

Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



COMUNICACIONES ORALES

V Congreso de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC)

Barcelona, 17-19 de noviembre de 2016

CO-1.1. PAPEL DE LOS DISTINTOS GENOTIPOS DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA EN UNA COHORTE GENÉTICAMENTE PREDISPUSTA. SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO

B. Borrell^a, S. Fernández^a, M.L. Cilleruelo^b, A. Rayo^a, J. Jiménez^c, A. Tabares^a, M.L. García^a y C. Hernando^c

^aServicio de Gastroenterología Infantil, Hospital Universitario Severo Ochoa, Leganés, Madrid. ^bServicio de Gastroenterología Infantil, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid. ^cServicio de Análisis Clínicos y Bioquímica, Hospital Universitario Severo Ochoa, Leganés, Madrid.

Introducción: Recientes estudios epidemiológicos han demostrado diferencias para el desarrollo de la enfermedad celíaca (EC) según el riesgo genético. El objetivo del estudio es analizar el papel del genotipo en el desarrollo de la EC en una cohorte HLA-DQ2(+) y realizar un despistaje tras 10 años de seguimiento.

Métodos: 1) Formación de la cohorte de riesgo: Determinación del HLA-DQ2 en sangre del cordón umbilical. Despistaje de EC a los 2-3 años de edad (test inmunocromatográfico rápido anti-TG2 IgA/IgG/IgM) y diagnóstico de EC mediante biopsia intestinal. 2) A los 10 años se realizó un segundo despistaje de esta cohorte. Se determinó el genotipo HLA-DQ (escobillado de mucosa oral): riesgo alto (homocigoto DQ2.5/DQ2.5, DQ2.5/DQ2.2 o DQ2.2/DQ7 y moderado/bajo: DQ2.5/X o DQ2.2/X).

Resultados: 1) Cohorte HLA-DQ2+: N = 362. Prevalencia EC 5,7%. 2) Segundo despistaje de EC: Se incluyen 84 HLA-DQ2+: Prevalencia de EC = 6,8% (3 nuevos casos de EC). Genotipo HLA-DQ: Los niños con riesgo genético alto tendrían 2,8 veces mayor riesgo de desarrollar EC: OR 2,8 (IC 0,96-8,22) (fig. 1).

Conclusiones: El diagnóstico de 3 nuevos casos de EC en el segundo despistaje, corrobora la necesidad de realizar estudios de screening a largo plazo en población de riesgo. Nuestros resultados confirman lo publicado en la literatura reciente, siendo el haplotipo HLA un factor determinante en el desarrollo de la EC. Estos datos son preliminares debido al escaso tamaño de la muestra.

CO-1.2. ANÁLISIS DE METILACIÓN DE GENOMA COMPLETO EN CÉLULAS EPITELIALES E INMUNES DEL DUODENO CELÍACO

N. Fernández^a, K. García^b, L. Plaza^b, A. Jauregi^b, I. Romero^b, Z. Herceg^a, H. Hernández^a y J.R. Bilbao^b

^aEpigenetics Group, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, Francia. ^bDepartamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) e Instituto BioCruces, Leioa, País Vasco.

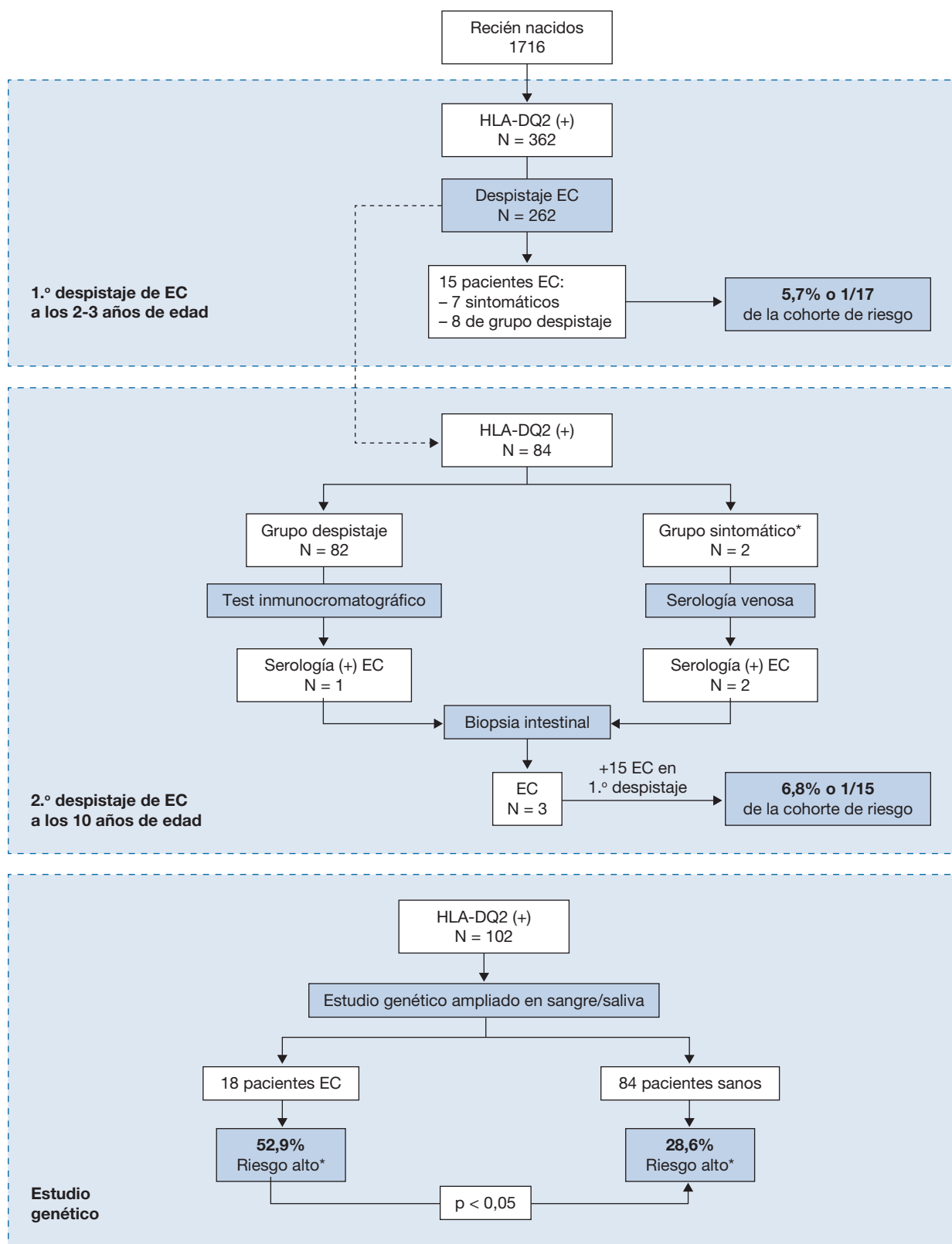
Introducción: El HLA (Human Leucocyte Antigen) y otras variantes genéticas explican el 50% de la herencia de la enfermedad celíaca (EC). Sin embargo, parte de la patogénesis de la EC podría residir en otros tipos de información genética independientes de la variación en la secuencia de ADN. Además, la metilación alelo-específica podría explicar una fracción de los SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) identificados previamente.

