

DISCUSIÓN

En los últimos años los resultados de diversos estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado que la EC, cuando se busca de forma activa, tiene una incidencia mucho más alta de la pronosticada. Por otro lado, se conoce que si la enfermedad no es diagnosticada y tratada a tiempo puede provocar el desarrollo de otras enfermedades, dentro de ellas el linfoma intestinal y otros tipos de cáncer.⁶⁴⁻⁶⁵ Todo esto conduce a la necesidad de realizar un diagnóstico certero y precoz de la EC.

Lo que resulta aún más importante es que a diferencia de otras enfermedades de naturaleza autoinmune, que por lo general son de pronóstico reservado y requieren de terapias complejas (no exentas de efectos secundarios, y no siempre suficientemente efectivas), el tratamiento de la EC, una vez diagnosticada, es muy sencillo, y consiste en la eliminación del gluten de la dieta de estos pacientes (lo que también se conoce como una “dieta libre de gluten”). Aunque la DLG implica algunas limitaciones conductuales, además de una modificación del estilo de vida del enfermo, nada de esto es comparable con las restricciones que caracterizan a otras enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado, además, que si el paciente celíaco cumple con una dieta estricta, puede desarrollar una vida normal, con un riesgo no mayor que el de la población general a padecer las enfermedades antes mencionadas.⁶⁴⁻⁶⁵

Otro aspecto importante a destacar es que en los últimos años se ha podido demostrar que, además de las formas típicas de la EC, que se presentan con los síntomas característicos que se han descrito en las secciones precedentes; existen otras formas atípicas con síntomas clínicos extraintestinales, o incluso casos monosintomáticos.¹⁸⁴ Es posible que estas formas de presentación de la enfermedad sean tan (o más) frecuentes que la EC clásica, lo que introduce un nuevo reto para el diagnóstico de esta afección. Por otro lado, se conoce en la actualidad que ya no puede considerarse a la EC como una enfermedad estrictamente pediátrica, pues tiene una elevada incidencia en la población adulta, incluso de la tercera edad.⁸ Todo lo anterior reafirma la primera idea expresada en esta Discusión: la importancia de un diagnóstico certero y precoz de la EC.

Como se mencionó antes, la biopsia de yeyuno sigue siendo en la actualidad el estándar de oro para el diagnóstico de la EC.¹⁵ Sin embargo, si se tienen en cuenta puntos de vista diversos (e incluso contrapuestos), la biopsia de yeyuno no debe constituir la primera opción para el diagnóstico de la EC, sobre todo si se trata de conducir pesquisa activa de la enfermedad, bien sea en grupos de riesgo o la población general, a los fines de estudiar la incidencia de esta afección en una determinada región geográfica, o incluso un país. Esta afirmación está soportado por cuestiones de orden ético y económico.

Vista éticamente, la biopsia de yeyuno es un método invasivo y cruento, causante de molestias para el paciente, en particular si son niños. Desde el punto de vista económico, la biopsia de yeyuno resulta costosa, pues las cápsulas que se emplean como parte del proceder pueden costar cerca de \$500.00 USD cada una, y tienen vida limitada. Además, dada la complejidad del proceder y la disponibilidad de cápsulas, la realización de un número especificado de biopsias yeyunales en un día ordinario de trabajo está limitada. Habría que sumar a todo esto que, por lo general, los pacientes requieren ser ingresados para la conducción del proceder, y que la correcta interpretación del aspecto de la mucosa yeyunal en la biopsia requiere

de un patólogo experimentado, ya que otras enfermedades gastrointestinales pueden provocar alteraciones de la mucosa intestinal muy parecidas a las que ocasiona la EC.¹⁸⁴

Son éstas las razones fundamentales que han incentivado el desarrollo de pruebas serológicas para el diagnóstico de la EC, y que han servido como un complemento importante del examen de la mucosa yeyunal mediante la biopsia, a la vez que han permitido, al menos, disminuir el número de biopsias intestinales que deben realizarse para la confirmación de la enfermedad. Los diagnósticos serológicos resultan, además, una herramienta fundamental para el seguimiento de los pacientes sujetos a un régimen de DLG, ya que permiten detectar inmediatamente las transgresiones hechas. Igualmente, los estudios serológicos hacen posible la realización de los estudios de reto (léase provocación) con gluten, y con ello, sirven para identificar el mejor momento para la realización de la biopsia intestinal confirmatoria.

Dentro de las pruebas serológicas, la detección de los anticuerpos anti-endomisio (AAE) ha resultado la de mayor utilidad para el diagnóstico de la EC por su sensibilidad y especificidad diagnósticas. En fechas posteriores la detección de los anticuerpos antitransglutaminasa (AATGt) también ha recibido mucha atención.^{16,184} Los AAE se detectan mediante inmunofluorescencia indirecta. Estos sistemas no son automatizables, requieren tiempo para su realización (que puede extenderse hasta horas), y, además, requieren de personal altamente calificado, y equipamiento costoso.^{16,23} Por su parte, los AATGt se detectan fundamentalmente por técnicas de tipo ELISA, que, aunque son automatizables, también requieren de equipamiento de laboratorio y personal calificado, y consumen tiempo para su realización.^{16,23}

Para que se pueda recomendar la pesquisa poblacional de una enfermedad se deben cumplir tres premisas: (i) que exista un ensayo de diagnóstico sensible y de bajo costo, con mínima agresión al paciente; (ii) que se disponga de un tratamiento efectivo de la enfermedad; y (iii) que el desarrollo de la enfermedad sea más perjudicial para el paciente o la sociedad que la adhesión al tratamiento.⁶⁵ En el caso de la EC, estas premisas solo se cumplen parcialmente. Los sistemas serológicos de diagnóstico, aun cuando existen, presentan limitaciones que les impiden sustituir a la biopsia intestinal. El tratamiento de la EC también es posible (y simple), si bien son necesarios estudios adicionales para valorar qué niveles de gluten pueden tolerar los enfermos.

