



Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C

**FACTORES INVOLUCRADOS EN AUTOINMUNIDAD  
PARA ENFERMEDAD CELIACA O DIABETES TIPO 1,  
EN PREESCOLARES SONORENSES GENÉTICAMENTE  
PREDISPUUESTOS**

Por:

Irene Lizbeth Beltrán Saucedo

TESIS APROBADA POR LA  
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2015

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Irene Lizbeth Beltrán Saucedo, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de maestría en ciencias.



---

Dra. Ana María Calderón de la Barca  
Director de Tesis



---

M.C. Adriana Verónica Bolaños Villar  
Asesora



---

Dra. Graciela Caire Juvera  
Asesora



---

Dra. Juana María Meléndez Torres  
Asesora

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



---

Dr. Pablo Wong González

Director General

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado a lo largo de la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. por hacer posible mis estudios de posgrado.

A la Dra. Ana María Calderón de la Barca, por dirigir este proyecto de tesis y por la confianza brindada durante todos estos años. Fue un honor formar parte de su equipo de trabajo.

A mi comité de tesis, M.C Adriana Bolaños, Dra. Graciela Caire y Dra. Juana María Meléndez, por todas las valiosas aportaciones que hicieron a este trabajo.

A las directoras y educadoras de los jardines de niños donde realizamos este proyecto, gracias por hacer posible el acercamiento con los padres y la colección de muestras.

A los niños participantes en este estudio, gracias por permitirnos trabajar con ustedes, vivimos momentos llenos de ternura, diversión y aprendizaje. A los padres de familia, gracias por su valiosa cooperación y apoyo en todo momento.

A René Valenzuela, por el apoyo técnico y paciencia.

A mis compañeros de laboratorio: Sandra Aguayo, gracias por los conocimientos que me compartiste, el apoyo en la genotipificación y por tu gran disposición para el trabajo en equipo. Juan Pedro Ortiz, gracias por la orientación académica y las buenas conversaciones, aunque sigo pensando que tus métodos de enseñanza son rígidos, eres un gran compañero. Maribel Valencia, por su ayuda en la

toma de muestras de los niños y Andrea Arreola, por su colaboración en el trabajo de campo, la ayuda de ambas fue excelente. Alejandra Chávez y Rodrigo Sigala, fue un gusto conocerlos y convivir con ustedes, les deseo todo el éxito en su maestría.

A mi familia, por ser parte esencial de este logro, gracias por estar siempre para mí. Los amo.

A mis compañeros y amigos de maestría, especialmente a: Deynali y Fernanda González, Lot Burrola, Luz Vázquez, Manuel Castro, por todos los momentos de estudio y también de diversión, los quiero mucho.

A mis amigos, Marcela, Fernando, Oscar y Julio, gracias por su valiosa amistad y formar parte de inicio a fin de esta meta, espero vengan más cosas buenas para nosotros.

A Javier Vázquez, por apoyarme, escucharme y siempre alentarme a seguir adelante.

## **DEDICATORIA**

A MIS PADRES, que son mi mayor apoyo y mi ejemplo de superación, los amo.

A MIS HERMANAS, por estar conmigo en todo momento.

A MIS SOBRINOS, Elías, Víctor Manuel y Ernesto, por darme siempre alegría y enseñarme tanto.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
Lista de figuras .....	ix
Lista de cuadros .....	x
Resumen.....	xi
Abstract.....	xii
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>2</b>
Características de dos enfermedades Autoinmunes.....	2
Diabetes tipo 1.....	2
Enfermedad celiaca.....	4
Factores de riesgo asociados a DT1 y EC .....	6
<b>Componente genético.....</b>	<b>7</b>
<b>Factores perinatales.....</b>	<b>8</b>
<b>Factores ambientales.....</b>	<b>11</b>
Infecciones y tratamientos.....	11
Alimentación infantil.....	12
Consumo de leche de vaca .....	14
Otros factores ambientales.....	16
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
General.....	17
Específicos.....	17
<b>SUJETOS Y MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
Sujetos.....	18

Diseño del estudio .....	18
Obtención de muestras de sangre seca y extracción de ADNg.....	18
Identificación de haplotipos HLA y de riesgo genético alto para DT1 o EC.....	19
Obtención de muestras de sangre periférica y separación del suero..	19
Análisis de anticuerpos específicos de DT1 o EC.....	20
Identificación de factores perinatales, antecedentes clínico-familiares y factores ambientales involucrados en DT1 o EC .....	20
Análisis estadístico.....	21
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	23
Población estudiada .....	23
Obtención de muestras de sangre seca y extracción de ADNg.....	25
Identificación de haplotipos HLA y de riesgo genético alto para DT1 o EC .....	25
Análisis de anticuerpos específicos de DT1 o EC.....	26
Características de niños con índices de IgA anti-gliadinas y anti-insulina positivos y negativos.....	28
Descripción de factores perinatales, antecedentes clínico-familiares y factores ambientales involucrados en DT1 o EC.....	35
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	55
<b>REFERENCIAS</b> .....	57



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Interacción de factores de riesgo asociados al desarrollo de diabetes tipo 1 (DT1) o enfermedad celiaca (EC).....	7
2	Diagrama de flujo de participantes en cada fase del estudio..	24

