

# **Enfermedad Celiaca:**

**Utilidad diagnóstica de los marcadores serológicos. Mitos y realidades.**

***Carmen RIBES KONINCKX***

***S. Gastroenterología . Hospital Infantil LA FE  
VALENCIA***

## I. INTRODUCCIÓN.

La definición clásica de enfermedad celiaca (EC) establece que se trata de una intolerancia al gluten y más específicamente a su fracción proteica, la gliadina así como las proteínas análogas del centeno (a secalina) de la cebada (a hordeína) y de la avena (a avenina). Esta intolerancia es de carácter permanente, y la ingestión de estas proteínas produce en individuos genéticamente predispuestos una lesión intestinal característica (1).

Junto a las **formas clásicas** de presentación, en el niño entre el 1<sup>er</sup>-3<sup>er</sup> año de vida y en el adulto en la 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> década, con predominio en ambos casos de sintomatología digestiva y afectación nutricional (2,3), existen formas de menor expresividad clínica: son las formas **pauci o monosintomáticas**, también denominadas atípicas cuya

### EC SINTOMÁTICA

#### \* CLÁSICA O TÍPICA.

- EDAD PEDIÁTRICA: CLÍNICA NUTRICIONAL + DIGESTIVA
- ADULTOS: CLÍNICA DIGESTIVA (+NUTRICIONAL)

#### \* MONOSINTOMÁTICA O ATÍPICA

- |                             |                                  |
|-----------------------------|----------------------------------|
| - TALLA BAJA                | - INFERTILIDAD/ABORTOS REPETIDOS |
| - RETRASO PUBERTAD          | - MANIFESTACIONES ARTICULARES    |
| - ANEMIA REFRACTARIA al Tto | - OSTEOPOROSIS.                  |
| - HIPERTRANSAMINASEMIA      | - EPILEPSIA REFRACTARIA AL Tto   |

frecuencia en algunos países como Finlandia sobrepasan incluso en frecuencia a las formas clásicas (4,5).

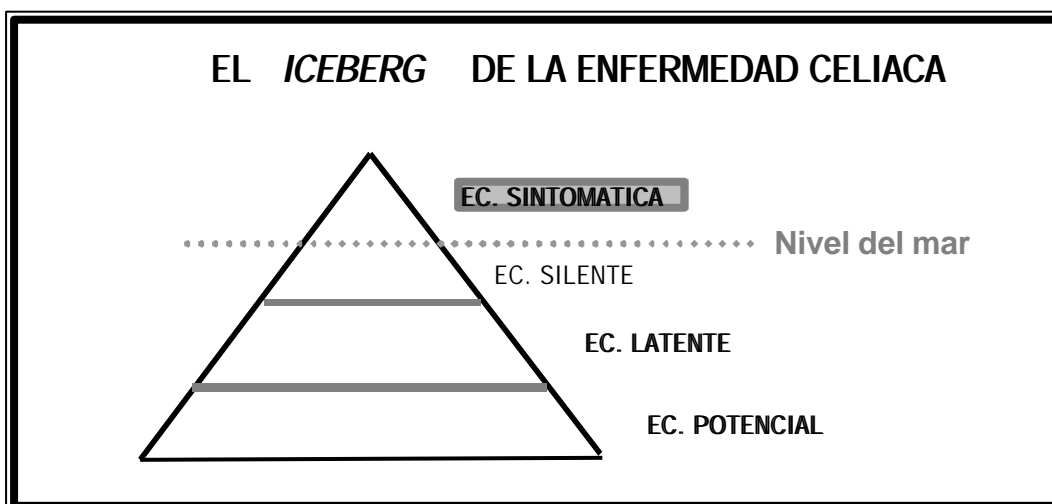
En la edad pediátrica la forma atípica más frecuente es la talla baja sin manifestaciones digestivas (6,7); También se han descrito retrasos en la pubertad, que en la edad adulta, especialmente en la mujer, tendrían su equivalente en infertilidad, o abortos de repetición, alteraciones del metabolismo calcio/ fósforo con osteopenia y osteoporosis y manifestaciones articulares (8,9). También ante anemias refractarias al tratamiento, debe pensarse en una posible EC; más rara vez una coagulopatía por déficit de vitamina K puede ser la primera manifestación de la enfermedad.

Recientemente se han descrito pacientes con hipertransaminasemia, especialmente adultos, con hallazgos histológicos inespecíficos. Según un reciente trabajo de Volta, un 10% de los pacientes con Hipertransaminasemia Cryptogenetica son enfermos celíacos (10). En la población pediátrica hasta un 50% de los pacientes presentan al diagnóstico, independientemente del cuadro clínico, una elevación moderada de las transaminasas que revierte al excluir el gluten de la dieta (observación personal).

También se ha observado en los últimos años, casos esporádicos de epilepsias refractarias al tratamiento anticonvulsivo, con presencia de calcificaciones intracraneales y respuesta clínica favorable a la exclusión del gluten de la dieta (11).

