *Dig Liver Dis.* 2005;37(12):928–33.
86. Santaolalla R, Fernández-Bañares F, Rodríguez R, Alsina M, Rosinach M, Mariné M, et al. Diagnostic value of duodenal antitissue transglutaminase antibodies in gluten-sensitive enteropathy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27(9):820–9.
87. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabó IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut.* 2006;55(12):1746–53.
88. Salmi TT, Collin P, Reunala T, Mäki M, Kaukinen K. Diagnostic methods beyond conventional histology in coeliac disease diagnosis. *Dig Liver Dis.* 2010;42(1):28–32.
89. Kokkonen J, Holm K, Karttunen TJ, Mäki M. Children with untreated food allergy express a relative increment in the density of duodenal gammadelta+ T cells. *Scand J Gastroenterol.* 2000;35(11):1137–42.

BIBLIOGRAFIA

90. Fernández-Bañares F, Carrasco A, García-Puig R, Rosinach M, González C, Alsina M, et al. Intestinal intraepithelial lymphocyte cytometric pattern is more accurate than subepithelial deposits of anti-tissue transglutaminase IgA for the diagnosis of celiac disease in lymphocytic enteritis. *PLoS One*. 2014;9(7):e101249.
91. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, et al. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(3):314–20.
92. Tuire I, Marja-Leena L, Teea S, Katri H, Jukka P, Päivi S, et al. Persistent duodenal intraepithelial lymphocytosis despite a long-term strict gluten-free diet in celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(10):1563–9.
93. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol*. 2003;64(4):469–77.
94. Hadithi M, von Blomberg BME, Crusius JBA, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JWR, et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med*. 2007;147(5):294–302.
95. Monzón H, Forné M, González C, Esteve M, Martí JM, Rosinach M, et al. Mild enteropathy as a cause of iron-deficiency anaemia of previously unknown origin. *Dig Liver Dis*. 2011;43(6):448–53.
96. Murray JA, Moore SB, Van Dyke CT, Lahr BD, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, et al. HLA DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(12):1406–12.
97. Al-Toma A, Goerres MS, Meijer JWR, Peña AS, Crusius JBA, Mulder CJJ. Human leukocyte antigen-DQ2 homozygosity and the development of refractory celiac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(3):315–9.
98. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009;137(6):1912–33.
99. Kagnoff MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest*. 2007;117(1):41–9.

BIBLIOGRAFIA

100. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*. 1992;102(1):330–54.
101. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1999;11(10):1185–94.
102. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2005;58(6):573–4.
103. Ensari A. Gluten-sensitive enteropathy (celiac disease): controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(6):826–36.
104. Hayat M, Cairns A, Dixon MF, O'Mahony S. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol*. 2002;55(5):393–4.
105. Mariné M, Fernández-Bañares F, Alsina M, Farré C, Cortijo M, Santaolalla R, et al. Impact of mass screening for gluten-sensitive enteropathy in working population. *World J Gastroenterol*. 2009;15(11):1331–8.
106. Chang F, Mahadeva U, Deere H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. *APMIS*. 2005;113(6):385–99.
107. Carmack SW, Lash RH, Gulizia JM, Genta RM. Lymphocytic disorders of the gastrointestinal tract: a review for the practicing pathologist. *Adv Anat Pathol*. 2009;16(5):290–306.
108. Rubio-Tapia A, Herman ML, Ludvigsson JF, Kelly DG, Mangan TF, Wu T-T, et al. Severe spruelike enteropathy associated with olmesartan. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(8):732–8.
109. Ianiro G, Bibbò S, Montalto M, Ricci R, Gasbarrini A, Cammarota G. Systematic review: Sprue-like enteropathy associated with olmesartan. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(1):16–23.
110. Pallav K, Leffler DA, Tariq S, Kabbani T, Hansen J, Peer A, et al. Noncoeliac enteropathy: the differential diagnosis of villous atrophy in contemporary clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35(3):380–90.
111. Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Coeliac disease: an update for pathologists. *J Clin Pathol*. 2006;59(10):1008–16.
112. Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, D'Amato M, et al. Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology