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Guía de entrevista estructurada aplicada a las madres....	22
2	Combinaciones de haplotipos o alelos de los niños participantes con alto riesgo genético .....	26
3	Índices de anticuerpos y auto-anticuerpos específicos de DT1 o EC analizados en suero de niños con riesgo genético alto.....	27
4	Características de los niños con haplotipos de riesgo e IgA anti-gliadinas positivos.....	30
5	Características de los niños con haplotipos de riesgo y anticuerpos anti-insulina positivos .....	31
6	Características de los niños con haplotipos de riesgo e IgA anti-gliadinas y anti-insulina negativos.....	32

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La diabetes tipo 1 (DT1) y la enfermedad celiaca (EC) son autoinmunes, se desarrollan durante la niñez y su prevalencia es de 1:300 a 1:100, alrededor del mundo. Los auto-anticuerpos específicos en ambas enfermedades, aparecen entre los 1 a 5 años de edad y permanecen latentes desde meses hasta años antes de manifestarse. La predisposición genética no explica sino parcialmente el desarrollo de DT1 y EC, por lo que se buscan otros factores asociados. **OBJETIVO:** Identificar y describir los factores pre- y perinatales y ambientales relacionados al riesgo de auto-inmunidad y eventualmente el desarrollo de DT1 o EC en preescolares sonorenses genéticamente predispuestos. **SUJETOS Y MÉTODOS:** El estudio fue transversal, en 240 niños de preprimaria en Hermosillo, Sonora. Se analizaron sus haplotipos de riesgo en gotas de sangre seca, mediante PCR en tiempo real. Se analizaron anticuerpos contra gliadinas, transglutaminasa e insulina, por inmunoensayo enzimático (ELISA), a los de riesgo genético alto. A las madres se les realizó una entrevista estructurada en búsqueda de factores ambientales involucrados en estas enfermedades. **RESULTADOS:** El 36% (86 niños) presentó genética de riesgo a DT1 o EC; 58 de ellos aportaron muestras de suero para análisis, 6 resultaron positivos para IgA anti-gliadinas, ninguno para IgA anti-transglutaminasa y 4 para anticuerpos IgG contra insulina. La entrevista estructurada fue completada por 38 madres, en la que destacan los regímenes de alimentación y antecedentes familiares como factores de riesgo asociados a los niños con índices de anticuerpos positivos. **CONCLUSIÓN:** No hubo casos de autoinmunidad, aunque si presencia de anticuerpos asociados a DT1 o EC, indicando un riesgo muy elevado a padecerlas. En estos niños, los regímenes de alimentación y los antecedentes familiares, fueron los factores de mayor peso.

**Palabras clave:** Diabetes tipo 1, enfermedad celiaca, autoinmunidad, factores perinatales y ambientales.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Type 1 diabetes (T1D) and celiac disease (CD) are autoimmune disorders that develop during childhood, with a prevalence of 1:300 and 1:100 around the world. Specific autoantibodies for both diseases appear between 1 to 5 years old and remain latent for months to years before manifesting. Genetic predisposition explains only partially DT1 and EC development; therefore, other associated factors are looked for. **OBJECTIVE:** To identify and describe the pre- and perinatal and environmental factors associated to the autoimmunity risk and eventually to the DT1 or CD onset in genetically predisposed preschool children in Sonora. **SUBJECTS AND METHODS:** The cross-sectional study included 240 preschool children in Hermosillo, Sonora. The risk haplotypes were analyzed in dried blood spot by real-time PCR. Antibodies against gliadins, transglutaminase and insulin were analyzed by Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) for the high genetic risk children. A structured interview was applied to their mothers about environmental factors associated to T1D and EC. **RESULTS:** Genetic predisposition associated to T1D or CD was found for 36% of the children (86), and 58 of them provided sera for antibody analyses. Positivity for anti-gliadin IgA antibodies was found in 6 and anti-insulin IgG antibodies in 4 of them, no one presented anti-transglutaminase IgA antibodies. Thirty eight of the mothers answered to the structured interview where feeding regimes and family antecedents were the most common risk factor associated to children with positive antibodies. **CONCLUSION:** There were no autoimmunity cases, although positive antibodies associated to T1D or CD were detected, indicating a very high risk to develop this diseases. In conclusion, the feeding regimes and family antecedents were the most important factors.

**Keys Words:** Type 1 diabetes, celiac disease, autoimmunity, perinatal and environmental factors.

## INTRODUCCIÓN

La diabetes tipo 1 (DT1) y la enfermedad celiaca (EC) son las dos enfermedades autoinmunes más comunes en la infancia (Freeman et al., 2011). Su presencia a edad temprana puede comprometer el estado de salud y nutrición durante toda la vida (Ludvigsson et al., 2013; Nokoff y Rewers, 2013). En la actualidad, ha aumentado aceleradamente la prevalencia de estos padecimientos en distintas regiones del mundo, por lo que hay un auge en el estudio de los factores que condicionan su desarrollo (Nokoff y Rewers, 2013; Patterson et al., 2014).