Odontólogos escandinavos fueron los primeros en detectar alteraciones del esmalte dental en pacientes celíacos no diagnosticados (no tratados) (12).

Además de estas formas clínicas sintomáticas, en los últimos 10 años la disponibilidad de marcadores inmunológicos de EC ha puesto en evidencia la existencia de **ocultas** de EC que ha dado lugar a la representación gráfica propuesta por LOGAN en 1991, o **Iceberg de la EC (Figura 1)**.



Las formas sintomáticas (tanto típicas como atípicas) serían solo la parte visible del Iceberg, y aparecen unos conceptos o definiciones nuevas como son la EC silente, EC latente y EC potencial (1).

El término de **EC silente** se aplica a aquellos casos o individuos sin manifestaciones clínicas que sin embargo presentan una lesión vellositaria característica de EC. El motivo que ha indicado la BI es

generalmente la presencia de uno o varios marcadores de EC positivos.

La evidencia de que ciertas enfermedades fundamentalmente de base autoinmune se asocian con mayor frecuencia a EC, ha motivado la utilización de marcadores serológicos como métodos de screening en estos grupos, observándose una proporción importante de casos silentes en enfermos Diabéticos Insulinodependientes (13) o en pacientes con síndrome de Down (14). Los estudios recientes de Catassi et al. (15,16) han puesto de relieve la importancia de estas formas silentes en la población general.

El término de ***Enfermedad Celiaca Latente*** se aplica en aquellos individuos que llevando una dieta con gluten presentan una biopsia intestinal normal, pero que en otro momento, anterior o posterior han presentado una atrofia subtotal de vellosidades (ASV) con las características histológicas propias de la EC (17,18,19).

La conclusión más importante es que una BI normal en un sujeto que está consumiendo gluten no excluye de forma **definitiva** el diagnóstico de EC.

Existen otros grupos de pacientes, sin atrofia vellositaria, en las que sin embargo se detecta otras alteraciones, principalmente inmunológicas, características de los pacientes celíacos, como son: un marcador (AAE) positivo, aumento de Linfocitos Intraepiteliales y especialmente de la población que expresa marcadores  $\gamma\delta$ , o un patrón de Ac anti gliadina a nivel de la mucosa de intestino delgado característico de EC (18).

Para estos pacientes se propone el término de ***Enfermedad Celiaca Potencial*** (18,21); aunque en ningún momento han presentado una lesión vellositaria característica, se especula que son individuos que potencialmente puede desarrollar una EC, probablemente inducida por factores ambientales no identificados hasta el momento actual.

## **II. MARCADORES SEROLÓGICOS DE EC.**

### ***1. Anticuerpos Antigliadina.***

Al principio de los años 60 se detectó la presencia en el suero de pacientes celíacos de anticuerpos dirigidos frente a las distintas

subfracciones de la gliadina: **Anticuerpos Antigliadina (AAG)**. Aunque inicialmente se avanzó la hipótesis de que los AAG eran directamente responsables del desarrollo de la lesión intestinal en la EC, la presencia de AAG circulantes en pacientes con patología gastrointestinal diversa y en individuos sanos, no permite atribuirles un papel patogénico primario. Tras exclusión del gluten de la dieta los AAG tienden a desaparecer, reapareciendo en relación con trasgresiones dietéticas o reintroducción controlada del gluten en la dieta (prueba de provocación).

Para la determinación de AAG se han utilizado una gran diversidad de métodos, tanto comerciales como caseros, siendo los más extendidos los métodos de enzimo inmunoanálisis (ELISA) (22-28).

Éstos presentan como ventajas fundamentales:

- La sencillez técnica.
- La posibilidad de automatización.
- Lectura objetiva de los resultados.
- Alta reproductibilidad.
- Bajo coste económico.

Es posible determinar distintas clases de AAG: Totales incluye Ac de clase G más A más M) y Ac de las tres clases por separado. Los Ac de clase IgM sueros son de escasa utilidad por su baja sensibilidad y especificidad. Los de clase IgG son sensibles, pero muy poco específicos, con un alto porcentaje (30-50 %) de falsos positivos.

Los Ac de clase **IgA** son muy sensibles ( superior al 90%) con una especificidad variable según la población a la que se aplique; puede ser superior al 85-90% en pacientes con patología digestiva (26,27,28).

## **2. Anticuerpos Antireticulina.**

Son descritos por primera vez por Seah y cols. quienes los determinan sobre riñón, estómago e hígado de roedor, mediante inmunofluorescencia indirecta.

El patrón R1, descrito por Rizzetto y Doniach, es el más específico de EC.

La sensibilidad y especificidad de los ARA es más baja que la de los otros marcadores, incluso los de clase IgA aunque autores como M. Mäkki obtiene resultados de sensibilidad y especificidad similares a los obtenidos para los antiendomiosio (AAE) (29,30).