Métodos: Decidimos analizar el metiloma en fracciones enriquecidas en células epiteliales (CD326+) e inmunes (CD45+) separadas de biopsias de celíacos y controles. También obtuvimos los genotipos de más de 150.000 SNPs relacionados con la respuesta inmune y datos de expresión de todo el transcriptoma.

Resultados: Observamos una signatura de metilación específica de tipo celular, caracterizada por una pérdida de límites en las islas CpG frecuentemente relacionada con la alteración de la expresión. Afecta a genes relacionados con la adhesión celular y la apoptosis e incluye la región HLA. Por otro lado, el solapamiento entre posiciones diferencialmente metiladas y los SNPs cuyos genotipos se correlacionan con los niveles de metilación de posiciones adyacentes es mínimo. Finalmente, describimos detalladamente programas de transcripción específicos para cada población celular, con un enriquecimiento en funciones inmunes.

Conclusiones: La alteración de la metilación parece un evento no relacionado con la secuencia del ADN. Esto ocurre incluso en el HLA, donde la metilación juega un papel independiente del efecto conocido de los alelos de susceptibilidad. Finalmente, la metilación del ADN explica una fracción mínima de las asociaciones conocidas entre SNPs y EC.

Figura CO-1.1



* Riesgo alto: homocigoto DQ2.5/DQ2.5, DQ2.5/DQ2.2 o DQ2.2/DQ7 (2.5 trans).

CO-1.3. EFECTOS DE LA GLIADINA Y LA BASE GENÉTICA EN LA INTEGRIDAD DE LAS ESTRUCTURAS TIGHT JUNCTION

A. Jauregi^a, I. Santin^b, K. García^a, I. Romero^a, L. Plaza^a y J.R. Bilbao^a

^aUPV/EHU. ^bInstituto BioCruces.

Las estructuras *Tight Junction* (TJ) son cruciales para la homeostasis del epitelio intestinal, ya que regulan el flujo paracelular y mantienen la polaridad apico-basal de las células intestinales. En la enfermedad celíaca (EC), se observa una disfunción de la barrera epitelial y un aumento de la permeabilidad intestinal. Estas alteraciones podrían ser consecuencia de un desacomplamiento de las estructuras TJ, causadas por la respuesta inmunitaria innata y adaptativa inducida por la gliadina. Los pacientes con EC activa presentan una desregulación general de la vía TJ y algunas alteraciones son irreversibles incluso después de 2 años de dieta sin gluten, lo que sugiere una implicación de genes como *TJP1* (estructuración), *INADL* (polaridad apico-basal) y *PPP2R3A* (control negativo del crecimiento celular). Para investigar el efecto de la gliadina en la integridad de la barrera epitelial teniendo en cuenta la base genética, se realizaron estudios de expresión y funcionales en el modelo del epitelio intestinal C2BBel. Incubaciones con gliadina digerida con pepsina y tripsina (PT-G) son capaces de inhibir la formación de nuevas monocapas intestinales, aunque no se destruyen las uniones previamente formadas. En modelos de silenciamiento por siRNAs de genes cruciales para las TJ, la estimulación con PT-G provocó alteraciones en la vía TJ y otras vías conectadas como la señalización de los receptores tipo *Toll*. La alteración constitutiva de los genes TJ en la EC puede dar lugar a una barrera intestinal inmadura sobre la que aumenta la toxicidad de la gliadina relacionada al EC.

CO-2.1. VARIANTES DEL COMPLEJO INMUNOGÉNICO DE LAS ALFA GLIADINAS EN TRIGO: ORIGEN Y EVOLUCIÓN DEL PÉPTIDO 33-MER

C.V. Ozuna, J.C.M. Iehisa, M.J. Giménez y F. Barro

Departamento de Mejora Genética, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Las proteínas del gluten, especialmente las gliadinas, se encuentran estrechamente asociadas al desarrollo de la enfermedad celíaca (EC), una enteropatía inducida por la ingesta de proteínas del gluten de trigo, cebada y centeno. El péptido 33-mer, con seis epítomos solapantes, es uno de los epítomos más inmunogénicos que se conoce y se encuentra en las α -gliadinas. Otros dos péptidos relacionados con la EC también se localizan en α -gliadinas: el p31-43 que induce la respuesta inmune innata; y un péptido adicional DQ2.5-gli-a3 que solapa parcialmente con el 33-mer. La secuenciación masiva y Sanger de los genes de α -gliadinas de trigos diploides y poliploides ha mostrado seis tipos de α -gliadinas (nombradas 1-6), que difieren en su frecuencia en trigos diploides y poliploides, así como en la abundancia de epítomos inmunogénicos de la EC. Es de destacar que solo las α -gliadinas de tipo 1 contienen uno o más de los epítomos canónicos del 33-mer. Además, el tipo 1 contiene también el epítomo canónico del DQ2.5-gli-a3. El fragmento completo del 33-mer está presente exclusivamente en trigos hexaploides con baja abundancia. Los diploides con el genoma S contenían muy pocos o ningún epítomo. Por el contrario, *T. monococcum* (genoma AmAm) y *Ae. tauschii* (genoma DD) presentaron la mayor abundancia de epítomos. Entre los genotipos de trigo hexaploide hemos observado una amplia variación en la abundancia de los epítomos canónicos. Estos resultados son importantes para reducir la incidencia de la EC mediante la selección de variedades de trigo con baja capacidad estimuladora de células T.

CO-2.2. MONITORIZACIÓN DE LA ADHERENCIA A LA DIETA SIN GLUTEN EN PACIENTES CELÍACOS: DETECCIÓN DE LOS PÉPTIDOS INMUNOGÉNICOS DE GLUTEN EN ORINA

M.L. Moreno^a, I. Comino^a, V. Segura^a, A. Ruiz^a, A. Pizarro^b, F. León^c, A. Rodríguez^d y C. Sousa^a

^aDepartamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. ^bUnidad Clínica de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ^cCelimmune, Bethesda, EEUU. ^dUnidad de Gastroenterología y Nutrición, Instituto Hspalense de Pediatría, Sevilla.

