



EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA DEL ADULTO EN EL AÑO 2013.

Luis Menchén Viso

Servicio de Medicina del Aparato Digestivo,
Hospital General Universitario Gregorio Marañón – IiSGM; CIBEREHD;
y Departamento de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celiaca (EC) es una entidad inflamatoria crónica, mediada inmunológicamente, que afecta a la mucosa del intestino delgado, y que ocurre en individuos genéticamente predispuestos precipitada por la ingestión de gluten, la principal proteína de depósito del trigo y cereales taxonómicamente similares¹. La característica – aunque no específica – atrofia de las vellosidades intestinales da lugar al desarrollo de malabsorción de nutrientes, variable dependiendo de la extensión de la afectación mucosa. Las manifestaciones clínicas son variadas, y a menudo tan sutiles como la anemia ferropénica o la enfermedad ósea metabólica²; en cualquier caso, debe tenerse en cuenta que la EC se asocia a un incremento de la mortalidad en comparación con la población general³, hecho que se relaciona principalmente con un incremento del riesgo de desarrollo de linfoma T asociado a enteropatía en pacientes con enfermedad de larga evolución tratada de manera incorrecta. La dieta sin gluten estricta e indefinida es el único tratamiento eficaz en la inducción y mantenimiento de la remisión clínica e histológica de la EC, y se ha asociado a una reducción de la morbimortalidad de la misma⁴. Por tanto, es deseable un diagnóstico lo más precoz y certero posible para alcanzar la remisión clínica e histológica de la enfermedad y así, por tanto, reducir el riesgo de complicaciones potencialmente graves.

Considerada clásicamente como un síndrome malabsortivo infrecuente de la infancia, hoy en día conocemos que la prevalencia de la EC es relativamente elevada –

puede afectar hasta el 1% de la población en países occidentales⁵ – y que puede ser diagnosticada a cualquier edad. Tanto la incidencia real de la enfermedad como su tasa de diagnóstico se han incrementado en los últimos años⁶; resulta, sin embargo, muy variable, lo que podría depender fundamentalmente de los criterios y métodos diagnósticos empleados en su estimación, y refleja a su vez, no sólo los problemas de cada una de las pruebas diagnósticas disponibles, sino también la amplia variedad de manifestaciones clínicas de la enfermedad, ya mencionada previamente: desde pacientes asintomáticos diagnosticados en programas de cribado para individuos de riesgo en la edad adulta, a pacientes con diarrea grave y malabsorción de múltiples nutrientes diagnosticados en la primera infancia^{7,8}.

No existe ninguna prueba que por sí misma sea ni capaz de confirmar el diagnóstico de EC, ni de excluir la misma; aunque la biopsia intestinal se ha propuesto clásicamente como el estándar oro, su interpretación resulta difícil y depende en gran medida de la gravedad de la enfermedad y la experiencia del patólogo. Las pruebas serológicas tienen – o al menos eso se ha asumido clásicamente – unas elevadas sensibilidad y especificidad, aunque pueden oscilar en casos de daño intestinal leve y en función de la ingesta de gluten^{9,10}; además, la serología parece presentar una menor sensibilidad en pacientes adultos¹¹. La combinación, por tanto, de datos clínicos, histológicos, serológicos y genéticos, así como la comprobación de una respuesta clínica, histológica y serológica a la retirada del gluten de la dieta resulta esencial para realizar un diagnóstico certero.

INDICACIONES DE REALIZAR PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE EC

Una cuestión que se plantea frecuentemente en la práctica clínica tanto de los médicos de atención primaria como en las consultas de gastroenterología general es cuándo se deben solicitar pruebas complementarias para diagnosticar o descartar la EC. Recientemente han sido publicadas las guías clínicas de diagnóstico y ma-

CORRESPONDENCIA: Luis Menchén

Sección de Gastroenterología, Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”.
C/ Dr Esquerdo 46. 28007 Madrid, Spain
Tel. +34 915868300. Fax. +34 914265024
lamenchen.hgugm@salud.madrid.org

nejo de la EC del American College of Gastroenterology¹², centradas en la enfermedad que debuta en la edad adulta, y que abordan de forma específica este aspecto, estableciendo grados de recomendación en función del nivel de evidencia disponible en la literatura. Obviamente, en todo paciente con síntomas, signos o datos de laboratorios sugestivos de malabsorción debe descartarse el diagnóstico de EC, ya que es una de las causas más frecuentes de síndrome malabsortivo. También se recomienda evaluar específicamente esta posibilidad en aquellos individuos con cuadros clínicos que se han asociado a la EC y que son reversibles tras el tratamiento de la misma, como los pacientes que cumplen criterios de síndrome de intestino irritable y dispepsia funcional, o aquellos que presentan elevación crónica de transaminasas, anemia ferropénica o enfermedad ósea metabólica.