### **3. Anticuerpos Antiendomisio.**

Son descritos en 1982 por Chorzelsky y cols. Van dirigidos contra la sustancia interfibrilar del músculo liso( endomisio) y no reaccionan contra otros órganos tales como riñón o hígado (31). Se detectan mediante inmunofluorescencia indirecta sobre la porción distal del esófago de primate ( mono verde). Son preferentemente de clase IgA.

El papel patogénico de estos anticuerpos en la enfermedad celiaca no ha sido claramente establecido, aunque Chorzelsky y cols han observado que la gliadina se fija selectivamente a las estructuras del músculo liso esofágico que reaccionan con estos anticuerpos, pero no se conoce el significado de este hallazgo.

Recientemente se han comunicado muy buenos resultados con la utilización de otros sustratos tales como el esófago humano y cordón umbilical sustratos que , además permiten un abaratamiento de la técnica (32,33).

En estos Ac tisulares la experiencia y valoración de los Anticuerpos de clase IgG está todavía por definir; los de clase IgA se relacionan más estrechamente con el daño de la mucosa, en los pacientes celíacos, que los AAG (31).

Al igual que los AAG, los AAE – IgA disminuyen hasta negativizarse al excluir el gluten de la dieta (34); sin embargo ocasionalmente puede persistir AAE positivos a títulos bajos, siendo los AAG normales, lo que especula podría ser indicativo de un proceso inflamatorio persistente a nivel del intestino delgado (27,28,35).

### **4. Anticuerpos Antiyeyuno.**

Kárpáti y cols en 1986 describen, en niños con dermatitis herpetiforme, un patrón característico de inmunofluorescencia sobre yeyuno humano fetal al, incubarlo con el suero procedente de aquellos pacientes. Estos anticuerpos fueron denominados antiyeyunales (AAJ).

Estos anticuerpos incluirían tanto, los antiendomisio como los antirreticulina, sin reacción con los AAG (36).

## **5. Otros Marcadores Serológicos.**

Otro posible marcador serológico, ha sido recientemente dado a conocer por Martinen y Maki . Se trata de un **autoantígeno polipeptídico** segregado por los fibroblastos del pulmón fetal (37) y que reacciona con la IgA del suero de pacientes celíacos. Estas moléculas inducirían la formación de diferentes anticuerpos tisulares, los ya comentados anticuerpos antirreticulina y antiendomiso. Tienen una alta sensibilidad y especificidad diagnóstica tanto en la enfermedad celíaca como en la dermatitis herpetiforme, siendo su eficacia muy similar a la de los AAE. En el momento actual no se dispone de un método de ELISA que permita su utilización rutinaria.

Recientemente se ha implicado a los anticuerpos anti transglutaminasa ( $AT_t$ ) en la patogenia de la lesión intestinal de la EC (38,39). Los estudios preliminares sobre estos anticuerpos como nuevo marcador inmunológico de EC son realmente prometedores, ya que reúne las ventajas metodológicas de las AAG (método ELISA) con la eficacia (alta sensibilidad y especificidad) de los AAE. Sin embargo, no existen datos suficientes respecto a su especificidad en pacientes con patología autoinmune, en familiares de EC en formas silentes, etc., auténtica prueba de Juego de cualquier marcador serológico de EC (40).

## **III. UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS.**

Los resultados de Sensibilidad y Especificidad para los distintos marcadores varía según los distintos estudios y autores dependiendo tanto de la metodología utilizada como de la población investigada.

### **1. Pacientes con manifestaciones digestivas:**

La sensibilidad y especificidad de los distintos marcadores en el despistaje de la EC, en niños con patología intestinal sugestiva de dicha enfermedad, es muy diversa, dependiendo fundamentalmente de la metodología aplicada para su estudio (ver Tablas). En términos generales, los AAG IgA tienen una sensibilidad superior al

80% y una especificidad que ronda el 90% dependiendo de la edad de los pacientes en estudio: la eficacia es mayor para los pacientes pediátricos, especialmente los menores de 3 años y menor para los adultos (22,23,24,25,26,27,34,41,42,43).

#### **SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS AAG EN DISTINTOS ESTUDIOS**

¡Error! Marcador no definido.AUT OR	AÑO	Nº Celiaco	Nº Controles	IgA-AAG		IgG-AAG	
				S	E	S	E
<b>Unsworth</b>	1983	66	249	100	86	---	---
<b>Savilahti</b>	1983	19(<2g) 13(>2g)	36	100 55	---	100 64	---
<b>Ribes</b>	1986	19	103	100	95	---	---
<b>Burgin Wolff</b>	1989	331	255	89	96	100	83
<b>Calabuig</b>	1990	50	138	73	84	94	42
<b>Devine</b>	1994	75*	77	92	95	71	86
<b>Chan</b>	1994	10	213	78	98	90	84
<b>Grodzinsky</b>	1995	27	70	89	83		
<b>Ribes</b>	1996	84*	73	96(<3 <sup>a</sup> ) 89 (>3 <sup>a</sup> )	88(<3 <sup>a</sup> ) 83(>3 <sup>a</sup> )	93(<3 <sup>a</sup> ) 88(>3 <sup>a</sup> )	85(<3 <sup>a</sup> ) 83(<3 <sup>a</sup> )

