

TRABAJO FIN DE
GRADO

OTROS FACTORES AMBIENTALES EN LA ENFERMEDAD CELIACA

Revisión sistemática



Universidad de Valladolid



Juan José Rojo Martín

TUTOR: Dr. Eduardo Arranz Sanz

ÍNDICE

1. Resumen.....	p. 2
1.a) Abstract.....	p. 2
1.b) Palabras clave.....	p. 2
1.c) Key words.....	p. 3
1.d) Abreviaturas.....	p. 3
2. Introducción.....	p. 3
2.a) Objetivo.....	p. 5
2.b) Método y materiales.....	p. 5
3. Resultados.....	p. 6
3.a) Papel de las infecciones víricas en la enfermedad celiaca.....	p. 6
3.a.1) Reovirus y enfermedad celiaca.....	p. 7
3.a.2) Rotavirus.....	p. 9
3.a.3) Adenovirus.....	p. 10
3.a.4) Virus de hepatitis C (VHC).....	p. 11
3.b) Otros agentes infecciosos.....	p. 11
3.b.1) Campylobacter jejuni.....	p. 12
3.b.2) Helicobacter pylori.....	p. 12
3.b.3) Toxoplasma Gondii.....	p. 14
3.c) Influencia de las infecciones perinatales y de la infancia en el desarrollo de la enfermedad celiaca.....	p. 14
3.c.1) Infecciones en embarazo y periodo neonatal.....	p. 19
4. Conclusiones.....	p. 21
5. Bibliografía.....	p. 22
6. Anexos.....	p. 25

1. RESUMEN

El factor ambiental principal implicado en el desarrollo de la enfermedad celiaca es la ingesta de gluten, teniendo en cuenta tanto la cantidad como la frecuencia de ingestión y no menos importante, la edad y la forma de introducción del gluten en la dieta, aunque estos últimos no han sido confirmados.

Se han propuesto otros factores ambientales para el desarrollo de la enfermedad, además del ya citado, aunque los resultados de los que disponemos actualmente son algo contradictorios.

Las infecciones virales agudas en niños, por tales gérmenes como Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus, entre otros, pueden ser un factor ambiental asociado al desarrollo de enfermedad celiaca en la infancia. De esta forma, la vacunación contra este tipo de virus entero-lesivos podría tener un efecto protector.

El uso de antibióticos en los primeros meses de vida puede ser un factor que aumente la incidencia de casos de esta enfermedad mediante la modificación de la microbiota.

1.a) ABSTRACT

The main environmental factor for the development of celiac disease is gluten intake, with regards to quantity, frequency and age of gluten introduction in diet.

Many environmental factors have been proposed for CD even though results are controversial actually.

Viral acute infections in kids, such as Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus, may be an important factor associated with development of CD at childhood. This way, vaccination against those virus might have a protective effect.

Using antibiotics at first months of life could increase incidence of CD by changing composition of gut microbiota.

1.b) PALABRAS CLAVE

Enfermedad celiaca, infecciones, vacunas, factores ambientales, agentes infecciosos, vacunación infantil.

1.c) KEY WORDS

Coeliac disease, infections, vaccine, enviromental factors, infectious agents, child vaccination.

1.d) ABREVIATURAS

EC- Enfermedad celiaca. CPA- Células presentadoras de antígenos.

Treg- Linfocitos T reguladores.

2. INTRODUCCIÓN

La EC es una enfermedad crónica de naturaleza autoinmune que se basa en una intolerancia permanente a las proteínas del gluten, las cuales producen una reacción inflamatoria en el intestino delgado. Esto ocurre en individuos con una susceptibilidad genética determinada que depende de alelos que codifican HLA DQ2/DQ8 (HLA-DQ2 se encuentra en 90-95% de los celíacos y HLA-DQ8 en un 5%). Aunque se trata de una patología primariamente del intestino delgado, puede producir manifestaciones en órganos fuera del tracto gastrointestinal (de ahí que se considere una enfermedad multisistémica). (1), (3)

La susceptibilidad genética y los factores ambientales provocan una pérdida de tolerancia a las proteínas del gluten, que se encuentran en cereales como el trigo, la cebada y el centeno. (4) Se produce una digestión incompleta del gluten por las peptidasas gástricas, pancreáticas y del borde en cepillo intestinal (marcada ausencia de Prolil-endopeptidasa PEP), que lleva a la formación de péptidos de gran tamaño que atraviesan el epitelio intestinal mediante vías transcelular o paracelular y llegan a la lámina propia mucosa. Esto produce una reacción del sistema inmunitario adaptativo (mediada por linfocitos T CD4+) dependiente de la desaminación de estos péptidos por el enzima Transglutaminasa tisular tipo 2 (TG2), causando lesiones en las vellosidades del intestino delgado (Duodeno, sobre todo) que llevan a un estado de malabsorción intestinal con un descenso de absorción de nutrientes.

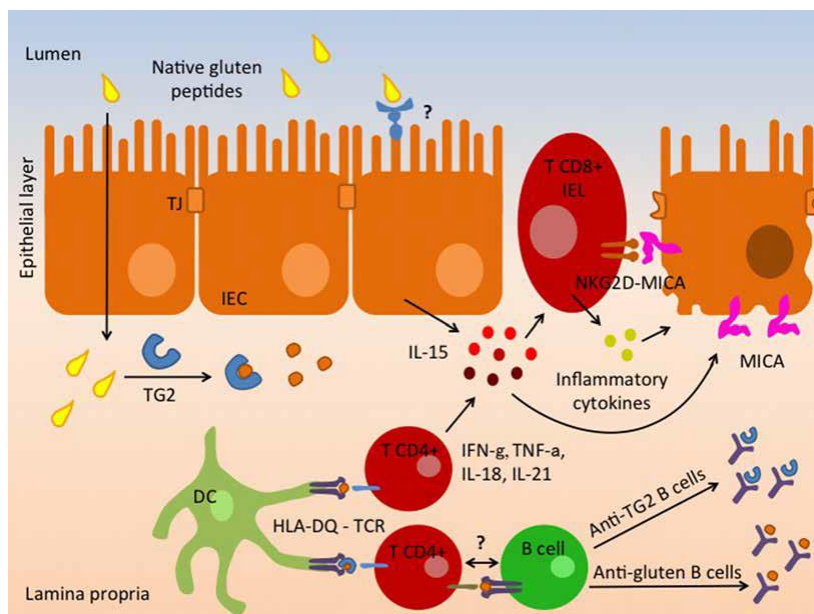


Imagen tomada de referencia (1)

En cuanto a la inmunopatología de la EC, los péptidos del gluten llegan al intestino delgado y llegan hasta la lámina propia intestinal donde la TG2 modifica los péptidos del gluten mediante desaminación (cambia Glutamina por Ácido Glutámico), de esta forma las moléculas HLA-DQ de las CPA (DC en la imagen) presentan mayor afinidad por estos péptidos y los presentan a los linfocitos T CD4+. De esta forma los linfocitos T son activados, a través de la unión HLA-DQ con el receptor de células T (TCR), y comienzan a sintetizar citocinas como INF- γ , TNF- α , IL-18 e IL-21, produciendo una gran reacción inflamatoria. Estos linfocitos T CD4+ también son capaces de activar a los linfocitos B que se transforman en células Plasmáticas capaces de sintetizar anticuerpos que van a ir dirigidos contra los péptidos del gluten y contra la TG2. Las células del epitelio intestinal (IEC) son capaces de producir IL-15 tras estar expuestas a los péptidos de gluten. En general, las citocinas proinflamatorias secretadas por los linfocitos T CD4 activados inducen la expresión en las IEC de glicoproteínas de estrés (MICA) en su membrana, que van a activar a los linfocitos T intraepiteliales (IEL) CD8+ mediante su unión con los receptores NKG2D. Tales linfocitos T CD8+ intraepiteliales activados destruyen las IEC aumentando la permeabilidad intestinal. (1)

Estudios epidemiológicos recientes mostraron que la prevalencia de EC está infraestimada entre las poblaciones de las regiones Mediterráneas (2) (Europa, Oriente medio, norte de África...). La prevalencia en la población general varía

en torno 0.14%-1.17%. En los grupos de alto riesgo (pacientes con H^a familiar, DM1, tiroiditis), la prevalencia oscila en torno 2.4-44%. En general, se estima una tasa de prevalencia de 1% de casos/población total, muchos de ellos sin diagnosticar. Se prevé un aumento de la prevalencia de EC en años próximos.