Respecto de la tercera premisa, se puede decir: que (i) existe en el enfermo celíaco un riesgo mayor de desarrollar linfomas (u otros tumores del tracto intestinal) cuando se le compara con el resto de la población; (ii) dicho riesgo es tanto mayor cuanto más tarde se diagnostica la enfermedad; y (iii) la DLG disminuye este riesgo hasta límites normales. Por lo tanto, se justifica la búsqueda activa de casos de EC dentro de grupos conocidos por el riesgo elevado de presencia de esta afección.⁶⁵ Además, a pesar de que no existen suficientes trabajos que documenten de qué cuantía es dicho riesgo en enfermos con una EC latente, se ha documentado que en los familiares de primer grado de enfermos celíacos la muerte causada por algún tipo de cáncer estaba aumentada en 10 veces respecto sujetos no celíacos apareados por el sexo y la edad; el 20% de estos familiares fue diagnosticado como enfermos celíacos; y aproximadamente el 50% de ellos habían sido enfermos con una EC latente.¹⁸⁵⁻¹⁸⁶

Hasta ahora se desconoce el comportamiento real de la EC en Cuba, entre otras razones, por la no disponibilidad de los sistemas de diagnóstico serológico, cuyo precio en el mercado internacional sigue siendo elevado. Fue por todo lo anterior que se decidió trabajar en el desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico serológico de la enfermedad, de modo que las limitaciones para el pesquijaje de la EC en Cuba dejen de ser técnicas, y se deban únicamente al cuestionamiento de la tercera premisa: *Que el desarrollo de la enfermedad sea más perjudicial para el paciente o la sociedad que la adhesión al tratamiento.*

Con todos estos antecedentes, y aprovechando la experiencia acumulada por el grupo de desarrollo de sistemas inmunocromatográficos donde se insertó el autor;¹⁸⁷ se emprendió la tarea de desarrollar, y llevar a escala productiva, un sistema inmunocromatográfico para la determinación de anticuerpos antitransglutaminasa (AATGt) en muestras de sangre, suero o plasma.

Para el desarrollo del sistema inmunocromatográfico se establecieron primeramente el valor de pH y la concentración de TGt requeridos para la conjugación de la proteína al oro coloidal. A partir de estos resultados, y para la producción de cantidades mayores del conjugado de TGt-oro coloidal, se establecieron un valor de pH de 7.5 y una concentración de TGt de 10 µg/mL de coloide. El valor de 7.5 de pH se escogió porque está incluido dentro del rango de pH óptimo para la conjugación, y cercano al punto isoeléctrico de la TGt; lo cual es recomendado por algunos autores que sugieren que, en la mayoría de las situaciones, una proteína se adsorbe máximamente sobre la superficie de la partícula de oro cuando se encuentra en el punto isoeléctrico de la molécula, o 0.5 unidades de pH por encima de dicho punto.^{171,188} Se escogió la concentración de 10 µg/mL de coloide a partir de la experiencia mostrada en otros sistemas inmunocromatográficos desarrollados por el grupo de inserción del autor, donde se ha observado que la concentración de la proteína a conjugar en un orden superior a la cantidad mínima protectora brinda un margen de seguridad en la protección total del coloide.³⁰

En la formulación final de la producción del conjugado de TGt-oro coloidal se introdujeron compuestos (tampón C de dilución del conjugado) para aumentar la estabilidad del mismo y prevenir la contaminación. En estas condiciones, se ha descrito que los conjugados con oro coloidal son estables durante años a 4°C.^{30,190}

Es importante señalar que la construcción del conjugado del sistema con la propia TGt abre la posibilidad que el ensayo inmunocromatográfico propuesto sea capaz de detectar indistintamente cualquier clase de anticuerpos contra la TGt, lo que resulta una ventaja en el caso de la EC, donde pueden aparecer fundamentalmente anticuerpos de clase IgA e IgG. Los sistemas tipo ELISA que existen por el momento en el mercado permiten solo la detección por separado de los AATGt de clase IgA o clase IgG, pero no los 2 a la vez. Esto, evidentemente, representa una desventaja, ya que es conocido que hasta el 10% de los pacientes celíacos desarrollan un déficit selectivo de IgA, e incluso los pacientes que resulten ELISA-negativos con niveles séricos normales de IgA pueden tener anticuerpos de la clase IgG.¹²⁹ Para resolver esta situación habría que realizar 2 ensayos independientes, el primero para la detección de los anticuerpos tipo IgA, y un segundo para los de tipo IgG; con el consiguiente consumo de recursos y tiempo.