BIBLIOGRAFIA

- and histopathology in a population-based study. *Gastroenterology*. 2010;139(1):112–9.
113. Aziz I, Evans KE, Hopper a D, Smillie DM, Sanders DS. A prospective study into the aetiology of lymphocytic duodenosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;32(11-12):1392–7.
 114. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LLE, Saavalainen P, Koskinen O, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr*. 2010;157(3):373–80, 380.e1.
 115. Esteve M, Carrasco A, Fernández-Bañares F. Is a gluten-free diet necessary in Marsh I intestinal lesions in patients with HLA-DQ2, DQ8 genotype and without gastrointestinal symptoms? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012;15(5):505–10.
 116. Petaros P, Martelossi S, Tommasini A, Torre G, Caradonna M, Ventura A. Prevalence of autoimmune disorders in relatives of patients with celiac disease. *Dig Dis Sci*. 2002;47(7):1427–31.
 117. Rewers M, Eisenbarth GS. Autoimmunity: Celiac disease in T1DM—the need to look long term. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(1):7–8.
 118. Liu E, Rewers M, Eisenbarth GS. Genetic testing: who should do the testing and what is the role of genetic testing in the setting of celiac disease? *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S33–7.
 119. Scaramuzza AE, Mantegazza C, Bosetti A, Zuccotti GV. Type 1 diabetes and celiac disease: The effects of gluten free diet on metabolic control. *World J Diabetes*. 2013;4(4):130–4.
 120. Collin P, Reunala T, Pukkala E, Laippala P, Keyriläinen O, Pasternack A. Coeliac disease--associated disorders and survival. *Gut*. 1994;35(9):1215–8.
 121. Guariso G, Conte S, Presotto F, Basso D, Brotto F, Visonà Dalla Pozza L, et al. Clinical, subclinical and potential autoimmune diseases in an Italian population of children with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26(10):1409–17.
 122. Barton SH, Murray JA. Celiac disease and autoimmunity in the gut and elsewhere. *Gastroenterol Clin North Am*. 2008;37(2):411–28, vii.

BIBLIOGRAFIA

123. Neuhausen SL, Steele L, Ryan S, Mousavi M, Pinto M, Osann KE, et al. Co-occurrence of celiac disease and other autoimmune diseases in celiacs and their first-degree relatives. *J Autoimmun.* 2008;31(2):160–5.
124. Viljamaa M, Kaukinen K, Huhtala H, Kyrönpalo S, Rasmussen M, Collin P. Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40(4):437–43.
125. Ventura A, Magazù G, Gerarduzzi T, Greco L. Coeliac disease and the risk of autoimmune disorders. *Gut.* 2002;51(6):897; author reply 897–8.
126. Cerf-Bensussan N. Autoimmunity and diet. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2009;64:91–9; discussion 99–104, 251–7.
127. Hemminki K, Li X, Sundquist K, Sundquist J. Shared familial aggregation of susceptibility to autoimmune diseases. *Arthritis Rheum.* 2009;60(9):2845–7.
128. Mirza N, Bonilla E, Phillips PE. Celiac disease in a patient with systemic lupus erythematosus: a case report and review of literature. *Clin Rheumatol.* 2007;26(5):827–8.
129. Ben Abdelghani K, Mouelhi L, Hriz A, Hajri S, Najjar T, Mahfoudhi M, et al. Systemic lupus erythematosus and celiac disease. *Joint Bone Spine.* 2012;79(2):202–3.
130. Szodoray P, Barta Z, Lakos G, Szakáll S, Zeher M. Coeliac disease in Sjögren's syndrome--a study of 111 Hungarian patients. *Rheumatol Int.* 2004;24(5):278–82.
131. Lidén M, Kristjánsson G, Valtýsdóttir S, Hällgren R. Gluten sensitivity in patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Gastroenterol.* 2007;42(8):962–7.
132. Gómez-Puerta JA, Gil V, Cervera R, Miquel R, Jiménez S, Ramos-Casals M, et al. Coeliac disease associated with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(1):104–5.
133. Nisihara R, Utiyama SR, Azevedo PM, Skare TL. Celiac disease screening in patients with scleroderma. *Arq Gastroenterol.* 2011;48(2):163–4.
134. Forbess LJ, Gordon JK, Doobay K, Bosworth BP, Lyman S, Davids ML, et al. Low prevalence of coeliac disease in patients with systemic sclerosis: a cross-sectional study of a registry cohort. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52(5):939–43.