El único tratamiento para esta enfermedad es el seguimiento de por vida de una dieta exenta de gluten.

Todos los estudios que hay y los datos sobre esta enfermedad hacen sugerir la existencia de tres factores fundamentales que producen el desarrollo de reacciones inmunitarias a antígenos de la dieta: 1) Los antígenos que desencadenan la pérdida de tolerancia y la respuesta inmunitaria. 2) Microorganismos en el aparato digestivo. 3) Predisposición genética. (6)

2.a) OBJETIVO

En los últimos años se ha producido un aumento de la prevalencia de la EC y esto no puede deberse exclusivamente a cambios en factores genéticos, sino a otros factores ambientales además del gluten como por ejemplo las infecciones.

Por esta razón voy a realizar una revisión sistemática sobre factores ambientales que desencadenan el desarrollo de la EC, con especial atención en las infecciones víricas y bacterianas, en mayor medida en niños, pero también en adultos, y analizar su posible relación con el desarrollo de la enfermedad.

Explorar la posibilidad de que la vacunación contra esos virus pueda resultar un factor de protección, y así proponer cambios en el calendario vacunal.

2.b) MÉTODO Y MATERIALES

Se ha utilizado la base de datos de PubMed buscando con la siguiente referencia "infections and risk of celiac disease", obteniendo un total de 225 resultados de búsqueda. Utilizando los siguientes filtros de búsqueda: artículos en inglés, publicaciones de los últimos 10 años y texto completo disponible gratuitamente se obtuvieron 71 resultados de búsqueda. De estos 71 artículos se han descartado varios porque no se centraban en el objetivo de mi trabajo, sino en la susceptibilidad de los celíacos para sufrir enfermedades infecciosas y en otros temas no relevantes para este trabajo.

De esta manera, se ha trabajado sobre 28 artículos así seleccionados. Solamente están incluidos en la bibliografía estos últimos, cuyos datos aportados eran más relevantes para la realización de este trabajo, debido a la limitación de espacio para mostrar la totalidad de artículos revisados y previamente descartados.

Siguiendo la estrategia PICO:

-P (pacientes): Artículos que incluyen fundamentalmente niños, pero también adultos, con y sin predisposición genética para desarrollar Enfermedad celiaca.

-I (intervención): ¿Qué relación tienen las infecciones víricas o bacterianas sobre el desarrollo de enfermedad celiaca? ¿Tiene relación la edad a la que se sufren determinadas infecciones para predisponer a desarrollar celiaquía?

-C (comparación): Población general.

-O (resultados): Relación significativa entre el padecimiento de ciertas enfermedades infecciosas y el desarrollo de enfermedad celiaca. Prevención.

3. RESULTADOS

3.a) Papel de las infecciones víricas en la enfermedad celiaca

La tolerancia inmunológica es la clave fundamental para prevenir reacciones inmunológicas contra antígenos inocuos de la dieta. Varios estudios, pero sobre todo Bouziat et al 2017 (5), ponen de manifiesto como las infecciones víricas (la mayoría asintomáticas) podrían alterar esta tolerancia inmunológica a ciertas proteínas de la dieta, pudiendo desencadenar distintas enfermedades tanto autoinmunes (como la EC), como alergias alimentarias.

Hay dos grandes vías inmunológicas involucradas en la EC: (6) (14)

- 1) Una respuesta inmunitaria adaptativa que provoca la activación y proliferación de células T que generan Interferón- γ . Esta vía incluye también la formación de células plasmáticas (linfocitos B activados) productoras de anticuerpos. Pero, para que se lleve a cabo esta vía, ambos linfocitos T necesitan que las CPAs se unan a sus receptores llevando en sus complejos mayores de histocompatibilidad de clase II (HLA-DQ2 o HLA-DQ8) un péptido de gluten. Esto es facilitado por la desaminación de los péptidos del gluten llevada a cabo por la enzima

Transglutaminasa II, que se encuentra en el intestino humano. Es también la principal diana de los anticuerpos en la EC.

- 2) La segunda vía, es la activación de una respuesta inmunitaria innata, un proceso de toxicidad sobre epitelio intestinal. Las células que intervienen son los linfocitos intraepiteliales T CD8+ que existen en tracto gastrointestinal de los humanos. Estos linfocitos se activan y se transforman en linfocitos citotóxicos, gracias al aumento de la expresión de citocinas tales como IL-15. Esta vía puede producir una pérdida de la tolerancia inmunológica al gluten y producir el desarrollo del proceso autoinmune. También va a provocar la atrofia de vellosidades intestinales descrita en la EC.

Las infecciones víricas rompen la homeostasia intestinal y pueden promover ambas vías inmunopatológicas que son responsables de la intolerancia a ciertos antígenos de la dieta, como por ejemplo el gluten en la EC.

El periodo neonatal es el más susceptible de padecer infecciones víricas en la mucosa intestinal ya que el sistema inmunitario está inmaduro y depende fundamentalmente de factores inmunológicos preformados y transferidos por la madre. En un estudio en Suecia (2002) se compararon datos perinatales de 3.392 niños que habían desarrollado EC con otros sanos nacidos todos entre 1987-1997. Después de ajustar múltiples factores maternos y de los propios sujetos, se llegó a la conclusión de que los principales factores de riesgo para desarrollar EC son la exposición a infecciones neonatales (OR= 1.52 con IC95% (1.19-1.95) y tener bajo peso para la edad gestacional. Ambos son factores de riesgo independientes. (8)

A pesar de que hay estudios que implican las infecciones víricas con el desarrollo de enfermedades autoinmunes, en especial con la EC, no es probable que todos los casos de esta enfermedad sean producidos por infecciones víricas. (7)

3.a.1) Reovirus y enfermedad celiaca.

El principal estudio sobre la posible implicación de los Reovirus en el desarrollo de la EC es el de Bouziat et al de 2017 (5). Su principal limitación es que se trata de un estudio de investigación en el que se emplean modelos de ratones.

Los Reovirus son virus ARN de doble cadena que infectan a los humanos en repetidas ocasiones a lo largo de su vida y en los niños estas infecciones son comunes, en la mayoría de ocasiones son asintomáticas. (7)

Los resultados del estudio de Bouziat et al 2017 (5) prueban un mecanismo de unión entre las infecciones víricas, incluyendo las asintomáticas, y el desarrollo de intolerancias alimentarias como la EC. En este estudio se utilizaron modelos de ratones a los que se les indujo primero una predisposición genética a la EC y después se les inoculó por vía oral dos cepas de Reovirus obtenidos mediante ingeniería genética para asegurar su patogenicidad intestinal (T1L y T3D).