La DT1 y la EC mantienen una relación estrecha, donde el componente genético de predisposición es prácticamente el mismo, HLA-DQ2 y DQ8. Además, entre los factores perinatales y ambientales asociados al desarrollo de autoinmunidad para ambos padecimientos a edad temprana, están el tipo de parto e infecciones y tratamientos durante la infancia (Vehik y Dabalea, 2011; Elding Larsson et al., 2014). Sin embargo, aún no se conoce con precisión en qué parte del proceso de la enfermedad y qué tipo de efecto tienen estos factores en el inicio de la autoinmunidad y eventualmente, la DT1 o EC (Knip y Simell, 2012).

El objetivo de este estudio fue identificar y describir los factores pre- y perinatales y ambientales relacionados al riesgo de auto-inmunidad y eventualmente el desarrollo de DT1 o EC en preescolares sonorenses genéticamente predispuestos.

## **ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN**

### **Características de dos Enfermedades Autoinmunes**

#### **Diabetes Tipo 1**

La DT1 es una enfermedad crónica de tipo autoinmune, caracterizada por la destrucción de las células beta del páncreas, en individuos con susceptibilidad genética (Nokoff y Rewers, 2013). Su etiología exacta es aún desconocida, el componente genético es un aspecto importante; sin embargo diversos factores ambientales pueden ser sus iniciadores o potenciadores (Knip y Simell, 2012). Por esto, el proceso del desarrollo de la DT1, es muy complejo.

La prevalencia mundial de DT1 es de 1:300 a 1:200. En México, la incidencia de DT1 en niños menores de 5 años es de 1.0 a 1.5 casos por cada 100,000 niños (Gómez-Díaz et al., 2012). En niños sonorenses menores de 14 años de edad, la incidencia de DT1 aumentó, de 1.6 a 3.6 casos por cada 100,000 del año 2000 al 2005 (Enríquez-Leal et al., 2010).

La patogénesis de la DT1 puede dividirse en dos etapas. La primera, es el desencadenamiento de la autoinmunidad de células beta del páncreas. La progresión a la enfermedad, después de un estado de autoinmunidad persistente, se considera como la segunda etapa en su desarrollo. El período de autoinmunidad previo a la DT1 se define por la presencia de dos o más auto-anticuerpos específicos en sangre: contra insulina (IAA), glutamato descarboxilasa (GADA), tirosina fosfatasa pancreática (IA-2A) y el transportador de zinc (ZnT8).

La presencia, los niveles, la edad y el orden de aparición de auto-anticuerpos se usan comúnmente como biomarcadores importantes del riesgo de DT1 (Steck et al., 2015; Sosenko et al., 2013; Pihoker et al., 2005). La progresión a la DT1 puede depender del tiempo o de diversos factores desencadenantes (Eringsmark Regnéll y Lernmark, 2013). En aquéllos con genotipo de riesgo, aparecen primero los anticuerpos IAA, comúnmente durante el primer y segundo año de edad, posteriormente los anticuerpos IA-2A a los 3 años de edad y finalmente los anticuerpos GADA a los 3-5 años de edad. Además, es probable que se encuentren IAA/GADA, IAA/IA-2A o GADA/IAA, de forma combinada (Ilonen et al., 2013).

Los estudios DAISY en Estados Unidos o el estudio DIPP en Finlandia, han dado seguimiento a niños con genotipo de riesgo, determinando la aparición de auto-anticuerpos IAA, IA-2A y GADA. En ambas poblaciones, la presencia de dichos auto-anticuerpos ocurre entre los 2 y 6 años de edad (Steck et al., 2015; Parikka et al., 2012). En población alemana, la seroconversión de auto-anticuerpos IAA, IA-2A y GADA se presenta desde los 9 meses y hasta los dos años de edad según el estudio BABYDIAB (Ziegler et al., 2013). En el estudio TEDDY, que incluye niños de Finlandia, Alemania, Suecia y Estados Unidos, también se observó positividad de los mencionados auto-anticuerpos antes de los 5 años de edad (Elding Larsson et al., 2014; Steck et al., 2015). La presencia y el número de auto-anticuerpos positivos influye en el riesgo de desarrollo de DT1 en etapas posteriores (Steck et al., 2015).

La autoinmunidad a edad temprana condiciona la rápida progresión a DT1 (Ilonen et al., 2013). En dos estudios de seguimiento a niños nacidos con predisposición genética y antecedentes familiares de DT1, se encontró que independientemente

de la proporción que desarrolló autoinmunidad antes de los 5 años de edad, un poco más del 2% derivó en DT1 antes de haber cumplido 7 años. Dichos estudios se realizaron en Finlandia y EUA, el 18.4% y 6.6% respectivamente, había presentado autoinmunidad antes de los 5 años de edad (Parikka et al., 2012; Steck et al., 2015). Incluso a edades más tempranas, como se encontró en los primeros casos reportados del estudio TEDDY, el 1.5% de los niños predispuestos genéticamente desarrolló DT1 a los 2 años de edad, aunque se desconoce a qué edad desarrollaron la autoinmunidad (Elding Larsson et al., 2014). Así varía la progresión a DT1, aunque hay una relación fuerte con la edad en la que se manifiesten los auto-anticuerpos.