(\* incluye adultos) ; (a) años

En cuanto a los AAE, ostentan una especificidad mayor que los AAG-IgA, superior, generalmente, al 95%. Al haberse descrito algunos casos de falsos negativos de AAE en adolescentes y lactantes pequeños y considerando una sensibilidad del 100% para los AAG-IgA en las primeras edades de la vida y del AAG-IgA combinados en serie o en paralelo con los AAE en niños mayores (27,28,32,34,35).

#### **SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS AAE EN DISTINTOS ESTUDIOS.**

AUTOR	AÑO	Nº EC	CONTROLES	S	E	Dilución Muestras
Rossi	1998	26	90	100%	100%	1 / 2.5
Calabuig	1990	43	89	95	95	1 / 2.5
Ferrerira	1992	21	160	100	95	1 / 2.5

Chan	1994	10	213	100%	94.8	1/10
Grodzinsky	1995	27	70	78%	98.6%	1/10

El déficit del IgA es la principal causa de falsos negativos tanto para los AAG como para los AAE, pudiendo en estos casos recurrir a la determinación de AAG-IgG, cuyo inconveniente es su escasa especificidad.

Respecto a los Anticuerpos Antitransglutaminasa (ATGt), la mayoría de estudios ofrecen una sensibilidad superior al 90% y una especificidad igualmente superior al 90%, pero inferior a la de lo AAE. En un estudio reciente retrospectivo realizado en una población pediátrica que incluye pacientes diabéticos, encontramos (40):

	<b>AAG</b>	<b>ATG-t</b>	<b>AAE</b>
<b>Sensibilidad</b>	94%	94%	97%
<b>Especificidad</b>	77%	90%	100%

## ***2. Pacientes con formas Monosintomáticas o Atípicas.***

La forma atípica de EC más frecuente en la infancia es la talla baja, generalmente no acompañada de manifestaciones digestivas. En estos pacientes la especificidad de los AAG-IgA es inferior a la observada en la forma clásica.

Así Bonamico (6) en un estudio que incluye 27 niños con talla baja, encuentra una sensibilidad del 72.2% y una especificidad del 88.9% y para los AAG-IgG respectivamente 88.2% y 77.8%. En nuestro estudio (7) que abarcaba una población de 115 niños los AAG IgA mostraban un sensibilidad del 95.2% y especificidad del 93.2%, superior a la encontrada para los AAE en un subgrupo de 65 pacientes del mismo estudio: sensibilidad 89.6% y especificidad 90.4%. Rossi en el mismo año publica una especificidad para los AAE del 100% en una población similar, aunque no puede establecerse la sensibilidad al no realizar biopsia intestinal a todos los pacientes (44).

## ***3. Pacientes con enfermedades asociadas a la EC.***

En los niños afectados de Síndrome de Down se ha encontrado una prevalencia de EC entre el 2.5-6%, muy superior al de la población general. El número de estudios de screening es escaso, mereciendo destacar el de Zubillaga et al. (14); encuentra 3 pacientes celíacos en una población de 70 niños. La sensibilidad diagnóstica fue del 100% para los AAG-IgA y del 66% para los AAE; la especificidad fue del 90 y del 100% respectivamente (14).

Los pacientes Diabetes Mellitus tipo I. Presentan mayor riesgo de padecer EC que la población general, como han demostrado recientes estudios de screening: la prevalencia oscila entre el 2.5-5%. En estos pacientes los AAG-IgA tienen una alta sensibilidad diagnóstica, pero una baja especificidad, especialmente al inicio de la enfermedad diabética y en relación con la disfunción inmunológica que presentan estos pacientes (13,45,46).

Los AAE tienen una larga especificidad aunque pueden obtenerse resultados falsos positivos igualmente en las fases de debut de la diabetes (47).

Hay que tener en cuenta que la EC puede debutar a cualquier edad de la vida y en cualquier momento evolutivo de la diabetes; por ello una única determinación negativa de 1 o varios marcadores, no excluye definitivamente el riesgo de EC. Por otra parte se han comentado casos de EC latente con AAG y AAR positivos y una primera biopsia intestinal normal (48,49). Por ello recomendamos incluir la determinación de marcadores serológicos de EC en el control clínico / analítico rutinario de los pacientes con DM tipo I (13).

#### ***4.- Familiares en primer grado de pacientes con EC.***

La prevalencia de EC en los familiares en primer grado de los pacientes celíacos oscila, según las series entre un 5%-13%, siendo la prevalencia mayor en los gemelos univitelinos y en los familiares que comparten los alelos de riesgo (sistema HLA).