Introducción: El único tratamiento para la enfermedad celíaca (EC) es una estricta dieta sin gluten (DSG), por tanto, su monitorización es de vital importancia. En este trabajo hemos desarrollado y evaluado un método para verificar la adherencia a la DSG mediante detección de péptidos inmunogénicos de gluten (GIP) en orina de pacientes celíacos.

Métodos: Participaron 69 adultos y 65 niños. Se recogieron muestras de orina de 76 sanos en dieta con gluten (DCG) y de 58 celíacos en DSG > 2 años. El contenido en GIP se detectó con tiras inmunocromatográficas-G12 concentrando previamente los péptidos de la orina, y cuantificándolos mediante un lector de flujo lateral.

Resultados: Todas las orinas de individuos sanos en DCG presentaron niveles de GIP > límite de cuantificación (LQ) tras 4-6h de ingerir gluten. En celíacos, el nivel de GIP estuvo > LQ en el 48% de los adultos y 45% de los niños, lo que indica un incumplimiento de la DSG. El análisis de biopsias duodenales reveló que la mayoría de celíacos (89%) sin atrofia vellositaria no tuvo GIP detectables en orina, mientras que todos los pacientes con GIP en orina mostraron lesión de distinto grado en la mucosa intestinal. Tras el comienzo de una DSG, el gluten remanente se elimina en 1-2 días llegándose a detectar 25 mg de pan ingerido.

Conclusiones: Esta técnica es útil para el diagnóstico y seguimiento clínico de la EC y EC refractaria, así como en la investigación de futuras terapias para esta enfermedad y patologías asociadas.

CO-2.3. DETECCIÓN DEL PÉPTIDO 8MER EN PROLAMINAS DE CEREALES

C. Escudero^a, I. Comino^b, J.A. Garrote^c, C. Sousa^b y E. Arranz^a

^aUniversidad de Valladolid-CSIC. ^bUniversidad de Sevilla.

^cHospital Universitario Río Hortega, Valladolid.

Introducción: El péptido 8mer es un nuevo componente identificado en la ω -gliadina al que responden los pacientes con enfermedad celíaca generando anticuerpos que pueden ser detectados en suero. La detección de este péptido en cereales podría contribuir a mejorar la seguridad de la detección de gluten en la industria alimentaria, fundamental para garantizar la correcta adherencia de los pacientes a la dieta sin gluten.

Métodos: Se desarrollaron 4 anticuerpos anti-8mer en ratones previamente inmunizados. Se examinó la afinidad de todos ellos frente a prolaminas de distintas variedades de cereales tóxicos para los pacientes celíacos (trigo, cebada y centeno), así como controles negativos (arroz, soja y quinoa) mediante western blot y ensayo por inmovinoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

Resultados: Los cuatro anticuerpos detectaron las prolaminas presentes en los cereales tóxicos mediante western blot. En el trigo se detectó 8mer en las 1, 2 y 5- ω -gliadinas (40-50 kDa) y γ -gliadinas (28-35 kDa); no obstante, en las distintas variedades de cebada y centeno, se encontró una mayor reactividad frente a las proteínas homólogas (C-hordeínas y γ -secalinas, respectivamente). Mediante ELISA directo y competitivo se verificaron los resultados obtenidos por western blot. Arroz, quinoa y soja mostraron resultados negativos en todos los casos.

Conclusiones: Se demostró experimentalmente la presencia del péptido 8mer y homólogos en prolaminas de trigo, y con una mayor reactividad en cebada y centeno. Estos anticuerpos podrían ser utilizados como marcador en la detección de gluten en la industria alimentaria.

CO-3.1. ¿DEBE DE CAMBIARSE EL PUNTO DE CORTE DEL RECUENTO DE LINFOCITOS INTRAEPITELIALES PARA DEFINIR LA ENTERITIS LINFOCÍTICA?

B. Arau^a, M. Rosinach^b, A. Carrasco^b, J. Vidal^c, L. Batista^b, Y. Zabana^b, M. Esteve^b y F. Fernández^b

^aServicio de Digestivo, Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona. ^bServicio de Digestivo, Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona y CIBERehd. ^cCitometría de Flujo, CATLAB, Viladecavalls, Barcelona.

Introducción: El punto de corte para definir la enteritis linfocítica (EL) está establecido en 25% de linfocitos intraepiteliales (LIEs), aunque hay autores que defienden un punto de corte del 18%. El 30% de los pacientes con EL (LIEs > 25%) presentan linfograma celíaco, lo que se ha denominado 'celiac-lite' o 'celiaquía menor'. Estos pacientes pueden presentar la misma clínica que la celiaquía con atrofia y buena respuesta a la DSG.

Objetivos: Estudiar la presencia del linfograma celíaco y la respuesta a la DSG en pacientes con clínica del espectro celíaco, HLA-DQ2/8 positivo y biopsia intestinal sin atrofia con un recuento de LIEs entre 18 y 24%.

Métodos: Entre 2010 y 2016 se realizaron 1118 biopsias duodenales diagnósticas para estudio de pacientes con sospecha de enfermedad celíaca. Se realizó estudio histológico y del linfograma intraepitelial.

Resultados: Se detectaron 185 pacientes con LIEs entre 18 y 24% (edad $37 \pm 1,4$; 71% mujeres), 57 (31%) de los cuales presentaban un linfograma celíaco. Se inició una dieta sin gluten en 17/57, consiguiendo una respuesta clínica en 11 (65%) (6/11 con respuesta serológica y/o histológica y 5/11 con histología no valorada). En 37/57 pacientes no se inició DSG, a pesar de que 7 presentaban anti-tTG+ (5 con valores entre 2y8 U/mL y 2 con > 20 U/mL). Un paciente (anti-tTG = 7) desarrolló atrofia en el seguimiento. 3/57 pendientes de evaluar la repuesta a DSG.

Conclusiones: Un tercio de los pacientes con LIEs entre 18 y 24% presentan linfograma celíaco, y buena respuesta a la DSG, por lo que pueden beneficiarse de la DSG igual que los pacientes con LIEs > 25%. El efecto de la DSG en estos pacientes debería de ser evaluado en series prospectivas.

CO-3.2. EVOLUCIÓN DE LA ENTERITIS LINFOCÍTICA Y FOXP3 EN FAMILIARES DE PRIMER GRADO DE CELÍACOS TRAS ERRADICACIÓN DEL HP Y LA DSG

L. Vaquero^a, L. Rodríguez^a, M. Jiménez^a, L. Montesión^a, G. Molina^a, A.B. González^a, M. Hernando^b y S. Vivas^a

^aServicio de Aparato Digestivo, Complejo Asistencial Universitario de León. ^bServicio de Anatomía Patológica, Complejo Asistencial Universitario de León.