No se conocen las causas de la alteración de la respuesta inmune y ataque hacia las células beta del páncreas en la DT1 (Li et al., 2014). Es posible que los factores ambientales se asocien a la expresión genética en moléculas de histocompatibilidad, aumentando el riesgo de autoinmunidad y eventualmente la manifestación de la enfermedad. Esto porque pueden pasar hasta 10 años o más entre la aparición de la autoinmunidad y el desarrollo de la enfermedad.

## **Enfermedad Celiaca**

La enfermedad celiaca (EC) o celiarquía es una enteropatía de tipo autoinmune, desencadenada por la ingestión de gluten dietario en individuos genéticamente predispuestos. La principal característica de la EC es la atrofia de las vellosidades del intestino delgado, con la consecuente malabsorción de nutrientes (Ludvigsson et al., 2013).

La EC afecta al 1-3% de los niños de cualquier población. En la sonorenses, la presencia de los genotipos que predisponen el desarrollo de EC es del 29%, lo cual corresponde a la prevalencia promedio mundial (Ruiz-Dyck, 2012). Además se estima un 0.59% de prevalencia de EC en mexicanos asintomáticos adultos (Remes-Troche et al., 2013). La EC en los niños sonorenses, se presenta con



una amplia variedad de signos y síntomas. Los patrones más comunes de EC en niños de esta región son: EC típica (13/24 casos), no típica (7/24), con síntomas gastrointestinales y extra intestinales (2/24) (Sotelo-Cruz et al., 2013). La presentación más común en los niños pequeños, se caracteriza por diarrea crónica, distensión abdominal, síndrome de malabsorción y pérdida de peso (Sotelo-Cruz et al., 2013).

Durante el inicio y desarrollo de la celiacía, la permeabilidad intestinal se encuentra comprometida. El paso de las proteínas del trigo hacia el lumen intestinal desencadena la respuesta inmunológica innata y adaptativa, provocando un estado de inflamación crónica en el intestino delgado. El daño a la mucosa y atrofia de las vellosidades intestinales, ocurre como un evento posterior. La única manera para prevenir esta respuesta inmune, es el seguimiento de una dieta estricta sin gluten (Heyman et al., 2012).

La interacción de las gliadinas, que son proteínas del gluten, con la transglutaminasa tisular forma complejos estables gliadina-transglutaminasa mediante transaminación y produce péptidos de gliadinas por deaminación. Posteriormente, los complejos y los péptidos de gliadinas son reconocidos por células del sistema inmune, iniciando la respuesta adaptativa y la producción de auto-anticuerpos IgA anti-gliadinas, y anti-transglutaminasa. La respuesta inmune anómala afecta la integridad del epitelio intestinal, perdiéndose el control de la permeabilidad (Di Sabatino et al., 2012).

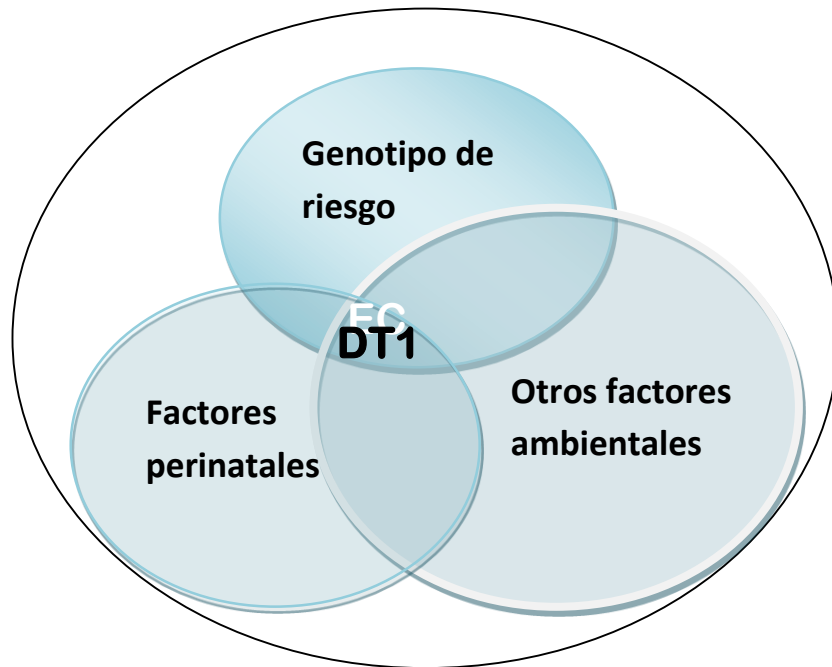
La edad de introducción del gluten en la dieta tiene efectos de importancia para el desarrollo de EC. La producción de anticuerpos IgG contra gliadinas es mayor en niños genéticamente predispuestos a los que se les introdujo el gluten antes de los 6 meses de edad (Sellitto et al., 2012; Lionetti et al., 2014). La introducción de gluten de forma temprana en la dieta (antes de los dos años de edad), aumenta el riesgo de autoinmunidad y posteriormente EC en niños genéticamente predispuestos (Sellitto et al., 2012). Esta práctica favorece el desarrollo de autoinmunidad y la progresión a EC, principalmente en los primeros años de vida.