BIBLIOGRAFIA

135. Shor DB-A, Orbach H, Boaz M, Altman A, Anaya J-M, Bizzaro N, et al. Gastrointestinal-associated autoantibodies in different autoimmune diseases. *Am J Clin Exp Immunol.* 2012;1(1):49–55.
136. Orbach H, Amitai N, Barzilai O, Boaz M, Ram M, Zandman-Goddard G, et al. Autoantibody screen in inflammatory myopathies high prevalence of antibodies to gliadin. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:174–9.
137. Triolo G, Accardo-Palumbo A, Carbone MC, Giardina E, La Rocca G. Behçet's disease and coeliac disease. *Lancet.* 1995;346(8988):1495.
138. Aldersley MA, James TE, Markham AF, Howdle PD. Coeliac disease and Behçet's disease. *Br J Ophthalmol.* 1997;81(8):710.
139. Zamani F, Shahram F, Shakeri R, Zayyeni H, Davatchi F, Amiri A, et al. Prevalence of celiac disease among patients with Behcet's disease in Iran. *Dig Dis Sci.* 2009;54(8):1736–9.
140. McCormick PA, Feighery C, Dolan C, O'Farrelly C, Kelliher P, Graeme-Cook F, et al. Altered gastrointestinal immune response in sarcoidosis. *Gut.* 1988;29(12):1628–31.
141. Papadopoulos KI, Sjöberg K, Lindgren S, Hallengren B. Evidence of gastrointestinal immune reactivity in patients with sarcoidosis. *J Intern Med.* 1999;245(5):525–31.
142. Rutherford RM, Brutsche MH, Kearns M, Bourke M, Stevens F, Gilmartin JJ. Prevalence of coeliac disease in patients with sarcoidosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16(9):911–5.
143. Stagi S, Simonini G, Ricci L, de Martino M, Falcini F. Coeliac disease in patients with Kawasaki disease. Is there a link? *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(7):847–50.
144. Freeman HJ. Adult celiac disease followed by onset of systemic lupus erythematosus. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42(3):252–5.
145. Ludvigsson JF, Rubio-Tapia A, Chowdhary V, Murray JA, Simard JF. Increased risk of systemic lupus erythematosus in 29,000 patients with biopsy-verified celiac disease. *J Rheumatol.* 2012;39(10):1964–70.
146. Karoui S, Sellami MK, Laatar AB, Zitouni M, Matri S, Laadhar L, et al. Prevalence of anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in celiac disease. *Dig Dis Sci.* 2007;52(4):1096–100.

BIBLIOGRAFIA

147. Ludvigsson JF, Wahlstrom J, Grunewald J, Ekbom A, Montgomery SM. Coeliac disease and risk of sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2007;24(2):121–6.
148. Hwang E, McBride R, Neugut AI, Green PHR. Sarcoidosis in patients with celiac disease. *Dig Dis Sci.* 2008;53(4):977–81.
149. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.* 1994;37(2):187–92.
150. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013;65(1):1–11.
151. Hochberg M. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9):1725.
152. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295–306.
153. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(6):554–8.
154. Barnett AJ, Miller M, Littlejohn GO. The diagnosis and classification of scleroderma (systemic sclerosis). *Postgrad Med J.* 1988;64(748):121–5.
155. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292(7):344–7.
156. Alarcón-Segovia D, Cardiel MH. Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients. *J Rheumatol.* 1989;16(3):328–34.
157. Jaeschke R, Singer J, Guyatt GH. A comparison of seven-point and visual analogue scales. Data from a randomized trial. *Control Clin Trials.* 1990;11(1):43–51.