Resulta fundamental, una vez que se tiene el prototipo de un sistema inmunodiagnóstico, evaluar la estabilidad del mismo, a fin de conocer cuál (cuáles) de sus componentes resulta(n) más vulnerable(s), al menos, en lo que toca al tiempo de viabilidad, permitiendo así encontrar las condiciones que resulten en una estabilidad mejorada, o simplemente sustituir dicho(s) componente(s) en la medida de lo posible. Sin embargo, el conocimiento de la estabilidad del sistema inmunocromatográfico a tiempo real, independientemente que es un requisito imprescindible e indispensable para el asentamiento del diagnosticador en el Registro Sanitario ante el CECMED Centro Estatal de Control de los Medicamentos y los Diagnosticadores del MINSAP Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba (y que es la entidad reguladora creada para este fin), consume mucho tiempo, por cuanto este tipo de diagnosticadores debe ser estable por largos períodos, esto es: un año (o más). Una forma de solucionar este problema es someter el sistema y/o sus componentes a un estrés térmico, como por ejemplo, a temperaturas

de 60°C, lo que simula el envejecimiento a tiempo real de los componentes.^{178,189-190} Estos estudios, si bien son solo una aproximación a lo que se observe después en la realidad del trabajo cotidiano, suelen brindar una información importante en poco tiempo, sobre todo acerca de los componentes que resulten más inestables, y de esta manera no hay que esperar por un largo período hasta la obtención de información que justifique el cambio de formulación o componente.

Los estudios de estabilidad del sistema inmunocromatográfico a temperaturas de 60°C revelaron que la TGt del recubrimiento fue el componente más inestable del mismo. La TGt: una proteína de alto peso molecular (~ 85 kDa) puede sufrir con el tiempo cambios conformacionales que afectan su estructura y, por ende, los epitopos que son reconocidos por los anticuerpos. Estos cambios pueden estar dados por la deshidratación a la que es sometida la TGt una vez que se deposita sobre la nitrocelulosa.^{30,189} Para prevenir estos cambios se utilizan estabilizantes, como el agente protector incluido en el sistema desarrollado. Algunos autores plantean que cuando una proteína es deshidratada en presencia de estos agentes, las moléculas de agua unidas en la estructura proteica por puentes de hidrógeno son evaporadas, y los sitios que éstas ocupaban son reemplazados por el agente protector que mantiene la conformación estructural intacta.¹⁸⁹⁻¹⁹⁰ El uso de este agente protector en la formulación del tampón de recubrimiento garantizó la estabilidad de la TGt, como mínimo, 15 meses a temperatura ambiente.

Después de seleccionadas las condiciones del desarrollo del sistema, y completado el estudio de estabilidad acelerada, las tiras producidas se evaluaron contra un panel caracterizado de muestras de pacientes celíacos y no celíacos. El diagnóstico de la EC en estos pacientes se hizo según los criterios de la ESPGAN.¹⁴ La sensibilidad y la especificidad diagnósticas del sistema inmunocromatográfico fueron del 100%, y se observó una completa concordancia del resultado serológico con el aspecto de la mucosa yeyunal después de biopsia: el estándar de oro para el diagnóstico de la EC.

Se debe señalar que el sistema ELISA comercial *Celikey IgA* (Celikey Pharmacia & Upjohn, Freiburg, Alemania) falló en detectar la presencia de AATGt en tres pacientes celíacos, y por ello, la sensibilidad fue del 94.0% (IC 95%: 88.2 – 98.4%), menor que la propia del sistema inmunocromatográfico. Asimismo, el método de inmunofluorescencia indirecta para la detección de los AAE (BioSystem, Barcelona, España) falló en detectar dos de los pacientes (sensibilidad: 96.0%; IC 95%: 89.1 – 99.0%). Estos resultados pueden explicarse por la alta incidencia de deficiencia selectiva de IgA en los individuos celíacos. De ahí la desventaja de estos sistemas inmunoenzimáticos, que solo detectan anticuerpos de clase IgA, y que no se pueden utilizar para la identificación de los individuos con EC que se presenten con deficiencia selectiva de IgA. Por lo tanto, para tales casos son necesarias estrategias alternativas como la determinación de la clase IgG de los AATGt. En este sentido varios autores han sugerido que la deficiencia selectiva de IgA ocurre en individuos sanos con una frecuencia de 1:163 – 1:965 individuos, según el estudio consultado.¹⁹¹⁻¹⁹³ También se ha planteado que la deficiencia selectiva de IgA es mucho más común en los individuos con EC, en los que la frecuencia de presentación es de (aproximadamente) 1:50 personas.^{41,49,194}

Una vez desarrollado el sistema inmunocromatográfico, y caracterizado el rendimiento del mismo contra un panel de sueros de pacientes celíacos y no celíacos, se comprobó la capacidad del mismo de funcionar en el terreno tanto con muestras de suero o plasma sin diluir, como con sangre total. Se comprobó que las muestras que resultaron AATGt-positivas después del ensayo de muestras de sangre total, también lo fueron cuando se ensayó suero o plasma. Además, la EC fue confirmada en estos pacientes mediante la biopsia de yeyuno. No se observaron falsos

negativos asociados al tipo de muestra empleada. En cambio, los sistemas comerciales solo usan suero, plasma o sangre, y siempre previa dilución de la muestra a utilizar.^{159,179,195-196}