La aparición de auto-anticuerpos contra transglutaminasa tisular en suero indica el desarrollo de la EC, previo y durante la enfermedad activa. Los anticuerpos IgA anti-transglutaminasa se han detectado en pacientes con histología normal del intestino y posterior EC, considerándose un predictor (Salmi et al., 2006). En niños alemanes con riesgo genético para EC, se detectaron anticuerpos contra transglutaminasa tisular alrededor de los 3 años de edad. Después de 2 años, los niños con anti-transglutaminasa positivos fueron sometidos a biopsia intestinal, confirmándose la presencia de EC en la mayoría de los casos (Hummel et al., 2011; Lionetti et al., 2012).

La presencia de anti-transglutaminasa tisular es también un marcador importante en el diagnóstico y seguimiento de la EC, apareciendo en el 95% de los pacientes al diagnóstico (Ludvigsson et al., 2013; Denham y Hill, 2013). Además, los niveles de auto-anticuerpos en suero se han asociado también al grado de atrofia intestinal y del tipo de manifestación clínica de la enteropatía (Adriaanse et al., 2013; Dahlbom et al., 2010).

### Factores de Riesgo Asociados a DT1 y EC

Los factores asociados al desarrollo de DT1 y EC son múltiples. La predisposición genética es indispensable, pero no suficiente. Las condiciones perinatales y otros factores ambientales, en combinación con la predisposición genética, son clave, principalmente en su manifestación a edad temprana (Knip et al., 2010; Pozo-Rubio et al., 2012) (Figura 1). La complejidad en la etiología de DT1 no ha permitido establecer si la asociación de los factores perinatales y ambientales durante la infancia condiciona el desarrollo de autoinmunidad o aumentan el riesgo de DT1 o EC. Por esta razón, la relación entre el genotipo, condiciones perinatales y ambientales es todavía un tema controversial (Knip y Simell, 2012; Namatovu et al., 2014).



**Figura 1. Interacción de factores de riesgo asociados al desarrollo de diabetes tipo 1 (DT1) o enfermedad celiaca (EC).**

### **Componente Genético**

La susceptibilidad genética a la DT1 y EC se atribuye principalmente a los genes que codifican para el antígeno leucocitario humano (HLA) clase II, así como de otras regiones del genoma (Knip y Simell, 2012; Sollid y Jabri, 2013). El sistema HLA se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6p21.3 y es la sección que contiene diversos genes relacionados con el sistema inmune (Pociot et al., 2010). El complejo de proteínas HLA de clase II incluye los heterodímeros codificados para los locus DP, DR y DQ (Eringsmark Regnell y Lernmark, 2013). La variabilidad genética de la región HLA es el factor de riesgo necesario para el desarrollo de DT1 o EC. Sin embargo, explica sólo el 40-50% de los casos de desarrollo de ambas enfermedades, por lo que no es determinante (Eringsmark Regnell y Lernmark, 2013).

Para el caso de DT1, el genotipo de mayor riesgo es HLA-DR3-DQ2/DR4-DQ8, presente en alrededor del 90% de los niños y adolescentes que en algún momento desarrollan la enfermedad (Eringsmark Regnell y Lernmark, 2013; Nokoff y Rewers, 2013). En niños sonorenses con DT1 se ha encontrado la combinación HLA-DR3-DQ2 un poco más frecuente que HLA-DR4-DQ8 (Mejía-León et al., 2015). En el caso de enfermedad celiaca, los haplotipos HLA-DQ2 (alelos DQA1\*05 y DQB1\*02) y HLA-DQ8 (alelos DQA1\*03 y DQB1\*0302), son los más frecuentemente asociados (Denham y Hill, 2013). El haplotipo HLA-DQ2 se encuentra en el 95% de los pacientes europeos con EC (Karell et al., 2003). En niños sonorenses con EC, el haplotipo HLA-DQ2 es más común que el DQ8 (Sotelo-Cruz et al., 2013). Así, coincide la población de niños sonorenses en ambas enfermedades autoinmunes, en DQ2 con un poco mayor prevalencia que DQ8.

### **Factores Perinatales**

Los factores perinatales se han asociado a DT1 o EC, principalmente en su manifestación a edad temprana (Eringsmark Regnell y Lernmark, 2013). La vulnerabilidad fetal e inmadurez del sistema inmune del niño durante el periodo perinatal pueden favorecer el inicio del proceso autoinmune (Borras et al., 2011), ya que la influencia de las condiciones perinatales es transitoria (Stene y Gale, 2013). Los factores perinatales ya identificados pueden aumentar el riesgo de DT1 o EC de manera directa o favorecer la acción de otros factores ambientales, aunque la relación aún no es clara (Stene y Gale, 2013).

Los estudios de seguimiento en niños con predisposición genética han asociado algunos factores perinatales con el desarrollo de DT1 o EC. En niños estadounidenses del estudio DAYSI, la edad materna  $\geq 30$  años (HR= 1.01, IC 95%: 0.95-1.06), ganancia de peso y talla de forma acelerada (HR=1.63, IC 95%: 1.31-2.05) aumentó el riesgo de DT1 (Frederiksen et al., 2013; Lamb et al., 2009). La edad materna  $\geq 35$  años (OR=1.25, IC 95%: 0.98-1.58) y la ganancia de peso acelerada hasta los 4 años de edad (HR=1.27, IC 95%: 0.95–1.72) también son

importantes en el desarrollo de DT1 en niños europeos (Adlercreutz et al., 2015; Couper et al., 2009). En dicha población también se observó que el peso al nacer  $\geq 3.5$  kg aumenta el riesgo de autoinmunidad (Bonifacio et al., 2008) y hasta en un 10% el riesgo de DT1 en los niños, según el estudio BABYDIAB en Alemania (Cardwell et al., 2012).