BIBLIOGRAFIA

158. Picarelli A, Maiuri L, Mazzilli MC, Coletta S, Ferrante P, Di Giovambattista F, et al. Gluten-sensitive disease with mild enteropathy. *Gastroenterology*. 1996;111(3):608–16.
159. Kurppa K, Collin P, Sievänen H, Huhtala H, Mäki M, Kaukinen K. Gastrointestinal symptoms, quality of life and bone mineral density in mild enteropathic coeliac disease: a prospective clinical trial. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(3):305–14.
160. Vives M-J, Esteve M, Mariné M, Fernández-Bañares F, Alsina M, Salas A, et al. Prevalence and clinical relevance of enteropathy associated with systemic autoimmune diseases. *Dig Liver Dis*. 2012;44(8):636–42.
161. Roblin X, Helluwaert F, Bonaz B. Celiac disease must be evaluated in patients with Sjögren syndrome. *Arch Intern Med*. 2004;164(21):2387.
162. Leonard MM, Cureton PA, Fasano A. Managing coeliac disease in patients with diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2014 May 9. doi: 10.1111/dom.12310. [Epub ahead of print]
163. Fernández-Bañares F, Esteve M, Farré C, Salas A, Alsina M, Casalots J, et al. Predisposing HLA-DQ2 and HLA-DQ8 haplotypes of coeliac disease and associated enteropathy in microscopic colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(12):1333–8.
164. Gutierrez-Achury J, Coutinho de Almeida R, Wijmenga C. Shared genetics in coeliac disease and other immune-mediated diseases. *J Intern Med*. 2011;269(6):591–603.
165. Dalton TA, Bennett JC. Autoimmune disease and the major histocompatibility complex: therapeutic implications. *Am J Med*. 1992;92(2):183–8.
166. Trowsdale J, Knight JC. Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2013;14:301–23.
167. Ziegler TR, Fernández-Estívariz C, Gu LH, Fried MW, Leader LM. Severe villus atrophy and chronic malabsorption induced by azathioprine. *Gastroenterology*. 2003;124(7):1950–7.
168. Kamar N, Faure P, Dupuis E, Cointault O, Joseph-Hein K, Durand D, et al. Villous atrophy induced by mycophenolate mofetil in renal-transplant patients. *Transpl Int*. 2004;17(8):463–7.

BIBLIOGRAFIA

169. Weclawiak H, Ould-Mohamed A, Bournet B, Guilbeau-Frugier C, Fortenfant F, Muscari F, et al. Duodenal villous atrophy: a cause of chronic diarrhea after solid-organ transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11(3):575–82.
170. Akram S, Murray JA, Pardi DS, Alexander GL, Schaffner JA, Russo PA, et al. Adult autoimmune enteropathy: Mayo Clinic Rochester experience. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(11):1282–90; quiz 1245.
171. Biagi F, Bianchi PI, Trotta L, Corazza GR. Anti-goblet cell antibodies for the diagnosis of autoimmune enteropathy?. *Am J Gastroenterol* 2009;104(12):3112.
172. Freeman HJ. Adult autoimmune enteropathy. *World J Gastroenterol* 2008; 14(8):1156-8.

11. CERTIFICAT DE DIRECCIÓ

CERTIFICAT DE DIRECCIÓ

CERTIFICAT DE DIRECCIÓ



Hospital Universitari
Mútua Terrassa



**Fundació de
Docència i Recerca**
Mútua Terrassa

Les doctores MÒNICA RODRÍGUEZ CARBALLEIRA, metge adjunt del Servei de Medicina Interna de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa i MARIA ESTEVE COMAS, Cap de Servei d' Aparell Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa,

INFORMEN

Que la Tesi Doctoral titulada ENTEROPATIA SENSIBLE AL GLUTEN EN PACIENTS AMB MALALTIES AUTOIMMUNES SISTÈMIQUES: ASPECTES FISIOPATOLÒGICS I RELLEVÀNCIA CLÍNICA, presentada per Maria José Vives Fernández i dirigida per nosaltres, compleix les exigències metodològiques i científiques per a ser presentada al tribunal legalment constituït.

Dra. M Rodríguez Carballeira

Prof. Dra M Esteve Comas

Barcelona, Novembre 2014

CERTIFICAT DE DIRECCIÓ

CERTIFICAT DE DIRECCIÓ

El doctor VICENT FONOLLOSA PLA, Catedràtic de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, en qualitat de tutor,

INFORMA

Que la Tesi Doctoral titulada ENTEROPATIA SENSIBLE AL GLUTEN EN PACIENTS AMB MALALTIES AUTOIMMUNES SISTÈMIQUES: ASPECTES FISIOPATOLÒGICS I RELLEVÀNCIA CLÍNICA, presentada per Maria José Vives Fernández i dirigida per nosaltres, compleix les exigències metodològiques i científiques per a ser presentada al tribunal legalment constituït.

Dr V Fonollosa Pla

Barcelona, Novembre 2014

CERTIFICAT DE DIRECCIÓ