La prevalencia de uno o varios marcadores serológicos (AAG, AAR o AAE) positivos en este grupo no siempre se relaciona con la existencia de una enteropatía, pero sí con la posibilidad de formas latentes y potenciales (30,50,51,52).

AUTOR	AÑO	MARCADOR	% POSIT.	PREVALENCIA EC
Stern	1980	AAG-IgA	16%	
Ribes	1991	AAG-IgA	12.5%	1.9%
Maki	1991	AAG-IgA AAE-IgA	15% 12%	
Calabuig	1992	AAE-IgA	4.4%	2.9%
Vitoria	1994	AAG-IgA AAE-IgA	16% 2.8%	2.8% 2.8%

### **5. Población general.**

El pionero de estudios de screening en población “sana” pediátrica fue Catassi, motivado por las aparentes diferencias de prevalencia encontradas en distintas áreas de Italia (15,16). El primer trabajo fue publicado en Lancet en 1994 y posteriormente amplió la población hasta incluir a 17000 estudiantes. Utilizando la determinación de marcadores serológicos encontró una prevalencia de EC muy superior a la conocida: 1/184; esto suponía 7 casos nuevos por cada caso conocido en esa población. No se observó variaciones geográficas entre las distintas áreas del Norte y Sur de Italia; una valoración clínica detallada de los pacientes celíacos reveló que el 30% presentaban anemia ferropénica, aproximadamente 15% estomatitis aftosa recurrente, el 16% diarrea recurrente y aproximadamente un 10% talla corta (15,16).

Si bien las complicaciones, neoplásicas y no neoplásicas, asociadas a la EC no diagnosticada / no tratada, hacen recomendable el diagnóstico y tratamiento precoz de la enfermedad, de los estudios de Catassi destaca que un número inquietante de casos “silentes”, presentaban manifestaciones subclínicas o biológicas que podrían haber conducido a la sospecha diagnóstica. Por otra parte, la EC puede debutar a cualquier edad de la vida, lo que dificulta el adoptar una estrategia de despistaje sistemático en la población general.

## **IV. MARCADORES SEROLOGICOS EN LA MONITORIZACIÓN DIETETICA.**

### ***1. Periodo de dieta exenta de gluten.***

Tras el cese del consumo de gluten, se pone en marcha un proceso regenerativo de la mucosa intestinal que termina en la restitución de la arquitectura mucosa, en un tiempo variable de un paciente a otro. Paralelo a este proceso transcurre una normalización de la respuesta inmunológica.

Se ha comprobado que los AAG- IgG permanecen elevados en suero durante los 9-12 meses siguientes a la exclusión del gluten de la dieta (23,24).

En cuanto a los AAG IgA tras 3-6 meses de dieta exenta de gluten, la media es similar a la media en un grupo control (no celíacos). La velocidad de desaparición de estos anticuerpos es variable, no dependiendo del nivel de respuesta inicial ni de la edad del paciente (23,24,34). En algunos casos se han objetivado niveles normales tras un mes de DEG. Sin embargo esta situación es excepcional, habiéndose comprobado en un grupo de 70 pacientes, que el 40% normalizaron los AAG IgA antes de tres meses de DEG y el 70% antes de los seis meses. (Ribes 1986. Datos no publicados).

Las transgresiones dietéticas se asocian a una nueva elevación de los niveles de AAG IgA y el no cumplimiento sistemático de la misma, a unos niveles permanentemente elevados.

Los AAE tardan más tiempo en normalizarse que los AAG IgA probablemente porque su elevación está en relación con la lesión de la mucosa intestinal: en la mayoría de casos se normaliza a los 6-12 meses del tratamiento dietético. Excepcionalmente pueden encontrarse títulos positivos tras doce meses de cumplimiento dietético (27,34).

### ***2. Periodo de provocación.***

El aumento de AAG IgA durante el periodo de provocación puede detectarse muy precozmente, incluso a los 15 días de introducción del gluten en la dieta, independientemente de la presencia o no de manifestaciones clínicas. En la mayoría de los casos su elevación precede a la recaída histológica de la mucosa (23). En el estudio antes referido, un 40% de los niños en periodo de provocación presentaban anticuerpos positivos antes de transcurridos tres meses (54).

En adolescentes que realizan transgresiones tras un periodo prolongado de dieta exenta de gluten, la normalidad de los AAG no excluye el diagnóstico de enfermedad celiaca permanente. Tampoco los AAE parecen ser de ayuda en este grupo de pacientes. Troncone y cols, encuentran pacientes con diferentes grados de lesión histológica y títulos negativos de AAE, aunque en la mayoría de los casos referidos, la ingesta de gluten era baja (55).