Existe además un elevado nivel de evidencia que apoya de manera sólida el que los familiares de primer grado de pacientes con EC, siempre que presenten cuadros clínicos – incluso atípicos – o analíticos compatibles con la misma, sean sometidos a un proceso diagnóstico de cara a descartarla; no puede decirse lo mismo, sin embargo, acerca del cribado de familiares de primer grado asintomáticos, en donde la decisión de estudio debe individualizarse ante la ausencia de evidencia concluyente en este sentido. Cabe recordar en este punto que la prevalencia estimada para familiares de primer grado de pacientes celíacos oscila entre un 5 y un 20%. Finalmente se recomienda realizar pruebas diagnósticas de EC en los pacientes con diabetes mellitus tipo I – otra enfermedad autoinmune que comparte con la EC genes de susceptibilidad en el complejo mayor de histocompatibilidad – y sintomatología gastrointestinal, ya que la prevalencia de EC en los pacientes con diabetes tipo I llega hasta el 12%.

CRITERIOS CLÍNICOS

No existen unos criterios clínicos definidos para diagnosticar la EC. Como se ha referido previamente, las manifestaciones clínicas de la EC son enormemente variables, existiendo incluso casos de pacientes – especialmente adultos – asintomáticos y sin alteraciones en los parámetros de laboratorio relacionados con el estado nutricional o la presencia de un proceso inflamatorio crónico. El espectro clínico y las manifestaciones de la EC se revisan en otros artículos de esta monografía.

HISTOLOGÍA

Clásicamente se ha considerado imprescindible la realización de una biopsia intestinal para confirmar el diagnóstico de EC. De hecho, se recomienda que se realice biopsia intestinal incluso ante la negatividad de las

pruebas serológicas, siempre que la sospecha clínica sea elevada¹². Al igual que en el caso de la serología, la biopsia debe realizarse cuando el paciente continúa tomando una dieta con gluten; es además obligatorio obtener múltiples biopsias en todos los casos, preferiblemente dirigidas endoscópicamente, ya que la afectación mucosa en la EC puede ser parcheada; a modo de ejemplo, en un reciente estudio realizado en EE.UU que analizó de forma retrospectiva los datos de más de 130.000 pacientes remitidos para biopsia intestinal, la probabilidad de diagnosticar EC fue más del doble cuando se tomaron 4 ó más biopsias¹³. Es recomendable realizar las biopsias en la segunda porción duodenal, además de en el bulbo, para evitar la distorsión arquitectural que pueden producir las glándulas de Brunner. La Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica ha propuesto en sus recientes guías de diagnóstico de la EC¹⁴ que la biopsia intestinal podría evitarse en aquellos niños con síntomas característicos, presencia de haplotipos de riesgo (ver más abajo) y unos niveles de anti-TGT más de 10 veces por encima del valor normal, confirmados con una determinación positiva de anticuerpos anti-endomisio en una muestra diferente. La adecuación de esta estrategia a la población adulta no ha sido validada, y por tanto a día de hoy debemos seguir recomendando la realización de biopsia intestinal para apoyar el diagnóstico de EC.

En 1992 el patólogo inglés Michael Marsh propuso, basándose tanto en su propia experiencia como en estudios descriptivos previos de otros investigadores, su conocida clasificación histológica de la EC¹⁵. La relevancia de la misma radica en varios aspectos fundamentales: pone de manifiesto de forma sólida el papel de la respuesta inmune celular en la patogenia de la entidad; caracteriza por primera vez la variabilidad histológica de la toxicidad relacionada con la ingesta de gluten; y lo que quizás sea más relevante, conceptualiza la evolución histológica de las lesiones que caracterizan la EC (*"The descriptions of these mucosal lesions, derived from studies of various groups, are nevertheless static"*¹⁵). El grado o tipo 1 de la clasificación de Marsh – denominado "infiltrativo" e inicialmente descrito como una lesión característicamente asociada a pacientes con dermatitis herpetiforme sin EC evidente y a familiares de primer grado de pacientes celíacos – se caracteriza por una arquitectura mucosa normal pero con infiltración del epitelio vellositario por linfocitos intraepiteliales; existe además un incremento de la celularidad de la lámina propia, a expensas fundamentalmente de linfocitos T y células plasmáticas. En el tipo 2 – lesión "hiperplásica" en el manuscrito original – además de los hallazgos presentes en el tipo 1, se observan criptas hiperplásicas cuyo epitelio presenta también infiltración linfocitaria. En el tipo 3 (lesión "destruktiva"), además de los hallaz-