Introducción: La enteritis linfocítica (EL) es una lesión originada por diferentes patologías. En ocasiones es un reto diagnóstico identificar la causa del incremento de los linfocitos intraepiteliales (LIEs).

Objetivos: Determinar la evolución de la EL en familiares de primer grado (FPG) tras la erradicación del HP y la DSG.

Métodos: Se seleccionaron FPG con EL. Se erradicó el HP y se instauró DSG. Tras cada intervención se evaluaba las biopsias duodenales, el número de LIEs y Foxp3.

Resultados: Incluidos 34 FPG con EL y serología negativa. El 64,9% eran mujeres, edad media 40,7 años (24-72 años). En 7/19 participantes presentaron la desaparición de la EL tras la erradicación del HP. Observamos una disminución LIEs (40,4 vs 30,3; $p = 0,08$), sin repercusión sobre Foxp3 (8,2 vs 8,4; $p = 0,277$). Tras DSG el 33% de los sujetos normalizaron las lesiones histológicas demostrando una disminución LIEs (40,4 vs 32,7; $p = 0,028$) y Foxp3 (8,2 vs 6,7; $p = 0,33$). Veinticuatro sujetos tenían síntomas digestivos, presentando 36,9 LIEs en la biopsia basal y tras la DSG fueron cuantificados 34,6 LIEs ($p = 0,140$). Sin embargo, la supresión del gluten ocasionó un descenso del Foxp3 (8,5 vs 6,8; $p = 0,05$). Doce de los participantes mostraron una respuesta a la DSG con mejoría clínica y de la EL. Se cuantificaron 50,2 LIEs basales y 36,4 LIEs tras suprimir el gluten ($p = 0,05$). También evidenciaron un descenso significativo del Foxp3, obteniendo en situación basal 11,1 Foxp3 y tras DSG 6,1 ($p = 0,005$).

Conclusiones: La erradicación del HP y la DSG permite la desaparición de la EL. La determinación de los linfocitos Foxp3 identifica a los pacientes que pueden presentar una respuesta clínica a la DSG. La eliminación del HP no influye en la cuantificación del Foxp3 en las biopsias duodenales.

CO-3.3. EVALUACIÓN DE LINFOCITOS T CD8 Y TCR $\gamma\delta$ EN SANGRE PERIFÉRICA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD CELÍACA EN DIETA SIN GLUTEN

M. Castaño^a, N. López^b, V. Pascual^a, A. Bodas^c, E. Martínez Ojinaga^d, R. Dieli^a, R. Martínez^a y C. Núñez^a

^aUGC de Inmunología; ^bServicio de Aparato Digestivo; ^cServicio de Pediatría, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Madrid.

^dServicio de Gastroenterología y Nutrición, Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Introducción: Las pruebas actuales empleadas para diagnosticar enfermedad celíaca (EC) requieren el consumo de gluten, lo cual puede suponer una limitación. Además, existen individuos que tras estas pruebas continúan con diagnóstico incierto. Nuestro objetivo fue evaluar la utilidad de detectar dos subpoblaciones de linfocitos T en sangre periférica tras una provocación corta con gluten para diagnosticar EC en individuos en dieta sin gluten (DSG).

Métodos: Incluimos 11 pacientes celíacos, 19 controles sanos y 43 individuos con sospecha de EC. Tras al menos un mes en DSG, los participantes se sometieron a tres días de provocación con gluten. Recogimos sangre periférica el día previo y seis días después del inicio de la provocación y evaluamos la presencia de los marcadores CD103, $\beta 7$ y CD38 en linfocitos T CD8⁺ y TCR $\gamma\delta$ ⁺ mediante citometría de flujo.

Resultados: En todos los pacientes de EC se detectaron a día 6 ambas subpoblaciones de células T, las cuales no se observaron en ningún control (v. figura en pág. siguiente). Seis de los 43 individuos en estudio mostraron la subpoblación CD8⁺ estudiada tras la provocación, similar a los celíacos; cinco de ellos con detección paralela de la subpoblación TCR $\gamma\delta$ ⁺. Esos seis pacientes incluían individuos seronegativos, con biopsias no concluyentes y con genética HLA de bajo riesgo.

Conclusiones: Una provocación con gluten de tres días origina un aumento de células T CD8⁺CD103⁺ $\beta 7$ ^{hi}CD38⁺ en pacientes con EC, que se pueden detectar por citometría de flujo en sangre periférica, abriendo nuevas posibilidades para el diagnóstico.

CO-4.1. BACTERIAS PROTEOLÍTICAS PROMUEVEN LA SENSIBILIDAD AL GLUTEN EN RATONES

A. Caminero Fernández^a, H.J. Galipeau^a, J.L. McCarville^a, S.P. Bernier^a, M.G. Surette^a, J. Casqueiro Blanco^b y E.F. Verdú^a

^aFarncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University. ^bUniversidad de León.