En este estudio se ha demostrado que los Reovirus pueden activar la respuesta inmunitaria adaptativa contra los péptidos del gluten a través de la activación de la Transglutaminasa II, que incrementa la afinidad de los mismos por las moléculas MHC-II de las CPA. Estas CPA presentan el antígeno unido a MHC-II a los linfocitos T, que se diferencian en Th1. En el estudio se indica que hay una mayor producción de Interferón- γ que a su vez implica una expresión elevada del Factor de transcripción IRF1 (Factor regulador de Interferón 1) que está implicado en bloquear la conversión de los linfocitos T en Treg (mantienen la tolerancia inmunológica) y promover la formación de más linfocitos Th1. Esto es posible gracias a que IRF1 hace que las CPA sintetizen citocinas como IL12 e IL27, que estimulan la diferenciación a Linfocitos Th1. (Anexo 1) (6)

Estos linfocitos Th1 desencadenan una respuesta inmunopatológica que culmina con la producción de anticuerpos contra el gluten, la Transglutaminasa II y contra los Reovirus.

Bouziat et al 2017 (5) también estudió los títulos de anticuerpos anti-Reovirus en pacientes celíacos en el momento del diagnóstico y tras realizar una dieta exenta de gluten. Se observó que los pacientes celíacos tienden a tener elevados títulos de anticuerpos anti-Reovirus, y entre estos individuos se descubrieron niveles aumentados de expresión de IRF1.

Las fortalezas de este estudio son la importancia del componente microbiológico, junto con otros factores ambientales, en el desarrollo de procesos inflamatorios crónicos y autoinmunes. Pero son necesarios más estudios ya que no se ha encontrado una clara relación entre el aumento de títulos de anticuerpos con la

respuesta inflamatoria. También se propone la investigación con otros virus enteropatógenos (o no) que puedan usar otras vías para desencadenar respuestas inmunes similares en pacientes contra antígenos de la dieta.

Este estudio sugiere una posibilidad de que una vacunación preventiva contra el Reovirus produzca una protección en ciertos casos de riesgo para el desarrollo de la EC, pero sería muy difícil de llevar a cabo. (7)

3.a.2) Rotavirus.

Los Rotavirus son unos virus ARN bicatenarios pertenecientes a la familia Reoviridae, que pueden afectar tanto al tracto gastrointestinal como al respiratorio de los animales vertebrados. En 2007 Trocone et al llevaron a cabo una revisión de dos estudios en los que se investigaba la relación de estos virus con el desarrollo de EC y otras enfermedades autoinmunes. (9)

En el primer estudio se encontró que las infecciones por Rotavirus, sintomáticas o no, provocaban un aumento en el riesgo de desarrollar EC. Se llevó a cabo el estudio obteniendo la evidencia de infección por Rotavirus mediante el seguimiento en el título de anticuerpos anti-rotavirus en los sujetos del estudio.

En el segundo, se reconoció una secuencia peptídica en el suero de pacientes con enfermedad celiaca no tratada que tenía una gran homología con la proteína VP7 de los Rotavirus (serotipo 1). Se observó también la homología de esta secuencia peptídica con la Transglutaminasa II intestinal y con los receptores TLR-4. Por tanto, los anticuerpos dirigidos contra esa secuencia peptídica y contra el Rotavirus, tienen una reactividad cruzada con la Transglutaminasa II y con los TLR4, lo que tendría consecuencias sobre la permeabilidad intestinal. Se llegó a la conclusión de que los Rotavirus desencadenan la EC en pacientes con predisposición genética induciendo una respuesta inmunitaria innata, a partir de los TLR4, y adaptativa, a través de anticuerpos dirigidos contra Transglutaminasa II.

Estos estudios aportaron luz sobre la patogenia de la EC, los mecanismos de inducción de autoanticuerpos y como éstos contribuyen al daño sobre la mucosa intestinal. Se sugirió un posible papel de los Rotavirus para el desarrollo de EC en individuos genéticamente predispuestos, debido a su capacidad para

estimular una respuesta inmunitaria patológica, tanto innata como adaptativa, en el intestino delgado.

La introducción del gluten en la dieta al mismo tiempo en el que existe una inflamación intestinal producida por infecciones víricas, Rotavirus, puede producir alteración de la permeabilidad intestinal, producción consecuente de Interferón que aumenta la expresión en las células dendríticas de moléculas HLA-DQ2 y HLA-DQ8 que aumentan el riesgo de padecer EC.

Estos estudios abren una nueva era de posible prevención de EC mediante nuevas estrategias de vacunación contra el rotavirus. Son necesarios más estudios sobre este tema, incluso haciendo hincapié en la modificación del calendario vacunal infantil (9)

3.a.3) Adenovirus

Los Adenovirus son una familia de virus no encapsulados de ADN bicatenario que infectan tanto a humanos como a otros animales. Son aislados frecuentemente en el tracto intestinal, pero pueden producir otro tipo de enfermedades en el ser humano (tracto respiratorio, conjuntivitis...).

Ciertos estudios han relacionado la infección intestinal por Adenovirus con el desarrollo de EC. En una revisión del 2009 (8) se encontró que en un estudio previo el 89% de celíacos sin tratar y un 30-33% tratados, mostraban evidencia de una infección previa por Adenovirus 12 (Ad 12), comparados con un grupo control (0-12.8%).

Una posible explicación es que una región de la A-Gliadina comparte una secuencia homóloga de aminoácidos con una proteína del Adenovirus 12 (proteína 54-kD E1b). Los anticuerpos dirigidos contra esta proteína del Ad12 podrían tener reacción cruzada y unirse a A-Gliadina. De esta forma se produciría el inicio de la intolerancia al gluten. (8) (14)

Por el contrario, en esta misma revisión del 2009 (8) se habla de otros estudios que han fracasado en la demostración de que la infección por Adenovirus 12 pueda desencadenar la EC. Esto se debe a que el Adenovirus 12 se encuentra frecuentemente en el intestino de individuos sin EC.

Finalmente, la patogenia de estos anticuerpos contra Ad12 y su reactividad cruzada con A-Gliadina está todavía por determinar, ya que no se ha encontrado una evidencia clara de su relación con el desarrollo de EC.

3.a.4) Virus de Hepatitis C

El virus de la Hepatitis C es un virus ARN monocatenario. En una revisión publicada en 2009 por Amital et al (8) se recogieron varios estudios que descubrieron una relación entre infección por VHC y desarrollo de EC.

En otro trabajo de Ruggeri et al en 2008 (10) se estudió serología de EC (anticuerpos anti-Transglutaminasa y anti-Endomisio) en sujetos infectados por VHC a los que también se cuantificaron títulos de anticuerpos no órgano-específicos, como marcador indirecto de autoinmunidad. Se recogieron muestras de 244 pacientes VHC+, 121 VHC- con otro tipo de enfermedad hepática y 1230 donantes de sangre como control. En los pacientes VHC+ se encontró serología + para EC en 2% de los 244, 0.8% en los VHC- y 0.16% en los controles; Observándose una diferencia significativa entre controles y VHC+ ($p=0.02$; $OR=12.8$; $IC95\% 2.4-66$). Por tanto, se concluyó que VHC es la enfermedad hepática que más asociación tiene con el desarrollo de EC.

En contraste con el papel bien documentado de la infección por VHC en la producción de autoanticuerpos y desarrollo de EC, no se encontró evidencia significativa con respecto a VHB. (8)

3.b) Otros agentes infecciosos.

En los últimos años se han descrito varios agentes infecciosos no víricos, (8) si no bacterianos que son patógenos gastrointestinales y que pueden producir una inflamación de la mucosa intestinal, pudiendo estar asociados en algunos casos con el posible desarrollo de EC. Este es el caso de *Campylobacter jejuni* o *Giardia lamblia* entre otros.

También se ha documentado la posibilidad de que la colonización por *Helicobacter pylori* pueda tener un efecto protector en el desarrollo de la EC. De hecho, hay un estudio de 2013 (12) en el que se observó una asociación inversa entre la presencia de *H. pylori* y EC.