gos característicos de los tipos 1 y 2, se observa una mucosa intestinal “plana”, es decir, con atrofia de las vellosidades; es la que muestran la mayor parte de los pacientes celíacos con síndrome malabsortivo clásico, y la que ha definido clásicamente el diagnóstico de la enfermedad. Marsh describe además un tipo 0 (preinfiltrativo), que describe como asociado a dermatitis herpetiforme en algunos pacientes, planteando la hipótesis de que podría estar relacionado con una enfermedad “latente” (de hecho, introduce este concepto en la literatura sobre EC); y un tipo 4, hipoplásico, presumiblemente irreversible y asociado a un incremento de riesgo de linfoma de células T asociado a enteropatía. En la modificación llevada a cabo por Oberhuber y cols. de la clasificación de Marsh¹⁶, de amplia utilización tanto en la práctica clínica como en la literatura científica, se define un punto de corte para la linfocitosis intraepitelial (40 linfocitos por cada 100 células epiteliales) y se clasifica el grado 3 en subtipos a, b y c, en función de la gravedad de la atrofia vellositaria. Más recientemente, Corazza y cols.¹⁷ han descrito una nueva clasificación que unifica los tipos 1 y 2 en un grado A (lesión no atrófica), y los tipos 3a y 3b en un grado B1 (lesión atrófica con vellosidades aún detectables y un ratio vellosidad-crypta menor de 3:1); finalmente el tipo 3c se equipara a un nuevo grado B2 (vellosidades no detectables). La principal ventaja de esta nueva clasificación parece radicar en su menor variabilidad interobservador¹⁸.

Adicionalmente a las alteraciones arquitecturales y la infiltración por células de estirpe inflamatoria, la EC se caracteriza por presentar alteraciones del epitelio de superficie remanente, que se transforma en un epitelio cuboideo o incluso escamoso con frecuente pseudo-poliestratificación, y que muestra un incremento de la basofilia citoplasmática y pérdida de la polaridad nuclear; existen además datos ultraestructurales relacionados con su desdiferenciación: borde en cepillo atenuado o ausente, vacuolización citoplásmica, alteración estructural de las uniones intercelulares estrechas (con el consiguiente incremento de la permeabilidad intestinal), así como la pérdida actividad disacaridasas y peptidasas del borde en cepillo; todo ello contribuye a la deficiente absorción de nutrientes.

Es importante insistir que las lesiones intestinales descritas son características, pero no patognomónicas, de la EC. A modo de ejemplo, entre las causas de linfocitosis intraepitelial (que hoy en día se define como la presencia de más de 25 de linfocitos por cada 100 células epiteliales intestinales) están la infección por *Helicobacter pylori*, los anti-inflamatorios no esteroideos, el sobrecrecimiento bacteriano intestinal, o diversas enfermedades autoinmunes sistémicas que frecuentemente cursan con afectación subclínica de diferentes tramos del tubo

digestivo. De igual forma, el diagnóstico diferencial de la atrofia vellositaria es también amplio¹⁹, e incluye entidades como el esprúe tropical, las gastroenteritis infecciosas y alérgicas, el sobrecrecimiento bacteriano, la enfermedad de Whipple, la desnutrición energético-proteica y el déficit de micronutrientes (zinc, hierro, vitamina B₁₂, ácido fólico), la inmunodeficiencia variable común, la enfermedad de Crohn, la enteropatía autoinmune o asociada a fármacos (como la recientemente descrita en relación con olmesartán²⁰), la enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado, o el síndrome de Zollinger-Ellison, entre otros.