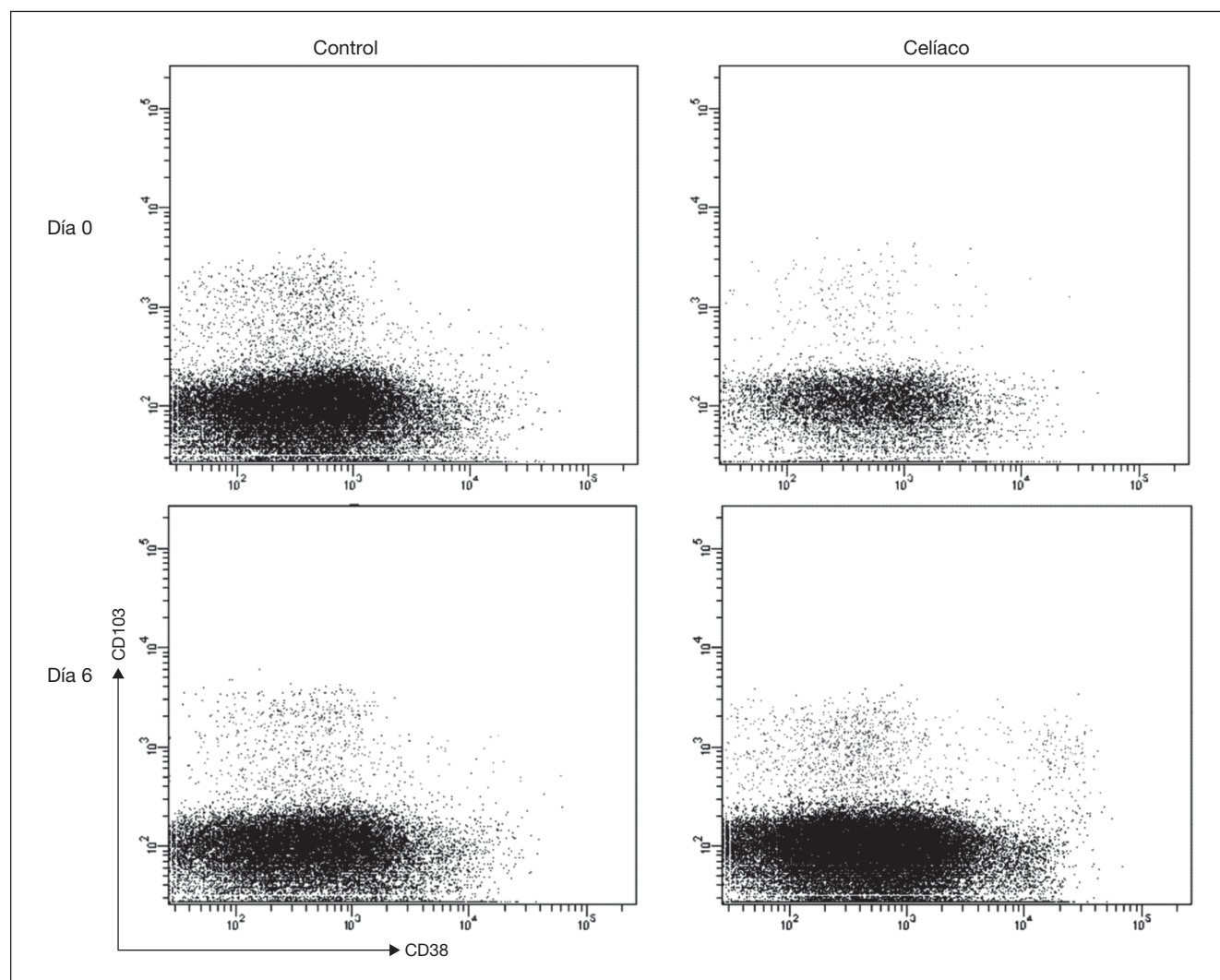


Figura CO-3.3. Linfocitos T CD8⁺ mostrando la expresión de los marcadores CD103 y CD38 en un paciente celíaco y un individuo control a día 0 y 6 de una provocación con gluten los días 1, 2 y 3.

El gluten, un componente proteico de difícil digestión, es el desencadenante de la enfermedad celíaca (EC). Sólo un porcentaje de la población genéticamente susceptible desarrolla EC al ingerir gluten. Se ha especulado que alteraciones de la microbiota intestinal pueden jugar un papel importante, aunque el mecanismo subyacente es desconocido. Recientemente, hemos mostrado que las bacterias intestinales metabolizan gluten incrementando o reduciendo su inmunogenicidad. Nuestro objetivo es estudiar mecanismos adicionales innatos utilizando modelos murinos que expresan, o no, genes de susceptibilidad. Ratones C57BL/6 (no susceptibles al gluten) y NOD/DQ8 (susceptibles), colonizados con una microbiota definida que protege frente al gluten, fueron suplementados con: 1. *P. aeruginosa*, una bacteria duodenal aislada en celíacos que usa elastasa para degradar gluten, y 2. LasB, un mutante sin actividad elastasa. Los ratones fueron sensibilizados con gluten + toxina cólica (3 semanas) y expuestos a gluten (2 semanas). Se usaron ratones control para cada grupo no expuestos a gluten. Al sacrificio, se cuantificó la carga bacteriana y su actividad proteolítica en el duodeno. Además se cuantificó el número de linfocitos intraepiteliales (LIS) y la relación cripta/vellosidad. La exposición al gluten incrementó la carga *Psa* y su actividad elastasa. *Psa* indujo la proliferación de LIS en ratones C57BL/6 y NOD/DQ8, con y sin exposición a gluten. *Psa* reduce la relación vellosidad/cripta

en ratones NOD/DQ8. El presente trabajo describe un mecanismo adicional innato y mediado por *Psa*-elastasa, por el cual patógenos oportunistas podrían modificar el riesgo a desarrollar EC en pacientes susceptibles. Este mecanismo podría modularse preventiva o terapéuticamente.

CO-4.2. MARCADORES SEROLÓGICOS DE DAÑO INTESTINAL Y APOPTOSIS EN FAMILIARES ADULTOS DE PRIMER GRADO DE PACIENTES CELÍACOS

L. Rodríguez^a, L. Vaquero^a, A.B. González^a, D. López^a, M. Hernando^b, E. López^c, O. Rivero^c y S. Vivas^a

^aServicio de Aparato Digestivo; ^bServicio de Anatomía Patológica; ^cUnidad de Investigación, Complejo Asistencial Universitario de León.

Introducción: La proteína ligadora de ácidos grasos intestinal (IFABP) y el fragmento de citokeratina 18 unido a caspasa (cCK-18) son marcadores de permeabilidad de la mucosa intestinal y apoptosis.

Objetivos: Analizar la utilidad del iFABP y el cCK-18 como marcadores de daño intestinal y apoptosis en familiares adultos de primer grado de celíacos (FPG).

Métodos: Estudio transversal comparativo para valorar el daño del epitelio intestinal en FPG sin criterios de celiaca ($n = 45$) frente a celíacos con atrofia vellositaria ($n = 8$), celíacos en DSG ($n = 20$), pacientes con Crohn ($n = 13$) y sanos ($n = 17$).

Resultados: Los niveles séricos de IFABP fueron superiores en los FPG con enteritis linfocítica respecto a los FPG que tenían una mucosa normal (Marsh 0) (1.026 vs 699 pg/ml; $p = 0,033$). Los celíacos recién diagnosticados y los pacientes con Crohn presentaron niveles superiores a los de los FPG (1.926 vs 837 pg/ml; $p = 0,037$ y 1.470 vs 837 pg/ml; $p = 0,001$) respectivamente. Los niveles séricos de cCK18 analizados en suero resultaron más elevados en el grupo de celíacos activos en dieta con gluten (130,4 pM) que en los familiares (95,4 pM), celiaca en DSG (108,1 pM), Crohn (111,2 pM) y controles (87,5 pM), aunque sin significación estadística. Los niveles de cCK18 en FPG con o sin enteritis linfocítica duodenal fueron similares (97 vs 94 pM; $p = 0,8$).

Conclusiones: Los familiares de primer grado adultos con enteritis linfocítica presentan marcadores séricos elevados que traducen daño intestinal aunque sin elevar marcadores de apoptosis. El i-FABP podría servir de marcador serológico del daño epitelial intestinal.