3.b.1) *Campylobacter jejuni*

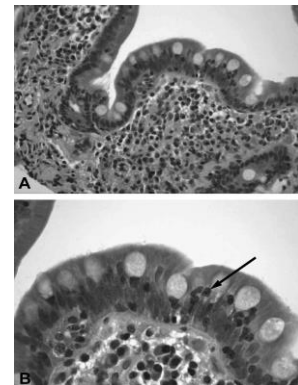
Se trata de un caso clínico publicado por Verdu et al en 2007 (11). Una mujer, que no tenía antecedentes de interés, desarrolló un cuadro clínico compatible con enfermedad inflamatoria intestinal que, tras varias pruebas resultó positiva para *Campylobacter jejuni*.



Ante la persistencia de su cuadro abdominal. Se realizó una gastroscopia tomando biopsias duodenales reportadas como normales salvo por aumento de linfocitos intraepiteliales y en lámina propia (flecha). En la analítica se observó déficit de Vit. B12, Ferritina y Ácido fólico, además de intolerancia a la lactosa +. Fue diagnosticada de

Intestino irritable postinfeccioso.

A los 5 años persistía el déficit de Ferritina pese a suplementación oral. En la analítica los Anticuerpos Transglutaminasa-II fueron +. Se realizó una gastroscopia con biopsias duodenales reportando una leve-moderada atrofia de las vellosidades duodenales. Fue diagnosticada, por lo tanto, de EC en el contexto de una postinfección intestinal de *Campylobacter jejuni*.



Se necesitan más estudios para poder llegar a la evidencia de como una enteritis por *C. jejuni* puede producir EC. Una hipótesis podría ser la pérdida de la barrera intestinal al producirse la inflamación y también un proceso de mimetismo molecular que pusiera en marcha la respuesta inmune patológica de la EC. La conclusión que se puede sacar de este caso es que ante síntomas inespecíficos intestinales que no mejoran o que se producen después de una enfermedad intestinal, hay que tener presente la EC en el diagnóstico diferencial. (13)

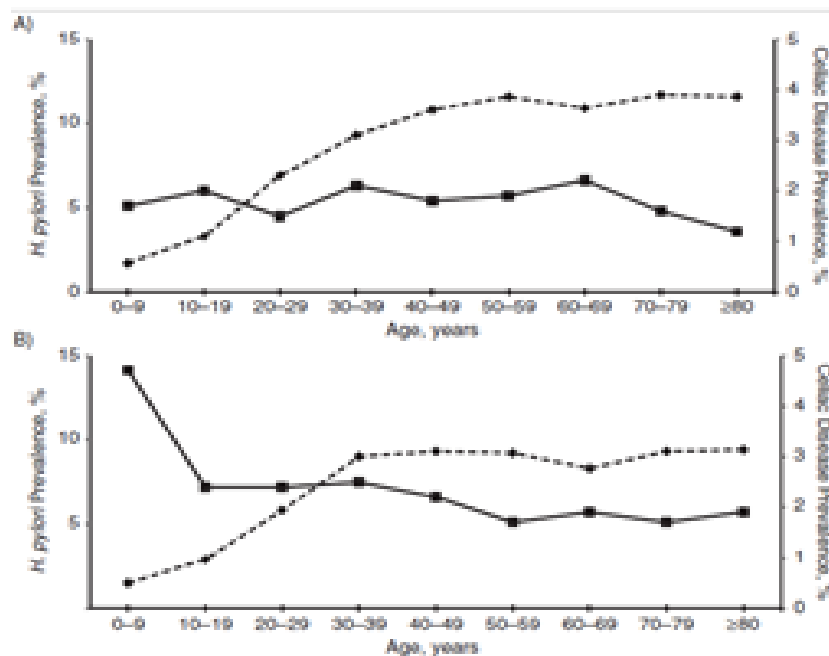
3.b.2) *Helicobacter pylori*

En un artículo publicado en 2013 por Lebwohl et al (12) se analizaron biopsias gástricas y duodenales, procedentes de una base de datos nacional de US, de 136.179 pacientes desde 2008 a 2012.

De los 2689 celíacos que se incluyeron en el estudio, se detectó *H. pylori* solo en 117 pacientes (4.4% del total). Según los datos obtenidos, *H. pylori* es

significativamente menos frecuente en pacientes celíacos que en pacientes sanos (8.8%; $p < 0.0001$). Se ajustaron los datos según las variables: edad, sexo y estatus socioeconómico (Medicaid o no); y se vió que la relación inversa entre EC y *H. pylori* apenas se modificaba. Por el contrario, se observa que la prevalencia de *H. pylori* es mayor en personas con linfocitosis intraepitelial y con biopsia normal (13.3%). (Anexo 2)

La relación inversa entre la presencia de *H. pylori* y EC es similar en la mayoría de los grupos de edad y también al comparar hombres y mujeres (Anexo 3). La prevalencia de *H. pylori* aumenta con la edad de los pacientes estudiados, mientras que la prevalencia de la EC es mayor en los grupos de menor edad (aunque esto no se ve en hombres).



Gráfica tomada de referencia (12). Prevalencia de *H. pylori* en celíacos, por edad y género. Datos obtenidos mediante gastroscopias. A) Hombres B) Mujeres. Línea continua: EC. Línea discontinua: *H. pylori*.

En este estudio se demuestra una relación inversa entre la colonización por *H. pylori* y el desarrollo de EC entre los pacientes estudiados mediante biopsias duodenales y gástricas. Este resultado abre una posibilidad al efecto protector que puede tener *H. pylori* sobre el desarrollo de EC. El mecanismo por el que esto ocurre está por aclarar. Una posibilidad es el efecto reclutador de linfocitos T en la mucosa gástrica que tiene el *H. pylori* y que pueden impedir que se lleve a cabo la respuesta inmonopatológica característica de la EC por disminución en la activación de linfocitos T. Otra hipótesis es que *H. pylori* pueda afectar a la

estructura molecular del gluten mediante el pH o las proteasas gástricas, reduciendo así su inmunogenicidad en el intestino. (12) (13)

La mayor fortaleza de este estudio es el gran número de sujetos estudiados, pero una de sus limitaciones es que el diagnóstico de EC es exclusivamente histológico. Son necesarios estudios adicionales para probar y examinar como *H. pylori* es capaz de reducir la inmunogenicidad del gluten en los individuos con predisposición genética.

3.b.3) Toxoplasma Gondii

Las infecciones provocadas por parásitos, tanto crónicas como latentes pueden aumentar el riesgo de desarrollar EC (16). En el estudio realizado en 2012 por Severance et al, se llegó a la conclusión de que la infección por *T. gondii* podría estar conectada con el desarrollo de esta enfermedad.

Este estudio está basado en un experimento en ratones a los que se les infectó con *T. gondii* mediante exposición intraperitoneal, oral y prenatal, comparándolos con controles no infectados. A todos se les dio un alimento para roedores a base de trigo.

Se observó que en los ratones infectados por vía intraperitoneal la mortalidad era muy aumentada. En los ratones infectados por vía oral se observó un aumento de los casos de EC sobre todo en las hembras ($p \leq 0.009$) con respecto a los no infectados ($p \leq 0.00001$). Y en los ratones infectados de forma prenatal, el desarrollo de la enfermedad fue mayor en los nacidos de madres infectadas que en los nacidos de madres sanas ($p \leq 0.00001$). (15)

La mayor debilidad de este estudio es que está hecho en ratones. Hacen falta más estudios para investigar el mecanismo por el cual *T. gondii* aumenta el riesgo de desarrollar EC.