Por último, la realización de biopsias intestinales es necesaria para la caracterización mediante citometría de flujo de las subpoblaciones linfocitarias intraepiteliales²¹. El incremento de la proporción de linfocitos intraepiteliales que expresan TCR- $\gamma\delta$ es uno de los fenómenos más característicos – aunque tampoco específicos – de la EC, y se ha sugerido que podría ser un marcador de enfermedad latente y potencial²² en individuos sin otras alteraciones histológicas. La citometría de flujo es además útil en el diagnóstico de la enfermedad celíaca refractaria tipo I y tipo II, y de linfoma de células T asociado a enteropatía²³.

SEROLOGÍA

La determinación de anticuerpos dirigidos frente a la gliadina y al péptido deamidado de gliadina (PDG), o de autoanticuerpos anti-endomisio y anti-transglutaminasa tisular (TGT), ha constituido clásicamente la base sobre la que se asentaba el primer paso del proceso diagnóstico de la EC. La positividad de todos ellos es dependiente de la ingesta de gluten, por lo que para maximizar su rendimiento diagnóstico su análisis debe realizarse antes del inicio de la dieta exenta del mismo. El análisis de anticuerpos anti-gliadina mediante ELISA ha caído en desuso debido a su menor rentabilidad diagnóstica – con frecuentes falsos positivos²⁴ en individuos, por ejemplo, con enfermedad de Crohn, alergia alimentaria, fibrosis quística, diabetes mellitus tipo I, o incluso en personas sanas – que los anti-TGT y antiPDG. Del mismo modo, el análisis mediante inmunofluorescencia de los anticuerpos anti-endomisio – que muestra una especificidad notablemente superior a los anti-gliadina – presenta la notable limitación de su difícil estandarización y amplia variabilidad interobservador. Así, la determinación de anticuerpos anti-TGT de tipo IgA mediante ELISA se considera en el momento actual como la mejor prueba aislada para la detección de EC en individuos mayores de 2 años de edad¹². No debe olvidarse que debe realizarse siempre una determinación de los niveles séricos de IgA, ante la mayor frecuencia en pacientes con EC, con respecto a la población general, de

déficit selectivo de esta inmunoglobulina. Una alternativa, no obstante, sería incluir en la estrategia diagnóstica inicial la determinación de anticuerpos tipo IgG, anti-PDG o anti-TGT; en cualquier caso, el diagnóstico de deficiencia selectiva de IgA en un paciente con sospecha de EC debe hacernos ampliar el diagnóstico diferencial de la atrofia vellositaria a patología común en este contexto como la infección por *Giardia lamblia* o el sobrecrecimiento bacteriano, y llevar a cabo la determinación de inmunoglobulinas IgG e IgM para descartar inmunodeficiencia variable común.

Aunque en un meta-análisis publicado en 2010 se estimó en un 93% la sensibilidad de la determinación de anticuerpos dirigidos frente a la TGT en el diagnóstico de la EC²⁵, el dato debe interpretarse con precaución; y es que en la mayoría de los estudios predominan los pacientes pediátricos y sólo se considera el diagnóstico en casos con grados avanzados de lesión intestinal, excluyendo a los individuos con lesión histológica Marsh I. En este sentido, es conocido que la tasa de positividad de la serología se correlaciona directamente con el grado de atrofia vellositaria^{9,10,26,27} y con la gravedad de las manifestaciones clínicas de la EC²⁸. Se ha descrito además en un estudio multicéntrico llevado a cabo en laboratorios de varios países – empleando alícuotas de las mismas muestras de pacientes con EC confirmada y de voluntarios sanos – una amplia variabilidad en la sensibilidad de la determinación de anticuerpos anti-TGT, que oscila entre el 69 y el 93%²⁹. Por tanto, la negatividad de la serología no excluye el diagnóstico de EC. Por su parte la especificidad de su determinación ronda el 95%, y de hecho, existe un acuerdo general acerca de que la positividad de la determinación de anticuerpos anti-TGT, anti-endomisio o anti-DGP en pacientes con atrofia vellositaria (Marsh III) confirma el diagnóstico de EC^{5,24,12}. La determinación combinada de dos o más anticuerpos podría incrementar la sensibilidad diagnóstica, y resulta una práctica clínica habitual, pero disminuye su especificidad y podría, por tanto, no resultar una estrategia recomendable en individuos con bajo riesgo a priori de padecer EC. Por otra parte, la titulación de anti-TGT se correlaciona de forma positiva con la probabilidad de un resultado positivo verdadero³⁰.