También, como parte de la caracterización del sistema inmunocromatográfico desarrollado y descrito en este trabajo, se evaluó el rendimiento del mismo comparado contra otro similar de la competencia, en este caso, los sistemas *CD1 anti-TGt* y *CD1+2 anti-TGt* y *anti-gliadina* (Operon, España).¹⁷⁹ Cuando se va a introducir un diagnosticador en el pesquisaje masivo de una enfermedad, es muy importante que éste posea una sensibilidad elevada, y un alto valor predictivo negativo, que no es más que la probabilidad (entiéndase también proporción) de no tener la enfermedad cuando el resultado obtenido es negativo. De esta forma, se garantiza que ningún posible enfermo escape a la pesquisa, y que en un segundo paso, el resultado serológico pueda ser contrastado con métodos confirmatorios, como es el caso de la biopsia de yeyuno para la enfermedad celíaca.¹⁴ En este estudio comparativo, se pudo comprobar que la sensibilidad del sistema inmunocromatográfico fue del 100.0%, contra valores estimados de 91.7% y 95.7% para los estuches de la competencia, respectivamente. Asimismo, el VPN observado para el sistema inmunocromatográfico fue también del 100.0%, frente a valores de 91.7% y 95.7% de la competencia, respectivamente. Se puede afirmar entonces que el sistema inmunocromatográfico desarrollado y descrito en este trabajo fue más exacto en el diagnóstico de la EC, lo que permite la aplicación segura de la biopsia de yeyuno solo en aquellos pacientes que resulten AATGt-positivos, con una baja probabilidad de error.

Independientemente del pobre desempeño de los sistemas analíticos de la competencia en el laboratorio respecto del sistema inmunocromatográfico, también se debe decir que éstos son sistemas visuales rápidos basados en la técnica de inmunocromatografía, pero que incluye en el estuche dos tipos de tiras: una doble para la detección conjunta de los AATGt de clase IgA y AAG; y otra simple para los anticuerpos IgA e IgG específicos frente a la TGt. Como la tira doble solo detecta anticuerpos IgA, deja sin responder el problema planteado por los pacientes con déficit de IgA. Todo lo contrario de la tira incluida en el sistema inmunocromatográfico descrito en este trabajo, donde se determinan las clases IgA/IgG de anticuerpos anti-TGt en un mismo ensayo. Además, la identificación simultánea de los AATGt de clase IgA y AAG no mejora la sensibilidad de la prueba en la selección de los pacientes con sospecha de EC que aguardan por la biopsia diagnóstica. Todo lo contrario: pueden ocurrir problemas de interpretación de los resultados de la tira doble, si ocurre (por ejemplo) la aparición de casos positivos para AAG pero negativos para AATGt.

Como quiera que este sistema comercial exige primeramente la determinación de los AATGt mediante la tira doble, y después, si el resultado es negativo, el uso de la tira sencilla para la detección de las clases IgA/IgG de los AATGt; el uso combinado de las dos tiras solo hace que esta prueba diagnóstica se convierta en un procedimiento complejo, engorroso, costoso y consumidor de tiempo, porque, en definitiva, el resultado final de la prueba solo se obtiene después del resultado de la tira simple. De esta manera, se pierde la ventaja que significaría la rapidez sobre los métodos ELISA existentes en la actualidad para estos fines.

Una vez concluidas las fases de desarrollo y evaluación preliminar del sistema inmunocromatográfico para la determinación de los AATGt, se pasó a probarlo en grupos de riesgos para demostrar la utilidad e importancia del mismo. El primer grupo estudiado fue el de pacientes con síntomas gastrointestinales que hacen pensar en la EC. Como ya se ha reflejado anteriormente en este mismo trabajo, en la forma clásica de la enfermedad aparecen náuseas, vómitos, diarreas, distensión abdominal, pérdida de masa muscular y peso corporal, falla de crecimiento en los niños, laxitud e irritabilidad.⁸ En los adultos de la tercera y cuarta décadas de

vida, los síntomas más frecuentes son la fatiga, los dolores abdominales, el meteorismo, la anemia ferropénica, y el estreñimiento.⁸ Con frecuencia, tales adultos son diagnosticados con un síndrome de intestino irritable.⁸

En Cuba, y en vista de la disponibilidad de los sistemas ELISA para el diagnóstico de la EC (entre otras razones, dados los prohibitivos precios de los mismos), la EC se asentaba mediante el registro de la sintomatología clínica y el resultado de la biopsia de yeyuno. Esto entrañaba que se realizaran (innecesariamente en la mayoría de las veces) numerosas biopsias para concluir el diagnóstico, con las consiguientes molestias para el paciente, y el incremento de los costos de la atención de estos pacientes. El número de las biopsias yeyunales innecesarias disminuyó después de la introducción de los AAG en los servicios de Gastroenterología del país, pero no lo suficiente, dada la poca especificidad diagnóstica de este marcador, por cuanto dichos anticuerpos pueden observarse aumentados en otras enfermedades, e incluso en los sujetos sanos, asintomáticos que actúen como controles normales.^{18,139} En contraposición con lo anterior, la detección de los AATGt ha demostrado ser altamente sensible y específica en el diagnóstico de la EC.^{20-22,155}