El desarrollo de la EC, al igual que DT1 también se ve influenciado por la edad materna  $\geq 30$  años, en niños europeos (OR=1.33, IC 95%: 1.06, 1.66) (Canova et al., 2014). Además, el riesgo de EC se aumentó en las niñas (OR=1.69, IC 95%: 1.51-1.90), con bajo peso al nacer (OR=1.78, IC 95%: 1.52-2.08), con malformaciones congénitas (OR=2.13, IC 95%: 1.7-2.5) y que nacieron durante el verano (OR=1.14, IC 95%: 1.07-1.22) (Adlercreutz et al., 2015; Canova et al., 2014). El nacimiento prematuro también parece influir en el desarrollo de EC, en población europea (OR=1.95, IC 95%: 0.87, 4.35) (Canova et al., 2014). Los factores perinatales asociados influyen de manera distinta dependiendo si se trata de DT1 o EC, así como también del tipo de población en la que se presenten.

Otros factores perinatales como el tiempo entre embarazos y el orden de nacimiento de los niños también se han asociado a DT1 o EC. En niños ingleses, ser el segundo hijo en el orden de nacimiento, con una diferencia menor a 3 años de edad entre embarazos disminuyó de 18-20% el riesgo de DT1 en etapas posteriores (Cardwell et al., 2012). El orden de nacimiento y el periodo entre embarazos, afecta la exposición antigénica temprana y con ello la presencia de infecciones durante la infancia, un factor de riesgo importante en DT1 o EC (Cardwell et al., 2012).

El tipo de parto tiene implicaciones de salud importantes para el niño a lo largo de la vida (Cho y Norman, 2013). El parto por cesárea condiciona la inmadurez del sistema gastrointestinal e inmune, debido a la falta del estrés natural que ocurre con el parto por vía vaginal (Cho y Norman, 2013). Además, el nacimiento por cesárea favorece la colonización de bacterias con potencial patogénico en la microbiota intestinal del recién nacido (Collado et al., 2012). Éste, también afecta la condición de salud y bienestar de la madre, complicando el amamantamiento

y favoreciendo la introducción temprana de fórmula infantil (Zanardo et al., 2010). Así, el tipo de parto influye en la respuesta inmunológica del organismo del niño, favoreciendo indirectamente el desarrollo de enfermedades como DT1 o EC (Cho y Norman, 2013).

El nacimiento por cesárea aumenta de 20-30% el riesgo de DT1, antes de los 6 años de edad (Algert et al., 2009; D'Angeli et al., 2010). El parto vaginal complicado, donde se requiere el uso de fórceps o ventosas, aumenta el riesgo de DT1 en los niños hasta en un 98%, comparado con los que tuvieron un parto vaginal sin complicaciones (Frederiksen et al., 2013). Asimismo, los niños que nacen por cesárea, tienen un riesgo 1.10 a 1.18 veces mayor de desarrollar EC que los que nacen por parto vaginal (Marild et al., 2012; Decker et al., 2010).

El tipo de parto como factor de riesgo para la DT1 o EC, es preocupante si se considera que la práctica de cesárea ha aumentado de manera acelerada en el país. En México, se observó un incremento de 50.3% de nacimientos por cesáreas tanto en el sector público como el privado, en el transcurso de doce años (Suárez-López et al., 2013). En población sonorenses, la práctica de cesáreas únicamente en el sector público también es elevada, ya que aumentó de 32% a 38% durante el periodo 2007-2013 (Beltrán-Sauceda, 2013; Méndez-Velarde et al., 2007). Estas cifras concuerdan con lo publicado por la Encuesta Nacional de Salud 2012, que ubica al estado de Sonora con una prevalencia de cesárea del 35-40% del total de nacimientos (Suárez-López et al., 2013). La práctica indiscriminada de cesáreas en el país y en Sonora, puede contribuir al desarrollo de DT1 o EC, como se ha observado en otras poblaciones.

Los mecanismos por los cuales las condiciones perinatales aumentan el riesgo de DT1 o EC, no se conocen. La influencia del ambiente fetal y post-natal en el desarrollo de autoinmunidad y DT1 o EC, puede deberse al intercambio celular que normalmente ocurre entre madre e hijo, durante el embarazo. Hipotéticamente, el niño reconoce las células maternas como ajenas e inicia la respuesta inmune. Además, las condiciones ambientales a las que se exponga la madre durante el embarazo, afecta la metilación del ADN del niño, interfiere en

la expresión genética y posteriormente, en la aparición de enfermedades (Nielsen et al., 2014; Stene y Gale, 2013).

### **Factores Ambientales**

Las condiciones ambientales en las que un niño se desarrolle modulan el riesgo de autoinmunidad y posteriormente DT1 o EC, a edad temprana (Adlercreutz et al., 2015). Entre los factores ambientales que favorecen DT1 o EC, se han asociado las infecciones y tratamientos durante la infancia, alimentación infantil y condiciones socio-demográficas (Eringsmark Regnéll y Lernmark, 2013). La presencia y el nivel de exposición a factores ambientales de riesgo es distinto entre una población y otra, por ello es difícil detectar factores ambientales específicos (Knip y Simell, 2012).