Como se ha referido previamente, la positividad de la serología en la EC es dependiente de la ingesta de gluten; el análisis serológico debe realizarse siempre, por tanto, en pacientes que realizan dieta con gluten, debido a la disminución/normalización de los títulos de todos los anticuerpos en un plazo variable (incluso pocas semanas) tras la retirada del gluten de la dieta²⁷. De hecho, la serología es además útil en la monitorización del adecuado cumplimiento de la dieta sin gluten³¹.

ANÁLISIS DE LOS HAPLOTIPOS DE RIESGO: HLA-DQ2 Y DQ8

El papel esencial de los genes que codifican el complejo mayor de histocompatibilidad en la patogenia de la EC ha sido caracterizado en profundidad a lo largo de los últimos años, y es conocido que la presencia de ciertos haplotipos específicos – HLA-DQ2 y DQ8 – resulta necesaria, aunque no suficiente, para el desarrollo de la enfermedad³². Los heterodímeros HLA-DQ2 (codificado principalmente por la combinación alélica DQA1*0501-DQB1*0201) y HLA-DQ8 (codificado por la combinación alélica DQA1*0301-DQB1*0302) están presentes, respectivamente, en un 90-95% y un 5-10% de los pacientes con EC^{33,34}. Parece, por tanto, que el desarrollo de la enfermedad resultaría poco probable en la ausencia de ambos haplotipos. En este sentido, se ha sugerido que la detección de los haplotipos de riesgo podría tener una adecuada efectividad en el cribado de la EC, especialmente debido a su elevado valor predictivo negativo³⁵. El hecho, no obstante, de que estén presentes en aproximadamente una cuarta parte de la población occidental, hace que su valor predictivo positivo sea tan sólo del 12%.

En 2004, el Instituto Nacional de la Salud (NIH) de EE.UU. publicó una revisión sistemática acerca del diagnóstico y tratamiento de la EC⁵; en ella no se especificaron recomendaciones acerca de la determinación de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 en el cribado de la EC; por su parte, las guías del Colegio Americano de Gastroenterología de 2013 previamente mencionadas especifican que, aunque este análisis no se debe utilizar de manera rutinaria en el diagnóstico de la celiaquía, puede emplearse de manera eficaz para descartar la enfermedad en las siguientes situaciones concretas: pacientes seronegativos con grados histológicos Marsh I y II, pacientes que en el momento de la evaluación ya realizan dieta sin gluten, casos con hallazgos serológicos e histológicos discrepantes, pacientes con sospecha de EC refractaria en los que el diagnóstico inicial sea dudoso, así como en el síndrome de Down, para evitar el estudio endoscópico y la biopsia intestinal¹².

VALORACIÓN DE LA RESPUESTA A LA RETIRADA DE LA DIETA SIN GLUTEN

La mejoría de síntomas digestivos tras la retirada del gluten de la dieta es un fenómeno descrito en pacientes con síndrome de intestino irritable, así como en los pacientes con sensibilidad al gluten no celiaca, una entidad que aún no está adecuadamente caracterizada y que se comenta en el artículo de la Dra. Esteve de esta monografía. En el caso de la EC, la mejoría de los síntomas digestivos ha demostrado tener un valor predictivo positivo bajo, en torno a 36%, como test diagnóstico ais-



lado de la misma³⁶; no obstante debe ser un dato a tener en cuenta, en combinación con el resto de criterios clínicos y pruebas diagnósticas⁵. Por su parte, la respuesta histológica a la dieta sin gluten es un hecho que apoya de manera sólida el diagnóstico de enfermedad celiaca³⁷, y que se correlaciona significativamente con la respuesta serológica.