3.c) Influencia de las infecciones perinatales y de la infancia en el desarrollo de la enfermedad celiaca

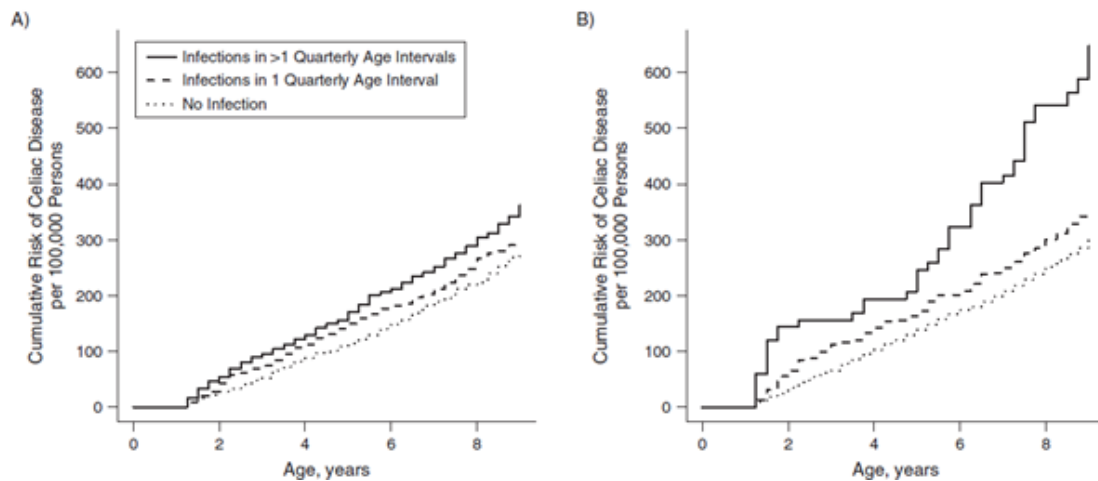
Sobre este tema hay una gran controversia entre los diferentes estudios publicados. La mayoría establecen una relación significativa entre las infecciones ya sean víricas o bacterianas, fundamentalmente del aparato gastrointestinal, pero también del respiratorio y el desarrollo de EC. Sin embargo, un artículo

publicado en 2016 por Mårild et al concluye que solo hay una evidencia circunstancial de que los factores ambientales (infecciones, introducción del gluten en la dieta, tabaco durante el embarazo entre otros) sean relevantes en el desarrollo de esta enfermedad. Este artículo se basa en la idea de que hay pocos datos epidemiológicos y pocos estudios de investigación sobre esta relación entre infecciones perinatales y EC. (17)

Con anterioridad a este artículo, destaca un estudio poblacional prospectivo realizado en 2010 por Welander et al, que incluía casi 10.000 niños, en el que tampoco se observa relación ninguna entre las infecciones en los primeros meses de vida y el desarrollo de EC. El trabajo concluye que la mayor parte de los niños incluidos en este estudio que presentaban enfermedad infecciosa en los primeros meses de vida o incluso coincidiendo con la introducción del gluten en la dieta, no desarrollaron EC en una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los controles. (24)

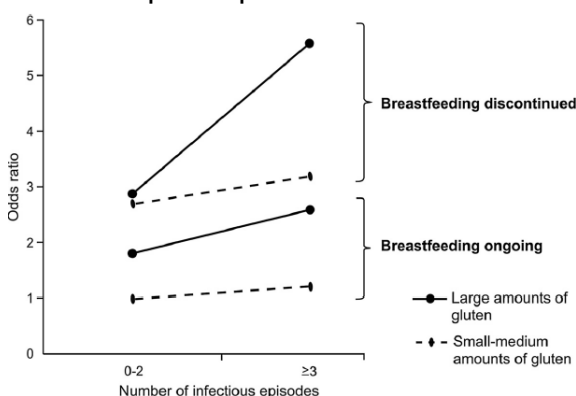
La presencia de infecciones gastrointestinales, e incluso respiratorias, de repetición sobre todo en el primer año de vida está asociado con un aumento del riesgo de desarrollo de EC en los años siguientes y varios estudios apoyan esta afirmación:

Un estudio de 2017 realizado en Alemania por Beyerlein et al, estudió 295.420 recién nacidos a los que se sometió a un seguimiento de hasta los 8.5 años, recogiendo todas las infecciones que padecían según CIE-10. En total, 10.853 niños fueron diagnosticados de EC a edad media de 5 años, pero 95.5% de ellos fueron diagnosticados en el primer año de vida. Se observó que el riesgo de la enfermedad era mayor en los niños que habían padecido infecciones gastrointestinales en el primer año de vida (HR=1.32, 95% I.C. (1.12-1.55)). La asociación es más débil en los niños con infecciones respiratorias en el primer año (HR=1.22 95% I:C: (1.04-1.43)). Se concluyó que las repetidas infecciones respiratorias y, particularmente, gastrointestinales incrementan el riesgo acumulativo de desarrollar EC en los siguientes años. (18)



Gráfica tomada de referencia (18). Riesgo de desarrollo de EC en niños de más de un año en relación con las infecciones padecidas durante el primer año de vida. A) Infecciones respiratorias. B) Infecciones gastrointestinales.

Otro estudio de 2012 realizado por Myléus et al, en forma de casos y controles, estudió a 954 niños de los que se recogió información sobre sus infecciones en los primeros 6 meses de vida mediante cuestionarios a los padres. Se observó que los niños que habían padecido 3 o más episodios infecciosos de diferente patogenia se asociaba con un aumento significativo del riesgo de EC (OR=1.5 95% I.C. (1.1-2.0) $p=0.009$). La presencia de uno o más episodios de gastroenteritis, también se asoció a un aumento del riesgo posterior de la enfermedad (OR=1.8 95% I.C. (0.99-3.3) $p=0.053$). Se observó una interacción estadísticamente significativa de las infecciones en los 6 primeros meses de vida y la introducción del gluten en la dieta que aumentaba el riesgo de EC. Este riesgo es aún mayor en los que la lactancia materna no fue continua (OR=5.6 95%I.C. (3.1-10) $p<0.001$). De este estudio podemos destacar la relación entre los episodios infecciosos en los primeros meses de vida con el aumento del riesgo de EC. Además, evidencia la acción sinérgica entre las infecciones y la introducción del gluten en la dieta para aumentar más el riesgo. Por último, resalta el poder protector de la lactancia materna en este estudio. (19)



Gráfica tomada de referencia (19). Interacciones entre las infecciones en los primeros meses de vida y la introducción de gluten en la dieta (cantidad) con respecto al desarrollo de EC. Se observa un efecto sinérgico entre ambas variables y es más pronunciada en los niños con lactancia materna discontinua.

En 2014 se publicaron tres artículos en los que se descartaron varios factores ambientales, en cuanto a su relación en el desarrollo de EC. Estos factores fueron la lactancia materna, que se creía que podía tener efecto protector y la edad a la que se introduce el gluten en la dieta.