**Infecciones y tratamientos.** Las infecciones y tratamientos durante la infancia son un factor ambiental de riesgo en el desarrollo de DT1 o EC. Las infecciones causadas por virus son las más conocidas (Yeung et al., 2011), entre éstas, las gastrointestinales causadas por adenovirus o rotavirus, se han asociado al desencadenamiento de EC (Pozo-Rubio et al. 2012). La presencia de infecciones virales durante el primer año de vida aumentó hasta 39% (IRR= 1.39) el riesgo de EC en niños europeos (Canova et al., 2014). El riesgo de autoinmunidad en DT1 se aumentó debido a infecciones respiratorias (HR=2.27, IC 95%: 1.32-3.91) en el estudio BABYDIAB (Beyerlein et al., 2013) y en un 6% a causa de infecciones gastrointestinales (HR=1.06, IC 95%: 1.01–1.11), según el estudio DAYSI (Snell-Bergeon et al., 2012). La presencia de infecciones virales, puede inducir la respuesta inmune contra tejidos propios; sin embargo, su relación con autoinmunidad en DT1 o EC, no está clara (Kramná et al., 2015).

Los tratamientos con fármacos, particularmente antibióticos, modulan el riesgo de DT1 o EC en los niños. En niños europeos, el uso de  $\geq 5$  periodos con antibióticos por año aumentó 2.66 veces el riesgo de EC, comparado con los niños que no utilizaron antibióticos (Canova et al., 2014). Un grupo de niños

sonorenses con DT1 de larga evolución, había utilizado  $\geq 5$  periodos de tratamiento con antibióticos al año (Mejía-León et al., 2014). A su vez, el tipo de antibióticos utilizados (penicilinas, cefalosporinas o macrólidos) influyen de manera distinta en el riesgo de autoinmunidad en DT1, debido a las diferencias de espectro (Canova et al., 2014).

**Alimentación infantil.** La alimentación al seno materno debe realizarse de forma exclusiva durante los primeros 6 meses de vida del niño y posteriormente la introducción de alimentos, mientras se continúa amamantando, según la recomendación establecida (OMS, 2013). Sin embargo, actualmente esta práctica en nuestro país y en Sonora, se encuentra muy lejos de cumplir dicha recomendación. Así, la falta de amamantamiento y la introducción de alimentos de forma inadecuada puede condicionar el riesgo de desarrollar DT1 o EC, en los niños con predisposición genética (Pereira et al., 2014).

En nuestro país, el porcentaje de niños amamantados en forma exclusiva es muy bajo. En el 2012 sólo el 14.4% de los niños menores de 6 meses recibían leche materna como único alimento según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. En Sonora, el amamantamiento no logra mantenerse más allá de los 3 meses de edad, a pesar de que las madres cuentan con algún tipo de apoyo educativo (Bolaños et al., 2012). Alrededor del 60% de las madres opta por una lactancia mixta, es decir la combinación de leche materna con fórmula antes del primer mes de edad para alimentar a sus hijos (Beltrán-Sauceda, 2013).

En niños sonorenses, la introducción de alimentos distintos a la leche, ocurre generalmente en forma de “probaditas” incluso antes de los 2 meses de edad (Beltrán-Sauceda, 2013). En algunos casos, el consumo de alimentos a edad temprana se da debido a la corta duración del amamantamiento, o a otros factores culturales y socio-demográficos (Armstrong et al., 2014; Tromp et al., 2013). Los regímenes de alimentación infantil inadecuados podrían condicionar el desarrollo de enfermedades, entre ellas las de tipo autoinmune (Norris, 2010). La falta de amamantamiento e introducción de alimentos sólidos a edad



temprana, provocan reacciones fisiológicas adversas, que podrían asociarse al desarrollo de DT1 o EC en los niños predispuestos (Pereira et al., 2014).

Los regímenes de alimentación infantil se han asociado al desarrollo de DT1, a edad temprana. Frederiksen et al. (2013), compararon niños con y sin DT1, observando que aquéllos que desarrollaron DT1 durante la infancia, tuvieron un periodo de amamantamiento más corto (3.7 meses vs 4.2 meses). Viner et al. (2008), encontraron un porcentaje igual de niños con y sin DT1 amamantados o no. La introducción de cereales, que contienen antígenos desencadenantes de DT1, incrementa el riesgo si se introducen antes de los 3 y después de los 7 meses de edad. La introducción de cereales mientras se continúa el amamantamiento disminuye del riesgo de autoinmunidad (HR=0.70, IC 95%: 0.38-1.28) y posterior DT1 (HR= 0.46, IC 95%: 0.26-0.80) (Frederiksen et al., 2013). Los resultados sobre los efectos del régimen de alimentación infantil en el desarrollo de DT1, son aún inconsistentes.