REFERENCIAS

1. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S10-8.
2. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med* 2007;357:1731-43.
3. Tio M, Cox MR, Eslick GD. Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:540-51.
4. Case S. The gluten-free diet: how to provide effective education and resources. *Gastroenterology* 2005;128:S128-34.
5. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Celiac Disease, June 28-30, 2004. *Gastroenterology* 2005;128:S1-9.
6. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636-51.
7. Fasano A. Celiac disease—how to handle a clinical chameleon. *N Engl J Med* 2003;348:2568-70.
8. Rampertab SD, Pooran N, Brar P, Singh P, Green PH. Trends in the presentation of celiac disease. *Am J Med* 2006;119:355 e9-14.
9. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999;94:888-94.
10. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Dig Dis Sci* 2004; 49:546-50.
11. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005;128:S25-32.
12. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2013;108:656-76.
13. Lebowhl B, Kapel RC, Neugut AI, Green PH, Genta RM. Adherence to biopsy guidelines increases celiac disease diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2011;74:103-9.
14. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Leigeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP, Diagnosis EWGoCD, Committee EG, European Society for Pediatric Gastroenterology H, Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60.
15. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992;102:330-54.
16. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1185-94.
17. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol* 2005;58:573-4.
18. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C, Chioda C, Albarello L, Bartolini D, Donato F. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:838-43.
19. Freeman HJ. Adult celiac disease and the severe "flat" small bowel biopsy lesion. *Dig Dis Sci* 2004;49:535-45.
20. Rubio-Tapia A, Herman ML, Ludvigsson JF, Kelly DG, Mangan TF, Wu TT, Murray JA. Severe spruelike enteropathy associated with olmesartan. *Mayo Clin Proc* 2012;87:732-8.
21. Leon F. Flow cytometry of intestinal intraepithelial lymphocytes in celiac disease. *J Immunol Methods* 2011;363:177-86.
22. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Kelly CP, Leonard JN, Lundin KE, Murray JA, Sanders DS, Walker MM, Zingone F, Ciacci C. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013;62:43-52.
23. Sánchez-Munoz LB, Santon A, Cano A, López A, Almeida J, Orfao A, Escribano L, Roy G. Flow cytometric analysis of intestinal intraepithelial lymphocytes in the diagnosis of refractory celiac sprue. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:478-87.
24. Leffler DA, Schuppan D. Update on serologic testing in celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2520-4.
25. Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:73-81.
26. Donaldson MR, Firth SD, Wimpee H, Leiferman KM, Zone JJ, Horsley W, O'Gorman MA, Jackson WD, Neuhausen SL, Hull CM, Book LS. Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:567-73.
27. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:426-32; quiz 370.
28. Taavela J, Kurppa K, Collin P, Lahdeaho ML, Salmi T, Saavalainen P, Haimila K, Huhtala H, Laurila K, Sievanen H, Maki M, Kaukinen K. Degree of damage to the small bowel and serum antibody titers correlate with clinical presentation of patients with celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:166-71 e1.
29. Li M, Yu L, Tiberti C, Bonamico M, Taki I, Miao D, Murray JA, Rewers MJ, Hoffenberg EJ, Agardh D, Mueller P, Stern M, Bonifacio E, Liu E. A report on the International Transglutaminase Autoantibody Workshop for Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2009;104:154-63.
30. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE. Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. *JAMA* 2010;303:1738-46.
31. Zanini B, Lanzarotto F, Mora A, Bertolazzi S, Turini D, Cesana B, Donato F, Ricci C, Lonati F, Vassallo F, Scarcella C, Lanzini A. Five year time course of celiac disease serology during gluten free diet: results of a community based "CD-Watch" program. *Dig Liver Dis* 2010;42:865-70.
32. Kagnoff MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest* 2007;117:41-9.

33. Bevan S, Popat S, Braegger CP, Busch A, O'Donoghue D, Falth-Magnusson K, Ferguson A, Godkin A, Hogberg L, Holmes G, Hosie KB, Howdle PD, Jenkins H, Jewell D, Johnston S, Kennedy NP, Kerr G, Kumar P, Logan RF, Love AH, Marsh M, Mulder CJ, Sjoberg K, Stenhammer L, Walker-Smith J, Marossy AM, Houlston RS. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet* 1999;36:687-90.
34. Liu E, Rewers M, Eisenbarth GS. Genetic testing: who should do the testing and what is the role of genetic testing in the setting of celiac disease? *Gastroenterology* 2005;128:S33-7.
35. Hadithi M, von Blomberg BM, Crusius JB, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JW, Mulder CJ, Stehouwer CD, Pena AS. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med* 2007;147:294-302.
36. Campanella J, Biagi F, Bianchi PI, Zanellati G, Marchese A, Corazza GR. Clinical response to gluten withdrawal is not an indicator of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:1311-4.
37. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1412-20.