En el estudio de 637 pacientes con síntomas clínicos sugestivos de EC que resultaron AAG-positivos, y que por lo tanto, llenaban los criterios para la realización de una biopsia de yeyuno (según las pautas aplicadas en el país hasta ese momento), solo el 13.8% de ellos (lo que equivaldría a 88 individuos) resultaron AATGt-positivos. De aquí se implica que se hubiera realizado innecesariamente este (cruento) proceder en 549 personas. Hasta el momento en que se redactan estas líneas, 57 (64.8%) de estos 88 pacientes AATGt-positivos han sido confirmados como celíacos después de hecha la biopsia de yeyuno, y en 56 de ellos se observó un aspecto histológico compatible con la EC. De esta manera, la prevalencia de la EC entre pacientes con sintomatología gastrointestinal sugestiva se ha estimado en un 8.9%, resultado comprobado por la correspondiente biopsia yeyunal.

Merece discutirse el caso de uno de estos pacientes que fue AATGt-positivo. El completamiento del proceso diagnóstico incluyó la realización de 2 biopsias yeyunales, y el genotipaje HLA. Los resultados de las dos biopsias fueron negativos de EC, y el genotipaje HLA falló en demostrar la presencia de los alelos HLA-DQ2/DQ8; por lo que se desechó conclusivamente la presencia de la EC. En consecuencia, el resultado del sistema inmunocromatográfico fue registrado como un “falso positivo”, y se constituyó en motivo de nuevas indagaciones. De paso, se debe decir que el análisis genético es útil para excluir la EC en pacientes con riesgo o sospecha, pues el valor predictivo negativo de este método es próximo al 100%.^{16,160}

Los pacientes infectados por *Giardia lamblia* constituyen un grupo particular dentro de aquellos con síntomas clínicos sugestivo de EC, porque también pueden cursar con diarreas crónicas. Rastogi *et al.*,¹⁹ y Altuntas *et al.*,¹⁹⁷ encontraron que la giardiasis y la EC son algunas de las principales causas de diarreas crónicas en niños que viven en las zonas tropicales. Puesto que la giardiasis y la EC comparten algunos síntomas clínicos, es recomendable determinar si un paciente con giardiasis también tiene EC. Esto es importante, porque se ha demostrado que el tratamiento de la giardiasis puede revertir la progresión de la EC, que pasa de la fase activa a la latente, cura la diarrea (y los síntomas sobreañadidos), y devuelve al intestino delgado la morfología que le es propia sin necesidad de obedecer una DLG.¹⁹⁸

En este sentido, se ha sugerido que la EC en estado activo, cuando se observa atrofia mucosal, puede regresar al estado latente con un aspecto normal tras la eliminación de los factores ambientales que (supuestamente) han precipitado el daño mucosal.¹⁹⁸ Además, se ha planteado que el comportamiento de los AAE y AATGt no es una característica permanente,

para toda la vida, de la EC. Por ello, se debe recomendar la determinación de estos marcadores serológicos en diferentes momentos de la vida de un paciente que se sospeche como celíaco, aún cuando la determinación inicial haya sido negativa.¹⁹⁸

Como se ha planteado en varias ocasiones, el diagnóstico definitivo de la EC exige la biopsia intestinal confirmatoria, pero éste no es el procedimiento de primera elección para el cribaje de la afección.^{15,23} En este estudio se encontraron AAG de la clase IgA en un número considerable de pacientes con giardiasis, en los que se desechó posteriormente la presencia de la EC mediante biopsia intestinal. La especificidad diagnóstica de los AAG no es buena en el cribaje de la EC. La determinación de los AATGt con el sistema inmunocromatográfico reveló que ninguno de los pacientes no celíacos con giardiasis mostró la presencia de los anticuerpos, lo que resultó en una especificidad del 100%.

Se debe discutir el caso de un paciente de 84 años de edad, AATGt-negativo, que presentaba alteraciones de la mucosa a la conclusión de la biopsia. Se consideró entonces que la atrofia vellositaria sería el resultado de la infección parasitaria. Tras el tratamiento con un anti-giardiasis se consiguió la mejoría clínica. Los resultados de los marcadores serológicos fueron otra vez negativos cuando la determinación se repitió una vez finalizado el tratamiento medicamentoso, y la biopsia evolutiva demostró la completa recuperación de la normal arquitectura de la mucosa yeyunal.

Dos de los pacientes diagnosticados con giardiasis y sospechosos de EC fueron tratados simultáneamente para ambas afecciones con un anti-giardiasis y DLG. Podría haberse considerado iniciar primeramente el tratamiento anti-giardiasis sin restringir el contenido dietético de gluten, y una vez eliminada la infección parasitaria, instalar la DLG, pero ello no fue éticamente aceptable, ante el riesgo de hacer progresar la EC a un estado latente, como se ha descrito previamente.¹⁹⁸ La negativización de los AATGt fue considerada de gran valor semiótico para la confirmación del diagnóstico de EC, máxime cuando la biopsia evolutiva demostró la recuperación completa de la arquitectura normal de la mucosa yeyunal.