El estudio de Lionetti et al incluyó 832 recién nacidos con al menos un familiar de primer grado afectado de EC, y se les dividió en dos grupos: A unos se les introdujo el gluten en la dieta a los 6 meses y a otros a los 12. Se observó que la edad de introducción del gluten en la dieta tiene un papel minoritario en el desarrollo de la enfermedad. Tampoco se vió efecto protector en la lactancia materna, por lo tanto, no modificaba el riesgo de desarrollar la enfermedad en estos niños predispuestos. Además, se llegó a la conclusión de que poseer el genotipo HLA de alto riesgo era el único factor de riesgo asociado significativamente con el desarrollo de EC. (28)

Otra publicación de Ludvigsson et al observaron que la edad de introducción del gluten en la dieta en niños predispuestos parecía no influir en el desarrollo de la enfermedad en la infancia. También no obtuvieron evidencia de que la lactancia materna, tanto la duración como el mantenimiento durante la introducción del gluten en la dieta, fuera un factor protector para evitar el desarrollo de EC. Además, identificaron como único factor de riesgo para EC la presencia del genotipo HLA de riesgo. (29)

Por último, el estudio de Vriezinga que incluyó a 944 niños que poseían el genotipo HLA-DQ2 o HLA-DQ8. Estos niños fueron divididos en dos grupos, a un grupo se les introdujeron 100 mg de gluten oral diariamente entre las 16-24 primeras semanas de vida; el otro grupo recibió placebo en el mismo intervalo de edad. La incidencia de EC a los tres años fue de 5.2% (95% CI 3.5-6.8), con unos resultados similares tanto en el grupo con toma de gluten como en el placebo (5.9% y 4.5% respectivamente). Los resultados mostraron que la introducción temprana de gluten en pequeñas cantidades no disminuía el riesgo de desarrollar EC en niños genéticamente predispuestos. Por lo tanto, no se encontró evidencia suficiente como para hacer recomendaciones sobre la edad a la que introducir el gluten en la dieta para disminuir el riesgo de desarrollar EC. Por otra parte, encontraron que la lactancia materna, exclusiva o no, no tenía efecto significativo en la prevalencia de la EC en estos niños predispuestos. (30)

También se ha estudiado la relación de las infecciones en los primeros meses de vida en niños genéticamente predispuestos, portadores de los alelos HLA de riesgo, con el riesgo de padecer EC. En 2017 Kempainen et al, incluyeron en un estudio a 6327 niños de EE. UU. y Europa que eran portadores de los alelos HLA de riesgo relacionados con la EC. Se observó que la mayor incidencia de enfermedades gastrointestinales actúa como factor de riesgo en estos niños, sobre todo en los primeros meses de vida (HR=1.33; 95% I.C. (1.11-1.59)). Se concluye que este riesgo no está modificado por otros factores como: la duración de lactancia materna, el tipo de HLA, la edad de introducción del gluten y su coincidencia con infecciones, entre otros. (20)

Un estudio prospectivo realizado en 2015 por Mårild et al, siguieron a 72.921 niños recién nacidos una media de 8.5 años durante los cuales, los padres recogieron todas las infecciones, y su grado de severidad, que habían padecido los niños mediante el uso de cuestionarios estandarizados. Se observó que los niños que habían padecido 10 o más infecciones en los primeros 18 meses de vida tenían un riesgo significativamente mayor de desarrollar EC posteriormente (OR=1.32; 95% CI=1.06–1.65). En cuanto al tipo de infección, se observó que las infecciones de vías respiratorias altas tenían una OR=1.03 (95% CI=1.02–1.05); las infecciones de vías respiratorias inferiores tenían una OR=1.12 (95% CI=1.01–1.23) y las gastroenteritis presentaban una OR=1.05 (95% CI=0.99–1.11). En relación con la severidad de la infección, se observó que cualquier tipo de infección que requirió atención médica, especialmente las de vías respiratorias altas y bajas, en los primeros 18 meses de vida, estaban significativamente asociadas con el desarrollo posterior de EC (OR=1.25; 95% CI=1.06–1.48). Una limitación de este estudio es que no entran a investigar la causa fisiopatológica que produce este incremento del riesgo. (25)

Una vez evidenciada la relación entre las infecciones en las primeras etapas de la vida y el desarrollo de EC, surgieron muchas preguntas acerca de la fisiopatología que provocaba este aumento del riesgo. Así en 2013 un estudio de Pozo-Rubio et al afirmaba que las infecciones y la toma de antibióticos en los primeros 4 meses de vida, en niños con riesgo de EC, influían en las subpoblaciones de linfocitos intestinales y en la microbiota. Se estudiaron 55 niños de 4 meses con al menos un familiar celíaco de primer grado, mediante

citometría de flujo. Se observó que los niños que habían padecido infecciones en los primeros 4 meses de vida se relacionaba con un aumento de activación de linfocitos Th (CD3+, CD4+, CD4CD28+, CD4CD25+). Y los niños con infecciones y administración de antibióticos en los primeros 4 meses de vida tenían un aumento de células NK (CD3-CD16+CD56+). Estos cambios en las subpoblaciones linfocitarias y en la microbiota podrían ser la causa del desarrollo de EC en estos niños. (22)

En otro tipo de estudios, como el de 2016 realizado por Namatovu et al, se hizo un seguimiento de 1.912.204 niños de 0-14.9 años, de los cuales 6569 fueron diagnosticados de EC. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al riesgo de desarrollar la enfermedad y la estación del año en la que se produjo el nacimiento con aumento del número de diagnósticos de EC en aquellos niños nacidos en primavera y verano. Una posible explicación puede ser que la introducción del gluten en la dieta se realizara en los meses de invierno cuando las infecciones virales son más frecuentes. Las infecciones virales en esta etapa en la cual el sistema inmunitario del niño está en pleno desarrollo, podría ser causa del desarrollo de EC. (23)

3.c.1) Infecciones durante embarazo y periodo neonatal

Hay otro grupo de publicaciones que se centran más en el estudio de los factores de riesgo de desarrollar EC antes del nacimiento. Infecciones o toma de antibióticos en mujeres embarazadas como factores de riesgo para sus hijos en el desarrollo de la enfermedad. Dentro de estas publicaciones también hay una gran heterogeneidad de resultados.

Una publicación de 2014 realizada por Mårild et al, se estudiaron 8729 niños de forma prospectiva, pero obteniendo los datos de toma de antibióticos durante el embarazo de forma retrospectiva, concluye que no hay relación estadísticamente significativa entre la toma de antibióticos durante el embarazo y el posterior desarrollo de EC en el niño (HR=1.28 95% IC=0.66-2.48). En el trabajo se propone la hipótesis de que la toma de antibióticos en el período perinatal por parte del recién nacido tiene mayor impacto en el desarrollo de EC que tomado por la madre en el embarazo. La gran limitación de este estudio es su limitada potencia estadística y un aumento del riesgo de error tipo II. (26)

En 2016 Namatovu et al llevaron a cabo un estudio poblacional de 1.912.204 nacimientos a los que se les hizo un seguimiento medio de unos 15 años. Durante estos años fueron recogiendo tanto infecciones maternas como de los niños y el uso o no de antibióticos para tratarlas, entre otros datos. Se observó que el riesgo de desarrollar EC durante la infancia estaba asociado a la exposición a varios factores ambientales durante el embarazo y el periodo neonatal. Las infecciones urinarias de repetición de la madre durante el embarazo evidenciaron una relación positiva con el incremento del riesgo de EC en el niño (OR=1.1 95% IC=1.1-1.2 $p<0.001$). Esto podría deberse al uso de antibioterapia y la consiguiente presencia de una disbiosis intestinal en el neonato. La mayor fortaleza de este estudio es su gran potencia estadística debido a la gran muestra estudiada y el ajuste de variables ajenas al estudio. (27)

En resumen, varios estudios epidemiológicos recientes indican que la prevalencia de la EC ha aumentado en los últimos años. Sin embargo, otros factores ambientales pueden ser los responsables de este incremento ya que no es posible que haya habido cambios en la predisposición genética (tanto de genes de la región HLA, como fuera de ella). Hay que resaltar que ciertos factores ambientales como la lactancia materna y la introducción del gluten en la dieta no reúnen la evidencia suficiente para justificar el incremento del riesgo a desarrollo la enfermedad. Por lo tanto, debemos pensar en las infecciones, tanto en el periodo neonatal como en la infancia, como la causa que podría ser responsable de este incremento en la prevalencia de la EC.