CO-4.3. FÓRMULA SIMBIÓTICA PARA LA MEJORA DE LA CALIDAD DE VIDA GASTROINTESTINAL EN PACIENTES CELÍACOS ESTABLES CON DIETA SIN GLUTEN

M. Miralles, M. Tintoré, I. Méndez y J. Cuñé

AB-Biotics, S.A.

El correcto cumplimiento de una dieta sin gluten (DSG) deriva en una serología negativa, la normalización del epitelio intestinal y la desaparición de síntomas clínicos en la gran mayoría de pacientes. No obstante, el seguimiento de una DSG estricta, no solo se asocia a carencias nutricionales concretas, sino a un malestar intestinal entendido como alteraciones en la composición de la microbiota, disregulación del tránsito, hinchazón y molestias inespecíficas que inciden negativamente en la calidad de vida de los pacientes. Estudios recientes han demostrado, mediante técnicas avanzadas de

secuenciación masiva, que una DSG estricta favorece la reducción de la diversidad y la riqueza del ecosistema intestinal, así como una menor presencia de bacterias comensales beneficiosas (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*), promoviendo por el contrario la proliferación de proteobacterias, como algunos gramnegativos (*Bacteroides*, *E. coli*). Esta disbiosis microbiana conlleva la persistencia de síntomas gastrointestinales en pacientes estables con DSG. Con el objetivo de compensar dichas carencias, se ha llevado a cabo una investigación para desarrollar una fórmula simbiótica (Z2106) con una composición específicamente seleccionada para revertir la disbiosis intestinal descrita en los pacientes con DSG. El componente probiótico contiene cuatro cepas de *Lactobacillus* con capacidad para degradar péptidos de trazas de gluten, compensar la respuesta inflamatoria, promover el tránsito y mejorar la impermeabilidad del epitelio intestinal. Sinérgicamente, la fórmula incluye una combinación de prebióticos capaces de modular dirigidamente el microbioma intestinal, testado en un intestino artificial. Finalmente, Z2106 incorpora calcio, vitamina B12 y hierro microencapsulado para evitar efectos adversos como la pirosis o el estreñimiento.

CO-5.1. ENFERMEDAD CELÍACA CON HLA-DQ2.5/8 NEGATIVO EN ESPAÑA: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS

F. Fernández-Bañares^a, C. Núñez^b, B. Arau^c, R. Dieli Crimi^b, M. Rosinach^a y M. Esteve^a

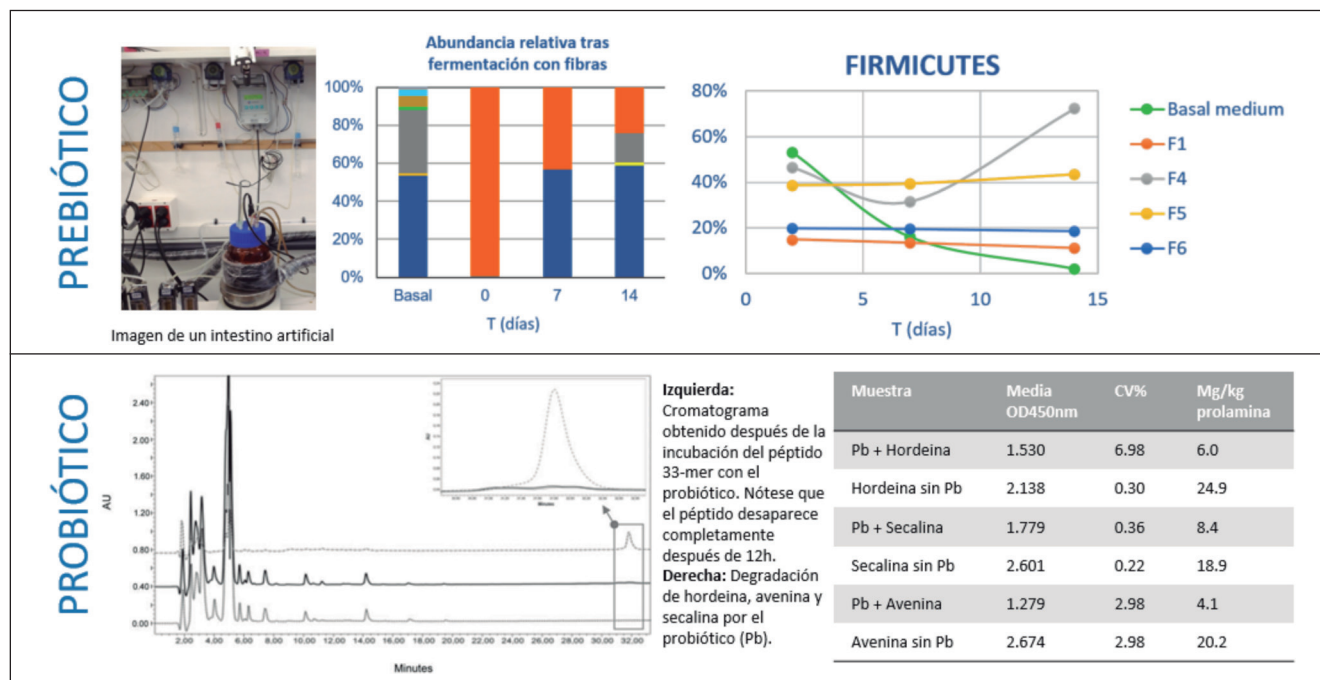
^aServicio de Digestivo, Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona y CIBERehd. ^bUGC de Immunología, Instituto de Investigación en Salud San Carlos (IdISSC), Madrid. ^cServicio de Digestivo, Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona.

Introducción: El estudio 'European genetic cluster on coeliac disease' (Francia, Italia, UK, Noruega y Finlandia) mostró que el 6% de los pacientes con enfermedad celíaca (EC) eran DQ2.5/8 negativos.

Objetivos: Realizar un meta-análisis de la presencia de EC con HLA-DQ2.5/8 negativo en España.

Métodos: Se incluyeron los estudios que evalúan el perfil HLA-DQ2.5/8 en pacientes con EC en España. Se utilizó el método de la

Figura CO-4.3



varianza inversa y un modelo de efectos al azar cuando se evidenció heterogeneidad (estadístico $I^2 > 76\%$).