En la infancia, durante el periodo de provocación, los AAE se positivizan más tardíamente que los AAG, por lo que no son de utilidad para monitorizar el adecuado cumplimiento de la dieta. En un 50-60% de los casos, se positivizan tras un periodo de tres a seis meses de provocación con gluten. Ocasionalmente su presencia puede preceder a la recaída histológica (34,35).

## **V. COMENTARIOS FINALES.**

Aunque de indudable rentabilidad clínica, expresada por su alta sensibilidad y especificidad, los marcadores tisulares adolecen de algunos inconvenientes que los hacen menos adecuados para el primer escalón de la investigación de pacientes con sospecha de enfermedad celiaca:

- Resultan más caros y laboriosos, no están al alcance de todos los laboratorios y por ello no son adecuados para el despistaje de la enfermedad en grupos **amplios** de población con **bajo riesgo** de EC.
- Son de aparición más tardía que los AAG, lo que se traduce en una menor sensibilidad diagnóstica en los pacientes de edad inferior a los 3 años; tampoco son un marcador adecuado para monitorizar el correcto cumplimiento de la dieta sin gluten.

La determinación de AAG por métodos de ELISA presentan unas ventajas no evaluadas en los análisis estadísticos, pero de indudable interés práctico como son simplicidad técnica, bajo coste, objetividad, etc. Al tratarse de una determinación semicuantitativa permiten valorar la evolución del nivel (magnitud) de respuesta como por lo que son de gran utilidad para monitorizar el seguimiento del tratamiento dietético así como la respuesta a las pruebas de provocación.

La sistematización a adoptar dependerá fundamentalmente de los medios disponibles y de la población a estudio. La edad, la prevalencia de la enfermedad en cada grupo, y la posibilidad de formas latentes o potenciales serán factores condicionantes de la estrategia de despistaje más adecuada.

Por otra parte parece razonable utilizar aquel marcador que haya demostrado, en un entorno determinado, ser de mayor rentabilidad clínica sin detrimento de que pueda ser apoyado por otro y otros marcadores, en función de su disponibilidad y experiencia.

## **BIBLIOGRAFIA.**

- 1- 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; 102:330-354.
- 2.- R. Troncone, L Greco & S. Auricchio. Gluten sensitive enteropathy. *Ped. Clin. N.A.* 1996; Vol 43(2): 355-374.
- 3- Greco L, Mäki M, DiDonato F, Visakorpi JK. Epidemiology of coeliac disease in Europe and the Mediterranean area. In: Common food Intolerances 12: Epidemiology of coeliac disease. S Auricchio, JK Visakorpi eds. Karger Basel, 1992;;213-8
- 4- Mäki M. Kallonen K, Lähdeaho ML, Visakorpi JK. Changing pattern of childhood coeliac disease in Finland. *Acta Paediatr Scand* 1988;77:408-12.
- 5- Corazza GR, Frisoni M, Treggiari EA, et al. Subclinical celiac sprue. Increasing occurrence and clues to its diagnosis. *J Clin Gastroenterol* 1993;16:16-21.
- 6- Bonamico M, Sciré G, Mariani P, Pasquino AM, Triglione P, Scaccia s, et al. Short stature as the primary manifestation of monosymptomatic coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;14:12-6.
- 7- A de Lecea, C. Ribes-Koninckx, I. Polaco and J. Ferrer Calvete. Serological screening (antigliadin and antiendomysium antibodies) for non-overt coeliac disease in children of short stature. *Acta Paediatr. Suppl.* 1996; 412:54-5.
- 8- Ferguson R, Holmes GKT, Cooke WT. Coeliac disease, fertility and pregnancy. *Scand J Gastroenterol* 1982;17:65-8.
- 9- Walters JRF, Banks LM, Butcher GP, Fowler CR. Detection of low bone mineral density by dual energy X-ray absorptiometry in unsuspected suboptimally treated coeliac disease. *Gut* 1995;37:220-4.
- 10- U. Volta, L. De Franceschi, F. Lari, N. Molinaro, A. Granito, F.B Bianchi. Antibody screening for coeliac disease in patients with cryptogenic hypertransaminasemia. *Gut* 1997; 41 (Suppl 3) A71-2.
- 11- Ventura A, Bouquet F, Santorelli C, Barbie E, Torre G, Tommasini G. Coeliac disease, folic acid deficiency and epilepsy with cerebral calcifications. *Acta Paediatr Scand*, 1991; 80:559-62.
- 12- Mäki M, Aine L, Lipsanen V, Koskimies S. Dental enamel defects in first-degree relatives of coeliac disease patients. *Lancet*, 1991; y:763-4.
- 13- P. Calero, C. Ribes-Koninckx, V. Albiach, C. Carles, and J. Ferrer. IgA Antigliadin Antibodies as a Screening Method for Nonovert Celiac Disease in Children with insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J Paediatr. Gastroenterol Nutr.* 1996; 23:29-33.
- 14.- Zubillaga P., Vitoria JC, Arrieta A., Echaniz P., and Garcia-Masdevall MD. Down's Syndrome and Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol & Nutr* 1993; 16:186-171
- 15-Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, Coppa GV, Giorgi PL. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet*, 1994;343:200.
- 16- C. Catassi et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996;412:29-35.