Ante estos argumentos, cabría la posibilidad de sugerir una vacunación sistemática a todos los niños con riesgo a desarrollar la enfermedad (familiares de primer grado, portadores HLA DQ2/DQ8, ...) contra los agentes infecciosos cuya participación está demostrada en la etiopatología de la EC (Rotavirus, Reovirus). Esto supondría establecer un cambio en el calendario vacunal de los niños que incluyeran vacunas contra estos agentes infecciosos en una determinada población de riesgo y en una edad concreta. Esto funcionaría como una medida de prevención primaria para estos niños. La vacunación sistemática de población de riesgo podría disminuir la prevalencia de EC o al menos detener su tendencia ascendente de estos últimos años. Esta medida debería ser valorada en el futuro mediante estudios prospectivos o ensayos clínicos para ver

en primer lugar la rentabilidad de la medida en relación con la prevalencia de la enfermedad. También habría que realizar estudios que analizaran contra qué microorganismos es más eficaz la vacunación para prevenir EC, así como el periodo de edad en el que sería mejor llevar a cabo la vacunación para reducir al máximo el riesgo de desarrollarla.

4. CONCLUSIONES

-La EC es una enteropatía autoinmune producida por una pérdida de tolerancia inmunológica (tolerancia oral) hacia los péptidos del gluten. El único tratamiento existente en la actualidad es el seguimiento de una dieta estricta exenta de gluten.

-La etiopatogenia de la enfermedad depende de una respuesta de la inmunidad adaptativa frente al gluten, con fenómenos autoinmunes y de citotoxicidad sobre el epitelio intestinal. Los linfocitos T reactivos reconocen péptidos de gluten modificados por la TG2 en el contexto de moléculas HLA-DQ2 o DQ8.

-Gran cantidad de estudios epidemiológicos advierten del incremento de la prevalencia de EC en los últimos años. Este incremento no puede ser debido exclusivamente a los factores genéticos ya que no ha dado tiempo a que haya un cambio significativo en la genética de la población.

-Hay una gran cantidad de factores ambientales que intervienen en la patogenia de la enfermedad. La edad de introducción del gluten en la dieta y la lactancia materna han quedado descartados como factores que puedan alterar el riesgo de desarrollar la enfermedad.

-Ha sido demostrado que diversas infecciones pueden aumentar el riesgo de padecer la enfermedad, e incluso otras podrían actuar como factor protector.

-Se han descrito diferentes infecciones del tracto gastrointestinal, sobre todo, (Reovirus, Rotavirus, ...) como responsables de ciertos cambios en el sistema inmunitario que provocan una serie de alteraciones en el intestino favoreciendo el desarrollo de EC. Papel fundamental del Interferón- γ y de los linfocitos intraepiteliales en la inmunopatología.

-La infección o colonización gástrica por *H. pylori* es un factor protector contra el desarrollo de EC.

-Los virus gastrolesivos en la infancia provocan la pérdida de la tolerancia oral a los péptidos del gluten y favorecen una serie de cascadas inmunológicas, dependientes en su gran mayoría de Interferón- γ , que producen daño en la mucosa intestinal y en la microbiota, aumentando el riesgo de desarrollar EC.

-La toma de antibióticos durante el embarazo y las infecciones maternas, también se consideran factores de riesgo, pero de menor potencia que los anteriores.

5. BIBLIOGRAFÍA

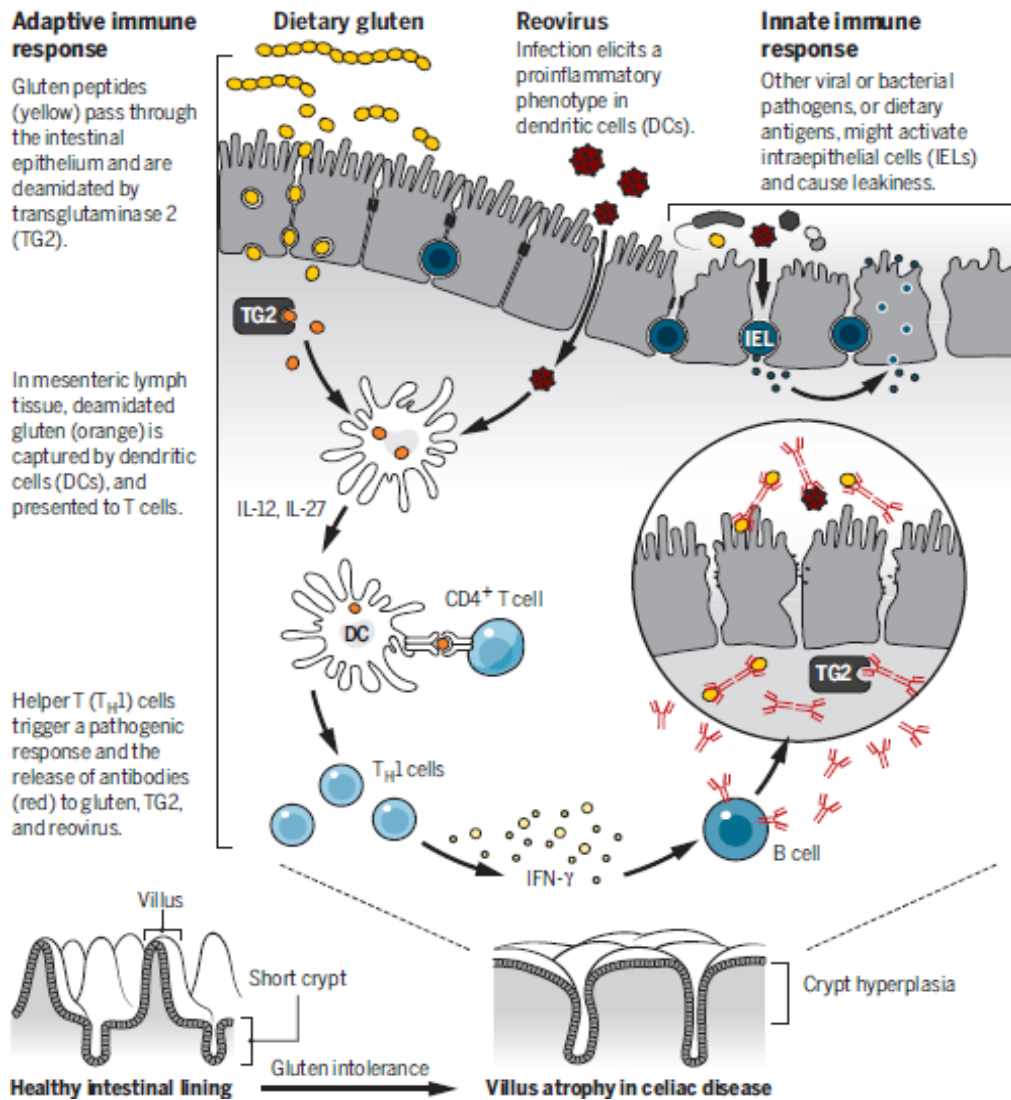
1. Arranz E., Fernández-Bañares F., Rosell Cristina M., Rodrigo L., Peña A.S. *Advances in understanding of gluten related pathology and the evolution of gluten-free foods*. 1ª edición. 2015. Ed.: OminaScience (Omina Publisher SL).
2. Greco L., Timpone L., Abkari A., Abu-zekry M., Attard T., Bouguerrà F., et al. *Burden of celiac disease in the Mediterranean area*. *World J Gastroenterol* 2011. 17(45): 4971-4978.
3. Kasper D. L., Fauci A. S., Longo D. L., Jameson J. L., Loscalzo J. *Harrison, principios de medicina interna*. 19ª edición. 2015. Ed.: McGraww-Hill.
4. Schumann M., Siegmun B., Schulzke JD., et al. *Celiac disease: role of the epithelial barrier*. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 3: 150-62.
5. Bouziat R., et al. *Reovirus infection triggers inflammatory responses to dietary antigens and development of celiac disease*. *Science* 2017. 356, 44-50.
6. Verdu E. F., Caminero A. *How infections can incite sensitivity to food. Microbes can trigger chronic immune disorders to dietary antigens, such us in celiac disease*. *Science* 2017. 356, issue 6333.
7. Azvolinsky A. *Viral trigger for celiac disease? A common, seemingly benign human virus can trigger an immune response that leads to celiac disease in a mouse model, researchers show*. *The Scientist Magazine*. 2017.
8. Amital H., Plot L. *Infectious associations of celiac disease*. Elsevier B. V. 2008.
9. Trocone R., Auricchio S., *Rotavirus and celiac disease: Clues to the pathogenesis and perspectives on prevention*. *Journal of Pediatric, Gastroenterology and Nutrition*. 2007. 44: 527-528.
10. Ruggeri C., La Masa A. T., Rudi S., Squadrito G., Di P. G., Maimone S., et al. *Celiac disease and non-organ-specific autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection*. *Dig Dis Sci*. 2008. 53: 2151-5.