Resultados: La búsqueda electrónica detectó 199 publicaciones, de las que se incluyeron 12, con un total de 2963 pacientes. La frecuencia global de HLA-DQ2.5/8 negativo fue del 3% (IC95% 2-4; I^2 81%). Un subanálisis agrupando los estudios de la misma región geográfica mostró una frecuencia igual de HLA-DQ2.5/8 negativo pero menor heterogeneidad (I^2 36%). Entre 105 pacientes DQ2.5/8 negativo, se evidenció la presencia de la mitad del haplotipo DQ2.5 en 80 (55 DQB1+ y 25 DQA1+; en 5 no se describía) (80/100, 80%; $p = 0,022$ vs el estudio europeo). Por tanto, al menos 20 de 105 pacientes tenían ambos alelos de DQ2.5 negativos. La frecuencia global de ser negativo para los dos alelos de DQ2.5 y para DQ8 fue del 1% (IC95% 0-1; I^2 28%).

Conclusiones: 3% de pacientes con EC en España son DQ2.5/8 negativos. La frecuencia de EC con los dos alelos de HLA-DQ2.5 y DQ8 negativos es mayor en España que la descrita en el estudio europeo.

CO-5.2. EL ELISPOT Y LA CITOMETRÍA DE FLUJO COMO HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS PARA PACIENTES EN DIETA SIN GLUTEN

C. Escudero^a, G. González^b, V. Ruipérez^a, P. Redondo^c, E. García^b, J.A. Garrote^d, E. Arranz^a y L. Fernández^b

^aUniversidad de Valladolid-CSIC. ^bHospital Clínico Universitario de Valladolid. ^cUniversidad de Valladolid. ^dHospital Universitario Río Hortega, Valladolid.

Introducción: Actualmente no existe ningún test que permita el diagnóstico de la sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC), y ante pacientes que ya siguen una dieta sin gluten (DSG) el diagnóstico de la enfermedad celiaca (EC) es complicado.

Métodos: Se realizó una sobrecarga de gluten (15 g/día) durante 14 días a un grupo de pacientes con SGNC. Se obtuvieron biopsias duodenales a 0 y 14 días para el análisis de linfocitos intraepiteliales por citometría de flujo; y una muestra de sangre a 0, 7 y 14 días para analizar la producción de interferón (IFN)-gamma mediante ELISPOT. Se observó el número de células productoras de IFN-gamma en células cultivadas *in vitro* sin estimular o en presencia del péptido inmunodominante 33-mer o de gliadina pepsinizada-tripsinizada (gliadina-PT). Los resultados se han comparado con los de pacientes EC en actividad, EC en DSG y controles.

Resultados: En pacientes que siguen una DSG, el ratio de células estimuladas *in vitro* con gliadina-PT frente a células sin estímulo *in vitro* permite diferenciar a la EC de la SGNC. Además, la proporción de células NK y TCR $\gamma\delta$ antes de la sobrecarga y de células TCR $\gamma\delta$ tras la sobrecarga es diferente entre pacientes con SGNC y con EC en actividad.

Conclusiones: El uso conjunto del ELISPOT y la citometría de flujo podrían servir como herramienta para el diagnóstico diferencial de los pacientes con SGNC y con EC en DSG.

CO-5.3. TRANSFERIBILIDAD DE RESULTADOS DE AUTOANTICUERPOS ANTITRANSGLUTAMINASA DE CLASE IGA ENTRE DISTINTOS REACTIVOS COMERCIALES. NECESIDAD DE UN PATRÓN UNIVERSAL DE CALIBRACIÓN

C. Farré^a, M.C. Salgado^a, M. Molero^a, M. Batllori^a, C. Sánchez^b, J. Bertran^c, E. Lafitte^d e I. Fernández^e

^aHospital Universitari Sant Joan de Déu, Barcelona. ^bMenarini Diagnósticos S.A. ^cThermoFisher Diagnostics. ^dOrgentec Pallex Medical S.A.; Liaison DiaSorin. ^eWerfen.

Los autoanticuerpos antitransglutaminasa de clase IgA (ActGt-IgA) son fundamentales en el algoritmo diagnóstico de la enfermedad

celíaca (EC), su evolución con la dieta sin gluten es un reflejo de la reversión histológica intestinal. Los fabricantes de reactivos para ActGt-IgA no disponen de patrón universal de calibración ya que no se ha conseguido inducir su producción en modelos animales. Cada firma establece su modelo de calibración con suero humano y sus unidades, generando resultados distintos para un mismo paciente. Para dimensionar y difundir esta situación se analizan 90 muestras, durante distintos días, con una adecuada gradación de concentraciones de ActGt-IgA mediante: 1. DiaSorin S.p.A. LIAISON[®]tTG-IgA (Ref. 310320); CLIA; UA/ml y 2 puntos de recalibración; 2. ORGENTEC Diagnostika GmbH (Ref. ORG540A); ELISA; U/ml y 6 puntos de calibración; 3. EliA Celikey IgA (Ref. 14-5517-01) ImmunoCAP250; FEIA; U/ml y 6 puntos de calibración; 4. ZENIT RA t-TG IgA (Ref. 41422) ZENIT RA; CLIA; UA/ml y 2 puntos de recalibración; 5. QUANTA Flash[®]h-tTG-IgA (Ref. 701100) BIO-FLASH; CLIA; CU y 2 puntos de recalibración. La comparación de resultados de ActGt-IgA obtenidos por las cinco técnicas (10 pares), muestra que no son transferibles en ningún caso (Passing Bablok). Los coeficientes de correlación oscilan entre $r = 0,93$ y $r = 0,99$ y las rectas de regresión pasan prácticamente por el origen de coordenadas pero muestran pendientes que oscilan entre 1,1 y 9,2. Una misma muestra genera resultados muy dispares en función de la técnica utilizada. Se debe alertar a los clínicos de esta realidad. El laboratorio, ante un cambio de proveedor de reactivos, debe comunicar como repercute en el seguimiento serológico de los pacientes.

CO-6.1. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PÉPTIDOS DE GLUTEN EN HECES EN LACTANTES Y SU RELACIÓN CON LA DIETA

M. Roca^a, E. Donat^b, E. Masip^b, B. Polo^b, V. Fornes^c, A. González^a, P. Crespo^a y C. Ribes^b

^aUnidad de Enfermedad Celíaca e Inmunopatología Digestiva, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia.

^bGastrohepatología Pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia. ^cUnidad de Bioestadística, IIS La Fe, Valencia.

Objetivos: Establecer los valores de corte de péptidos de gluten en heces (GIP) en función de una ingesta de gluten cero.