Se ha comunicado que la EC puede estar presente entre el 1 – 16% de los sujetos con DMT1,⁴⁰ hecho explicado porque ambas entidades comparten genes de susceptibilidad, como son los alelos HLA B8, DR3 y DQB1*02.⁴¹⁻⁴² El presente estudio produjo una prevalencia del 2.8% de la EC en la DMT1, hecho confirmado mediante la biopsia yeyunal, lo que resultó similar a lo informado previamente.⁴⁰ Es muy frecuente que la EC sea asintomática en la DMT1.¹⁹⁹ Solo dos de los 14 pacientes DMT1 que fueron AATGt-positivos presentaron dolor abdominal, diarrea y anorexia como para sospechar la presencia de la EC. La mayoría se encontraba asintomática en el momento del estudio presente.

La prevalencia de EC en pacientes con DMT1 suele ser (aproximadamente) 20 veces mayor que en la población general. El 60.0% de los diabéticos tipo 1 se manifiesta al comienzo de la diabetes con formas asintomáticas de la EC. El 40.0% restante desarrolla la EC pocos años después del debut de la diabetes.²⁰⁰ Este estudio confirmó lo anteriormente expuesto: las dos terceras partes de los casos de DMT1 con una EC diagnosticada por biopsia eran niños, y presentaban la enfermedad ya desde el debut de la diabetes.

Todavía es tema de debate el beneficio potencial del cribado sistemático de la EC entre los pacientes con DMT1.²⁰¹ Algunos estudios refieren que este cribado debe ser regular.^{199,201} Además, la aparición de EC en la DMT1 puede acelerar el curso de la enfermedad y provocar el descontrol glucémico.⁴³ El tratamiento del paciente DMT1 con positividad a los AATGt mediante una DLG mejora el control de la enfermedad, y hace que disminuyan los

requerimientos insulínicos.⁴⁴ Por consiguiente, el pesquiasaje activo de la EC entre los pacientes DMT1 permite mejorar la conducta terapéutica, y con ello, el curso de la enfermedad.

El síndrome de Down es otra enfermedad asociada a la EC.²⁰² La prevalencia de la EC entre los pacientes con síndrome de Down oscila entre el 3% y el 12%, según los estudios y los autores. Se presume que la prevalencia de la EC asociada al síndrome de Down sea del 8% cuando se emplean métodos serológicos, y del 5.5% si se confirma mediante biopsia yeyunal.⁴⁵⁻⁴⁶ Ello indica que el riesgo de la EC en los pacientes con síndrome de Down es de (al menos) cinco veces la propia de la población general.

Al igual que en la población general, la EC en los pacientes con síndrome de Down está restringido a aquellos con los heterodímeros HLA-DQ2/DQ8. Sin embargo, la prevalencia de las moléculas DQ2/DQ8 entre los pacientes con síndrome de Down es similar a la de la población general,²⁰³ lo que indica que algunos factores (todavía desconocidos) están asociados con el aumento del riesgo de la EC en este subgrupo. El genotipaje HLA puede ser útil para excluir la posibilidad de un futuro desarrollo de la EC en estos pacientes.^{4,16,160}

Se recomienda el cribado de la EC con los AATGt en los individuos con síndrome de Down que son incapaces de describir los síntomas. El estudio presente devolvió una presunción del 2.2% de la EC en esta subpoblación después de la determinación de los AATGt. Dadas las implicaciones éticas, no se pudo realizar la biopsia de yeyuno confirmatoria en todos los pacientes AATGt-positivos. Se alerta entonces a las autoridades competentes sobre la necesidad del pesquiasaje rutinario de la EC en el síndrome de Down, con el genotipaje HLA como herramienta complementaria en la exclusión de la presencia de esta afección.

La prevalencia de la enfermedad celíaca en pacientes con enfermedad tiroidea autoinmune se ha evaluado en múltiples estudios.⁵¹⁻⁵³ Estos estudios son consistentes al informar que la EC se presenta en el 1.5 – 6.7% de estos pacientes. Si los resultados serológicos se ajustan según el resultado de la biopsia yeyunal, la prevalencia se hace del 3.0% (IC 95%: 2.3 – 3.8%). En el estudio descrito en el presente trabajo, con pacientes cubanos, se determinó que el 3.0% de los pacientes con una enfermedad tiroidea autoinmune tienen presunción de la EC debido a la presencia de AATGt. Este estimado debe ser ulteriormente corroborado mediante la biopsia de yeyuno.

Como se ha reflejado anteriormente, la EC tiene una base genética conocida, y presenta una de las asociaciones conocidas más fuertes con los genes situados en la región del HLA de clase II. Estos genes podrían contribuir al 40% de la predisposición genética a padecer la enfermedad.⁹³ Más del 95% de los pacientes con EC presentan los alelos de riesgo DQB1*02 y DQA1*0501, o DQB1*0302 y DQA1*03.^{3,87} En aquellos casos en los que no se logra demostrar la presencia de los alelos HLA-DQ2/DQ8, se puede encontrar al menos de ellos por separado (sea el DQA1*0501 o el DQB1*02). Son muy raros los casos de la EC en los que ambos alelos están ausentes.⁹⁴ Además, cuando los resultados serológicos e histopatológicos no son concluyentes en los pacientes con riesgo, o con sospecha, de EC, el diagnóstico también se puede apoyar en los estudios genéticos: dado el alto valor predictivo negativo de este tipo de método analítico (y que es cercano al 100%), se puede excluir la enfermedad.^{4,16,160}