11. Verdu EF., Mauro M., Bourgeois J., Armstrong D. *Clinical onset of celiac disease after an episode of Campylobacter jejuni enteritis*. Can J Gastroenterol; 2007. 21(7):453-455.
12. Lebwohl B., Martin J., Blaser J. F., Ludvigsson P. H., Green R., Rundle A., et al. *Decreased risk of celiac disease in patients with Helicobacter pylori colonization*. Am J Epidemiol. 2013. 178(12): 1721-1730.
13. Lebwohl B., Ludvigsson J.F., Green P.H.R. *The unfolding story of celiac disease risk factors*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014. 12(4): 632-635.
14. Pozo-Rubio T., Olivares M., Nova E., De Palma G., Mujico J.R., Desamparados Ferrer M., et al. *Review article. Immune development and intestinal microbiota in Celiac disease*. Clinical and Developmental Immunology. 2012. ID 654143.
15. Severance E.G., Kannan G., Gressitt K.L., Xiao J., Alaedini A., Pletnikov M.V., et al. *Anti-gluten immune response following Toxoplasma gondii infection in mice*. PLoS One. 2012. 7: e50991.
16. Rostami Nejad M., Ishaq S., Al Dulaimi D., Reza Zali M., Rostami K. *The role of infectious mediators and gut microbiome in the pathogenesis of Celiac disease*. Archives of Iranian Medicine. 2015. 18(4): 244-249.
17. Mårild K., Ludvigsson J.F., Størdal K. *Current evidence on whether perinatal risk factors influence coeliac disease is circumstantial*. Foundation Acta Pædiatrica. 2016. 105: 366-375.
18. Beyerlein A., Donnachie E., Ziegler A-G. *Infections in early life and development of Celiac Disease*. American Journal of Epidemiology. 2017. 186(11): 1277-1280.
19. Myléus A., Hernell O., Gothefors L., Hammarström M-L., Persson L-Å., Stenlund H., et al. *Early infections are associated with increased risk for Celiac disease: an incident case-referent study*. BioMed Central. 2012. 12:194.
20. Kempainen K. M., Lynch K. F., Liu E., Lönnrot M., Simell V., Briesse T., et al. *Factors that increase risk of celiac disease autoimmunity after a gastrointestinal infection in early life*. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2017; 15: 694-702.
21. Emilsson L., Magnus M., Størdal K. *Perinatal risk factors for development of celiac disease in children based on the prospective Norwegian mother and child cohort study*. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2015; 13(5): 921-927.
22. Pozo-Rubio T., De Palma G., Mujico J.R., Olivares M., Marcos A., Acuña M.D., et al. *Influence of early environmental factors on lymphocyte subsets and gut microbiota in infants at risk of Celiac disease; the PROFICEL study*. Nutrición Hospitalaria. 2013. 28(2): 464-473.

23. Namatovu F., Lindkvist M., Olsson C., Ivarsson A., Sandström O. *Season and region of birth as risk factors for coeliac disease a key to aetiology?* Arch Dis Child. 2016; 0: 1-5.
24. Welander A., Tjernberg A. R., Montgomery S. M., Ludvigsson J., Ludvigsson J.F. *Infectious Disease and Risk of Later Celiac Disease in Childhood.* Pediatrics 2010. 125:530–536.
25. Mårild K., Kahrs C.R., Tapia G., Stene L.C., Størdal K. *Infections and risk of celiac disease in childhood: a prospective nationwide cohort study.* Am J Gastroenterol. 2015. 110(10):1475-84.
26. Mårild K., Ludvigsson J., Sanz Y., Ludvigsson J. F. *Antibiotic exposure in pregnancy and risk of coeliac disease in offspring: a cohort study.* BMC Gastroenterology. 2014. 14:75.
27. Namatovu F., Olsson C., Lindkvist M., Myléus A., Högberg U., Ivarsson A. et al. *Maternal and perinatal conditions and the risk of developing celiac disease during childhood.* BMC Pediatrics. 2016. 16:77.
28. Lionetti E., Castellaneta S., Francavilla R., Pulvirenti A., Tonutti E., Amarri S., et al. *Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children.* The New England Journal of Medicine. 2014. 371:1; 295-303.
29. Ludvigsson J. F., Green P. *The missing environmental factor in celiac disease.* The New England Journal of Medicine. 2014. 371:14.
30. Vriezinga S. L., Auricchio R., Bravi E., Castillejo G., Chmielewska A., Crespo Escobar P., et al. *Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease.* The New England Journal of Medicine. 2014. 371:1. 304-15.

6. ANEXOS

-Anexo 1: (6)



-Anexo 2 (12):

Association Between Celiac Disease and *Helicobacter pylori* Infection, by Degree of Villous Atrophy, Among Patients With Biopsy Specimens Submitted to Miraca Life Sciences (Irving, Texas) During the Period January 1, 2008–June 30, 2012

Characteristic	Total No.	<i>H. pylori</i> Prevalence		Unadjusted OR	95% CI	Adjusted ^a OR	95% CI
		No.	%				
Normal duodenal biopsy	127,619	11,207	8.8	1.0		1.0	
IEL with normal villi	5,871	780	13.3	1.61	1.49, 1.74	1.72	1.59, 1.86
All celiac disease patients	2,689	117	4.4	0.46	0.38, 0.56	0.48	0.40, 0.58
Blunt villi (Marsh stage 3A)	1,334	56	4.2	0.45	0.34, 0.58	0.46	0.35, 0.60
Flat villi (Marsh stage 3B/C)	1,355	61	4.5	0.48	0.37, 0.62	0.50	0.39, 0.65

-Anexo 3 (12)

Association Between Celiac Disease and *Helicobacter pylori* Infection, by Age, Gender, and Medicaid Status, Among Patients With Biopsy Specimens Submitted to Miraca Life Sciences (Irving, Texas) During the Period January 1, 2008–June 30, 2012

Characteristic	No. of Patients With CD	<i>H. pylori</i> Prevalence in CD Patients		<i>H. pylori</i> Prevalence in Non-CD Patients		Unadjusted Odds Ratio	95% Confidence Interval
		No.	%	No.	%		
Age, years							
0–19	160	2	1.3	161	2.7	0.46	0.11, 1.87
20–39	657	21	3.2	1,975	7.5	0.41	0.26, 0.63
40–59	1,046	44	4.2	4,906	9.6	0.42	0.31, 0.56
≥60	826	50	6.1	4,165	9.5	0.62	0.46, 0.82
Gender							
Male	846	45	5.3	4,379	10.0	0.51	0.38, 0.69
Female	1,843	72	3.9	6,828	8.2	0.46	0.36, 0.58
Insurance							
Medicaid	51	7	13.7	716	18.6	0.70	0.31, 1.56
Non-Medicaid	2,638	110	4.2	10,491	8.5	0.47	0.39, 0.57