Métodos: Estudiamos 32 lactantes, 0-6 meses, que no consumían gluten (Grupo 1): 15 LM exclusiva y 8 lactancia mixta (madres consumían gluten), 9 lactancia artificial (LA). Grupo 2: 16 lactantes de 6-24 meses con LM o LA y cereales con gluten. 48 muestras de heces (1/paciente) fueron analizadas mediante un método inmunocromatográfico rápido (MIR): iVYCheck GIP Stool, límite de detección 0,3 $\mu\text{gGIP/g}$ heces, y un ELISA: iVYLISA GIP-S, rango de medida de 0,156-5 $\mu\text{gGIP/g}$ de heces (Biomedal), ambos basados en el anticuerpo anti-gliadina 33-mer G12.

Resultados: Por ELISA en el grupo 1 todos presentan valores $< 0,156 \mu\text{gGIP/g}$, siendo el resultado del MIR también negativo en todos. En el grupo 2, todos tenían $> 0,156 \mu\text{gGIP/g}$, media y rango 11,15 (0,56-46,79) $\mu\text{gGIP/g}$; el consumo medio de gluten diario calculado a partir de un registro dietético fue de 1,50 (0,5-10,5) g (mediana y rango); MIR negativo en 4/16. El índice de concordancia Kappa Fleiss ($\kappa = 0,79$) indica una concordancia moderada entre ambos métodos.

Conclusiones: Ambos métodos ELISA y MIR alcanzan una alta especificidad, sin embargo el ELISA presenta una mayor sensibilidad. Las variaciones en los niveles de GIP a pesar de un consumo equiparable de gluten podrían estar relacionadas con factores GI individuales. Son necesarios más estudios para conocer la sensibilidad real del MIR, la correlación entre ambos métodos y entre la ingesta de gluten y la recuperación de GIP para poder establecer recomendaciones de uso en pacientes celíacos.

Agradecimientos: Proyecto financiado por la Asociación de Celíacos y Sensibles al gluten de la Comunidad de Madrid.

Tabla CO-6.2

	Diagnóstico	3 meses	6 meses	12 meses	Significación
Media z score peso	-0,84 (DE 0,86)	-0,57 (DE 0,85)	-0,43 (DE 0,85)	-0,30 (DE 0,87)	p < 0,001
Media z score talla	-0,56 (DE 1,05)	-0,58 (DE 1,05)	-0,39 (DE 1,04)	-0,26 (DE 1,06)	p < 0,001
Media z score IMC	-0,74 (DE 0,90)	-0,32 (DE 0,92)	-0,28 (DE 0,86)	-0,23 (DE 0,86)	p < 0,001
Media índice nutricional	90,22 (DE 11,24)	93,67 (DE 12,05)	94,67 (DE 10,69)	95,93 (DE 13,18)	p < 0,001

CO-6.2. EVOLUCIÓN DE LA ANTROPOMETRÍA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON ENFERMEDAD CELÍACA DURANTE EL PRIMER AÑO DE DIETA SIN GLUTEN

V. Díez^a, V. Etayo^a, E. Aznal^a, M. Palacios^b, E. Bandrés^c y F. Sánchez-Valverde^a

^aGastroenterología y Nutrición Pediátrica; ^bLaboratorio de Bioquímica; ^cLaboratorio de Inmunología HLA, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona.

Introducción: El único tratamiento para la enfermedad celiaca (EC) es la dieta sin gluten (DSG). Con ella, la mayoría de los pacientes con bajo peso y talla baja al diagnóstico normalizan estos parámetros. Nuestro objetivo es estudiar la evolución del peso, la talla, el IMC y el índice nutricional (IN) en los pacientes pediátricos con EC el primer año de DSG.

Métodos: Estudio observacional retrospectivo de pacientes pediátricos (menores de 15 años) diagnosticados de EC entre enero de 2009 y junio de 2014. Variables recogidas: sexo, edad, peso, talla, IMC e IN al diagnóstico y a los 3, 6 y 12 meses tras la instauración de la DSG. Utilizamos SPSS versión 20.

Resultados: Estudiamos 263 pacientes. La edad media al diagnóstico fue 5,2 años ($\pm 3,86$). El 58,6% fueron mujeres. Al diagnóstico, la media del z score del peso fue -0,84 ($\pm 0,86$), la de la talla -0,56 ($\pm 1,05$), la del IMC -0,74 ($\pm 0,90$) y la media del IN 90,22 ($\pm 11,24$). El peso, el IMC y el IN mejoraron significativamente ($p < 0,001$) a los 3, 6 y 12 meses, siendo la mejoría más marcada a los 3 meses de DSG. La talla mejoró a partir de los 6 meses de DSG (tabla).

Conclusiones: Peso, IMC e IN mejoran significativamente a partir de los 3 meses de DSG. La mejoría de la talla se retrasa hasta los 6 meses de DSG. El IMC y el IN evolucionan de forma paralela.

CO-6.3. EFECTO DE LA DOSIS GÉNICA EN UNA COHORTE DE ENFERMOS CELÍACOS PEDIÁTRICOS DE LA COMUNIDAD DE MADRID

K. Llano^a, N. Zapata^a, E. Rodríguez^a, K. Guevara^a, A. Bodas^b, S. Sánchez^a y M. Fernández^a

^aServicio de Inmunología Clínica; ^bServicio de Pediatría, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Introducción: La enfermedad celiaca (EC) es un desorden sistémico de naturaleza autoinmune causado por la ingesta de gluten. Se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas, anticuerpos específicos, haplotipos HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 y enteropatía. La EC se presenta en personas con una predisposición genética, cuyos marcadores genéticos son útiles en el diagnóstico de la EC, dado que aproximadamente un 92% de los pacientes celiacos son HLA-DQ2 positivos y en torno al 5-10% son HLA-DQ8 positivos. El objetivo del presente estudio es caracterizar el efecto de la dosis génica en la susceptibilidad a la enfermedad celiaca en pacientes pediátricos DQ2 positivos: DQA1*0501/DQB1*0201.

Métodos: Se estudiaron 200 pacientes pediátricos de la Comunidad de Madrid y 200 controles sanos. Se realizó el aislamiento de DNA de forma automática (MagnaPure). Se utilizó la tecnología de Luminex para el estudio de los loci HLA-DRB1, DQA1 y DQB1.

Resultados: Se encontró la presencia de los genes DQA1*0501/DQB1*0201 en 92,5% de los pacientes frente 25,5%; $p < 10^{-7}$. Cuando se estudio el efecto dosis del gen DQB1*02, se encontró en el 50% de los pacientes frente 3% de los controles $p < 10^{-8}$.

Conclusiones: En este estudio se encuentra asociado el gen DQB1*02 como efecto de dosis en los individuos DQA1*0501/DQB1*0201 con una mayor susceptibilidad a la enfermedad, posiblemente por tener más capacidad de presentación antigénica de los péptidos derivados del gluten.