- 17- Mäki M, Holm K, Collin P and Savilahti E (1991 a): Increase in  $\gamma\delta$  T cell receptor bearing lymphocytes in normal small bowel mucosa in latent coeliac disease. *Gut* 21:1412-1414.
- 18.- Ferguson A, Arranz E, O'Magibú S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease-active, silent, latent, potential. *Gut* 1993;34:150-151.
- 19.- A. Ausina, C. Ribes-Koninckx, M. Hernandez, J. Rivas, J. Ferrer. Enfermedad Celiaca Latente. Una realidad clínica. *An Esp Pediatr*, 1994;40(6):449-52.
- 20.- Arranz E, Bode J, Kingstone K, Ferguson A. Intestinal antibody pattern of celiac disease: association with gamma/delta T cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes, and other indices of potential coeliac disease. *J. Pediatr* 1984;105:901-5.
- 21- C. Ribes-Koninckx, E. George, Ph. M.L. Mearin. Jejunal Intra-Epithelial T-Cell Receptor  $\gamma\delta$  (IEL-TCR  $\gamma\delta$ ) in diabetes mellitus (DM) type Y. *International Coeliac Symposium, Dublin 1992, Austrachs book*, pag 41.
- 22- Troncone R, Ferguson A. Anti-gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:150-8.
- 23-C. Ribes-Koninckx, J.P. Giliams, I. Polanco, & A.S. Peña. IgA Antigliadin Antibodies in Celiac and Inflammatory Bowel Disease. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.* 1984;3:676-682.
- 24- Ribes- Koninckx C, Pereda Pérez RA, Ferrer Calvete J, Peña AS. The value of the measurement of IgA gliadin antibodies in a pediatric clinic in Spain. A prospective study. *J Clin Nutr Gastroenterol* 1986; 1:26-9.
- 25- R. Fuster Martin. Utilidad de la determinación de los Anticuerpos Antigliadina en el despistaje y segmento de la enfermedad celiaca en los Adultos. Tesis Doctoral. Valencia 1992. Directores C. Ribes- Koninckx y J. Berenguer.
- 26- C. Ribes Koninckx, M. Fotoulaki, L. Blesa, P. Augoustidou-Savopoulou, M. Hernández, F. Kanakoudi - Tsakalides, A. Pereda, T. Zaramboukas, J. Ferrer, S. Nousia-Arvanitakis. Coeliac disease diagnosis: Similar high sensitivity for IgA-AGA using a home-made ELISA method in 2 European Pediatric Gastroenterology Units (PGU'S). *Gut* 1997; 41 (Suppl 3).
- 27- Bürgin-Wolf A, Gaze H, Hadziselimovic f, Huber H, Lenteze MJ, Nüssle D, et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991;66:941-47.
- 28- Grodzinsky E., Jansson G., Skogh T., Stenhammar L. and Fälth-Magnusson K. Anti-endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for coeliac disease in childhood: a clinical study to develop a practical routine. *Acta Paediatr* 1995; 84: 294-298.
- 29-Mäki M, Hällström O, Vesikari T and Visakorpi JK: Evolution of serum IgA-class reticulín antibody test for detection of childhood celiac disease. *J Pediatr* 1984;105:901-5.
- 30- Maki M, Holm K, Koskimies S, Hallstrom O, Visakorpi JK. Normal small bowel biopsy followed by coeliac disease. *Arch Dis Child*, 1990;287-92.
- 31- Chorzelski TP, Beutner AE, Sulej J. IgA antiendomysium antibody: a new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol*, 1984; 111:395-402.
- 32- Kaija-Leena Kolho and Erkki Savilahti. IgA Endomysium Antibodies on Human Umbilical Cord: An Excellent Diagnostic Tool for Celiac Disease in Childhood. *Paediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1997; 24:563-567.
- 33- S. Llanes, P. Calero, M. Hernandez, C. Ribes- Koninckx. Anticuerpos antiendomysio sobre cordón umbilical (AAE-CUH) como test serológico con firmatorio en el diagnóstico de enfermedad celiaca. *An Esp. Ped.* 1997, supl 95:61.