Por estas razones, se decidió estudiar la presencia en Cuba, por primera vez, de estos marcadores genéticos en enfermos celíacos, y sus familiares de primer grado, así como también evaluar la fuerza de la asociación entre estos marcadores genéticos y los AATGt. Mediante este estudio se determinó que el 82.3% de los pacientes analizados portaba los alelos del HLA-DQ2, resultado similar a lo informado para otras poblaciones.^{3,87} No debe pasarse por alto el hecho que la población cubana tiene una fuerte ascendencia europea.²⁰⁴

Los resultados del “Cluster Genético Europeo de la Enfermedad Celíaca” demostraron que el 83.8% de los pacientes italianos, y el 83.8% de los franceses, presentaban el heterodímero HLA-DQ2.³ Esta proporción llegó a ser del 91.0% en Finlandia, 91.4% en Noruega y Suecia; y del 87.7% en el Reino Unido.³ En España, el 92.0% de los pacientes celíacos son DQ2-positivos.⁴¹ En América del Sur, un estudio completado en la Argentina informó que el 95.0% de los pacientes estudiados fueron positivos para el HLA-DQ2.²⁰⁵ En este estudio, entre los familiares de primer grado de enfermos celíacos se encontró una alta proporción (del 70%) de individuos positivos para el HLA-DQ2.

Se conoce que la EC es más común en ciertos grupos de riesgo, tales como los familiares de enfermos celíacos conocidos.^{161,206} La determinación de AATGt puede ser utilizada para detectar a los enfermos antes de que desarrollen las serias complicaciones asociadas a la EC.^{20,22,85} Por otra parte, el tipaje de HLA ha demostrado que es una herramienta útil especialmente para excluir la enfermedad, dado su alto valor predictivo negativo.^{4,16,207} En nuestro estudio encontramos que 10 (de los 54) familiares de primer grado fueron AATGt-positivos, y que 7 de ellos eran, además, HLA-DQ2-positivos. La biopsia de yeyuno reveló que 5 de estos 7 sujetos ya tenían cambios significativos en la mucosa yeyunal. Por estas razones, tales individuos se clasificaron como enfermos con una EC silente. Los otros dos individuos restantes mostraron una mucosa yeyunal normal, y por consiguiente, se designaron como individuos con una EC latente, ante la concurrencia de AATGt y los alelos HLA-DQ2.

Una vez que se comprobó que el sistema inmunocromatográfico era una herramienta útil para el pesquaje de la EC en grupos de riesgo, la siguiente tarea fue probar su aplicabilidad en población sana.

Varios estudios han referido que la EC es común en varios países en vías de desarrollo.²⁰⁸⁻²¹⁰ La presencia de la EC ha sido bien establecida en los países de América del Sur.²¹⁰⁻²¹¹ Algunos países del continente africano han informado una alta prevalencia de EC.^{80,212} Es conocido que los principales factores genéticos (la presencia de los alelos de riesgo HLA-DQ2/DQ8) y ambientales (el consumo de gluten) que se han identificado como responsables del desarrollo de la EC muestran una amplia distribución mundial.

Cuba no puede ser la excepción de la regla, sobre todo por el alto consumo de trigo por la población cubana,²¹³ y la fuerte ascendencia europea de los cubanos.²⁰⁴ Además, como se demostró previamente en este trabajo, la población cubana también porta los genes HLA-DQ2/DQ8 asociados a la EC. Hasta el momento, no se tienen noticias de estudios similares que se hayan realizado en América Central o el Caribe. En estos países existe un subregistro de la EC, debido a la baja percepción de la presencia de la enfermedad, y las dificultades existentes en el acceso a las facilidades diagnósticas.²⁰⁹

La biopsia intestinal es aun el “patrón de oro” para el diagnóstico de la EC.¹⁴⁻¹⁵ Por lo tanto, en el diagnóstico de la EC en adultos cubanos aparentemente sanos se siguió una ruta secuencial, primero con la determinación de los AATGt, seguida de la confirmación de la presencia de la enfermedad mediante la biopsia correspondiente. La aplicación de estos 2 procedimientos en los 200 individuos estudiados permitió la identificación de uno de ellos como enfermo celíaco, lo que se corroboró exhaustivamente mediante el análisis genético de HLA. Se ha de destacar que el sujeto padecía de una anemia etiquetada como “ferropénica”. Como se ha expuesto una y otra vez a lo largo de este trabajo, la EC silente incluye manifestaciones atípicas como la anemia, la osteoporosis, y las enfermedades neurológicas. La EC silente también incluye individuos realmente asintomáticos que solo son detectados mediante pesquisajes en grupos de riesgos o poblaciones abiertas, no restringidas. Los síntomas de la EC son diversos, pero la enfermedad

puede ser asintomática.^{39,73} Por lo tanto, es evidente que sin un pesquiasaje serológico activo continuará sin ser diagnosticada la mayoría de los casos con EC silente.⁸