- 34-** Calabuig M, Torregrosa R, Polo P. Serological markers and celiac disease: a new diagnostic approach? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;10:435-442.
- 35-** Chan KN, Phillips AD, Mirakian R. and Walker-Smith JA. Endomysial Antibody Screening in Children. *J Pediatr* 1994; 18; 316-320.
- 36.-**Karpati S, Bürgin-Wolff A, Krieg T et al. Binding to human jejumin of serum IgA antibody form children with coeliac disease. *Lancet* 1996;336:1335-8.
- 37-** Martinen A, Maki M. Purification of fibroblast-derived celiac disease autoantigen molecules. *Pediatr Res* 1993; 34:420-423.
- 38.-** W Dieterich, E Laag, H Schöpfer, U Volta, A Ferguson, H Gillet, EO Riecken, D Schuppan. Autoantibodies to Tissue Transglutaminase as Predictors of Celiac Disease. *Gastroenterol* 1998;115:1317-1321.
- 39.-** S Sulkanene, T Halttunen, K Laurila, KL Kolho, IR Korponay, A Sarnesto, E Savilahti, Pekka Collin, M Mäki. Tissue Transglutaminase Autoantibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in Detecting Celiac Disease. *Gastroenterol* 1998;115:1322-1328.
- 40.-** C. Ribes- Koninckx, S.Llanes, V. Calero et al. Es la transglutaminasa la solución definitiva?. VIº Congreso de la S. Española de Gastroenterología y Hepatología y Nutrición Pediátrica. 1999. Libre de Resúmenes pag 55.
- 41.-** DJ Unsworth, JA Walker-Smith, EJ Holborow. Gliadin and reticulín antibodies in childhood celiac disease. *Lancet* 1983;1:174-75.
- 42.-** E Savilahti, M Viander, M Perkkio, E Vainio, K Kalimo, T Reunala. IgA anti-gliadin antibodies: a marker of mucosal damage in childhood coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1984;73:657-663.
- 43.-** C Ribes- Koninckx, MD Gurrea, I Genoves R Fuster, A Pereda, J Ferrer, . Evaluación de un nuevo método cuantitativo (Pharmacia Cap System Gliadin IgA-IgG FEIA) para la determinación sérica de los AAG. *An Esp. Ped.* 1996; Supl 76: 55-56.
- 44-** Rossi TM, Abini IH, Kumar V. Incidence of celiac disease identified by the presence of serum endomysial antibodies in children with chronic diarrhoea, short stature or insulin dependent diabetes mellitus. *J Pediatr* 1993; 123: 262-264.
- 45.-**S Koletzko, A Bürgin Wolff, B Koltzko. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentric study. *Euro J Pediatr* 1988;148:113-117.
- 46.-** N Sigurs, C Johansson, PO Elfstrand, M Viander, A Lanner. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. *Acta Paediatr* 1993;82:748-751.
- 47.-** C. Ribes, S. Llanes, P. Calero: High efficiency of EmA for coeliac disease screening in children with IDDM. "In Changing features of celiac disease". De by S. Lohiniem, P. Collin & M. Mäki. 1998; 120.
- 48-**Catassi C, Natalini G, Räscht Im, Gabrielli O, Coppa GY, Giorgi PL. Documented latent coeliac disease in a child with insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Ped* 1991; 150: 832-834.
- 49-** Maki M, Huupponen T Holm K, Hallstrom O. Seroconversion of reticulín antibodies predicts coeliac disease in Insulin dependent diabetes Mellitus . *Gut* 1995; 36:239-242.
- 50-** C. Ribes- Koninckx, AS Peña, A Pereda, J Ferrer. IgA gliadin antibodies, a useful screening test for coeliac disease in family members of children with coeliac disease. *J. Clin. Nutr & Gastroenterol* 1991;6:196-200.
- 51-** Victoria JC, Arrieta A, Astigarraga Y, Garcia-Masdevall D, Rodriguez-soriano J. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1994; 19:304.
- 52-** Maki M, Holm K, Lipsanen V, Hallstrom O, Viander M, Collin P, Savilahti E, Koskimies S. Serological markers and HLA genes among healthy first-degree relatives of patients with coeliac disease. *Lancet* 1991; 338:1350-1353.

- 53.-** M Stern, SW Bender, R Grüttner et al. Serum antibodies against gliadin and reticulin in a family study of coeliac disease. *Eur J Pediatr* 1980;135:31-36.
- 53-** Janatuinen EK, Pikkarainen PH, Kemppainen TA, Kosma V-M, Järvinen RMK, Uusitupa MIJ, Julkunen RJK. A comparison of diets with and without oats in adults with coeliac disease. *New Engl J Med*, 1995;333:1033-1037.
- 54-** Ribes- Koninckx C., A Ausina, C. Montero et al. Specific IgA-gliadin antibody as a marker of relapse in coeliac children on gluten challenge In: *Coeliac Disease 40 years gluten free diet*. Edited by ML Mearin & CJJ Mulder, 1991, pag 206.
- 55-** Troncone R, Mayer M, Spagnuolo F, Maiuri L, Greco L. Endomysial antibodies asunreliable markers for slight transgresions in adolescents with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:69-72.
- 56-** GKT Holmes. Non-malignant complications of coeliac disease. *Acta Paediatr Suppl*, 1996;412:68-75.