En este estudio también se evaluó la utilidad del sistema inmunocromatográfico como herramienta para el diagnóstico de la EC en la población aparentemente sana. Cuando el rendimiento de este sistema se comparó con otro basado en un ELISA (*Celikey IgA*, Celikey Pharmacia & Upjohn, Diagnostics AB, Friburgo, Alemania), se comprobó la total concordancia entre ambos métodos, independientemente del tipo de muestra (sangre/suero/plasma) utilizada en el ensayo. A fuerza de reiterar lo dicho en otros segmentos de este trabajo, se quiere remarcar que pueden aparecer falsos negativos después del uso de los sistemas ELISA debido a que hasta el 10% de los enfermos celíacos pueden tener un déficit selectivo de IgA.^{49,129} Por otra parte, y como se ha demostrado anteriormente, el sistema inmunocromatográfico detecta indistintamente los anticuerpos IgA e IgG contra la transglutaminasa, lo que provee a este sistema de una ventaja sobre aquellos basados en la detección de la clase IgA de anticuerpos, por lo que, irremediamente, si los individuos resultan negativos para AATGt-IgA, el proceder debe continuarse con otro ensayo de los AATGt clase IgG para así desechar la concurrencia de un déficit selectivo de IgA.

La prevalencia de EC en las edades infantiles ha sido objeto de estudio en el pasado. En Suecia, la EC está presente entre 1:285 y 1:33 niños; en Finlandia, entre 1:99 y 1:67; y en Italia, entre 1:230 y 1:106 escolares.^{73,75-77} En los Estados Unidos, en un estudio realizado con niños de 5 años de edad, se demostró que la prevalencia era de 1:104.²¹⁴

La EC clásica representa solo la punta del iceberg de la enfermedad. Ya se conoce que, por cada paciente diagnosticado con la enfermedad, existen entre tres y siete más sin diagnosticar.^{6,80} Algunos autores han planteado que debido al alto contenido de gluten en la dieta infantil, la mayoría de los niños con EC son sintomáticos.²¹⁵ Sin embargo, en el caso presente, el estudio realizado a niños cubanos sugiere una alta prevalencia de EC silente (con una cifra de prevalencia observada del 1.2%), lo que confirma los resultados de otros autores que sugieren que la EC generalmente ocurre sin síntomas, y que la mayoría de los casos no son diagnosticados.^{6,15,37,80} Por otra parte, cuando se comparó el sistema inmunocromatográfico con el estuche ELISA comercial *Celikey IgA* (Celikey Pharmacia & Upjohn, Diagnostics AB, Freiburg, Alemania), la concordancia entre los resultados no fue completa. De hecho, 2 pacientes que no presentaron anticuerpos IgA transglutaminasa al usarse el sistema *Celikey IgA*, resultaron positivos por el sistema inmunocromatográfico. Estas dos muestras, y otras cinco restantes que resultaron positivas para AATGt mediante el sistema inmunocromatográfico, se corroboraron como positivas por el sistema comercial *Celikey IgG* (Celikey Pharmacia & Upjohn, Diagnostics AB, Freiburg, Alemania). Por esta razón, se sugiere que los dos pacientes que resultaron negativos con el sistema ELISA *Celikey IgA* pueden presentar una deficiencia selectiva de IgA.

Estos resultados deben ser confirmados mediante biopsia yeyunal y el estudio de la presencia de los marcadores genéticos asociados a la EC. Los resultados descritos se obtuvieron con niños sanos provenientes de la provincia de Pinar del Río, por lo que el estudio, para que fuera representativo de la situación del país, habría que extenderlo a otras provincias para corroborar si éstas presentan el mismo comportamiento, y en el proceso, determinar la prevalencia de la EC en Cuba en los niños.

A través de los estudios de validación del sistema inmunocromatográfico realizados con pacientes de diferentes grupos de riesgo se pudo comprobar (según el test de kappa) que el sistema inmunocromatográfico posee un índice de concordancia del 0.983 entre la presencia de

AATGt y los cambios en la mucosa yeyunal, por lo que es muy probable que, ante un marcador serológico positivo, se encuentren en la biopsia cambios morfológicos compatibles con la EC.

Por todo lo anterior, se puede afirmar que el sistema inmunocromatográfico desarrollado permite detectar con elevada sensibilidad la presencia de EC, e indicar la biopsia de yeyuno de manera específica, y sin elevado riesgo de error, solo en aquellos pacientes (en especial niños y adolescentes) con AATGt-positivos. Ello evitará la ejecución innecesaria de la instrumentación gastroenterológica, ya sea por el método peroral (donde la cápsula de biopsia se introduce por la boca y se hace avanzar hasta el yeyuno), o mediante la duodenoscopia; métodos ambos que, además de ser invasivos y molestos, también son costosos, requieren de personal especializado para su ejecución, y no están exentos de riesgos (aunque sean mínimos). Así, la selección adecuada del presunto paciente celíaco para la biopsia yeyunal confirmativa reducirá notablemente la ejecución innecesaria de los métodos gastroenterológicos de diagnóstico, con el significativo ahorro de recursos y tiempo, sin que ello oculte el intrínseco aspecto humano de evitar la ejecución de un proceder en aquellos donde el resultado pudiera ser dudoso, y de esta manera, alargar el proceso diagnóstico.