En el caso de la EC, la duración del amamantamiento, la introducción temprana o tardía del gluten, mientras se continúa amamantando no se asocian al desarrollo de la enfermedad (Lionetti et al., 2014). Los regímenes de alimentación en la infancia tienen menor importancia en el desarrollo de la EC (Lionetti et al., 2014; Ludvigsson y Green, 2014).

El consumo a edad temprana de tubérculos como la papa y la zanahoria, se ha relacionado con autoinmunidad y DT1 en niños finlandeses (Virtanen et al., 2012). En algunas culturas, los cereales son comúnmente los primeros alimentos introducidos en la dieta de un niño, el consumo de vegetales ocurre posteriormente (Grummer-Strawn et al., 2008).

El contacto con las proteínas de los cereales, aumenta la proliferación de células T, incrementando la respuesta inmune de DT1 o EC. En el caso de DT1, se cree que el estado de inflamación que inicia en el intestino delgado infiltra la misma respuesta inmune hacia las células beta del páncreas, iniciando su destrucción (Barbeau, 2014; Knip et al., 2010). Los cereales en la dieta influyen en la

composición de la microbiota intestinal, otro factor importante en el desarrollo de DT1 (Patrick et al., 2013).

**Consumo de leche de vaca.** El consumo de leche bovina por los niños ocurre principalmente por la introducción de sus proteínas en las fórmulas infantiles (Knip et al., 2010). Dichas proteínas pueden formar agregados de difícil digestión, que pueden inducir el inicio de reacciones adversas o actuar como potentes alérgenos en los recién nacidos (Knip et al., 2012).

En México, es común el uso de fórmula infantil en la alimentación de los lactantes, la publicidad de los fabricantes de fórmulas es excesiva y no se encuentra regulada, incluso dentro de unidades de atención médica (Henderson et al., 2000). En una muestra de población sonorenses de bajos recursos, el 20% de los niños eran alimentados únicamente con fórmula a los 2 meses de edad, ya que las madres lo consideran una opción segura y moderna (Beltrán-Sauceda, 2013).

Las proteínas de la leche de vaca son principalmente caseínas (hasta un 80%) y proteínas del suero (Tsabouri et al., 2014). Las caseínas se dividen en caseínas alfa S1, alfa S2, beta y kappa. Las caseínas beta son la fracción más abundante y se consideran los principales alérgenos de la leche de vaca, además se han asociado al desarrollo de trastornos autoinmunes (Tsabouri et al., 2014). La estructura compleja de las caseínas de la leche de vaca favorece la presencia de péptidos de gran tamaño que no pueden ser digeridos en el intestino del niño y con ello, el inicio de reacciones inmunológicas adversas (Boutrou et al., 2013; Calderón de la Barca y Mejía-León, 2012). En menor cantidad, se tienen las proteínas de suero, de las cuales la lactoglobulina beta es un potente alérgeno, que no se encuentra en la leche humana (Calderón de la Barca et al., 1996).

Las poblaciones que consumen leche con altos niveles de caseína beta A2 tienen una menor incidencia de DT1, que aquellas con predominancia de caseína beta A1, como en el caso de Nueva Zelanda (Kaminski et al., 2007). Esto puede deberse al efecto de la casomorfina beta 7, un péptido opiode derivado de las caseínas A1, que puede afectar funciones del sistema nervioso, endócrino, e

inmune (Bell et al., 2006). La permanencia de este péptido en el tracto gastrointestinal, es mayor respecto al resto derivados de la digestión de las caseínas, lo que puede favorecer su acción biológica (Barnett et al., 2014; Boutrou et al., 2013). La absorción de la casomorfina beta 7 ocurre solamente en los niños debido a la inmadurez de su sistema gastrointestinal (Bell et al., 2006); de allí que este péptido se haya asociado al desarrollo de autoinmunidad (Miluchová et al., 2013).

Otro mecanismo de la asociación entre leche de vaca y autoinmunidad podría ser la reactividad cruzada entre la insulina bovina y la insulina humana (Knip et al., 2010; Vaarala et al., 2012). Ambas tienen estructuras similares, sólo difieren en tres aminoácidos, dos de ellos en la cadena A y uno en la cadena B (Vaarala et al., 2012). La respuesta inmune inicial a la insulina bovina puede ser desviada posteriormente hacia la insulina humana, iniciando la destrucción de células productoras de insulina (Marttila et al., 2008). Sin embargo, Adler et al. (2011) mostraron que la insulina bovina no es muy afín a los anticuerpos específicos contra insulina humana.

No se han evaluado a fondo los mecanismos de los efectos hipotéticos de las proteínas y péptidos de la leche de vaca en la inducción del riesgo de autoinmunidad y eventualmente DT1 o EC en los niños genéticamente predispuestos (Knip y Simell, 2012; Virtanen et al., 2012). Dichos efectos se infieren de estudios de asociaciones epidemiológicas (Clemens, 2011; Truswell et al., 2005).

El efecto adverso de la leche de vaca en el desarrollo de DT1 o EC varía dependiendo del genotipo de riesgo y del momento de su introducción (Lamb et al., 2014). El 6% de niños con riesgo genético que consumieron fórmula infantil, mostraron uno o más auto-anticuerpos positivos a los 3 años de edad (Vaarala et al., 2012). El consumo de leche de vaca se ha asociado con DT1 en un 50% de niños con autoinmunidad (HR=1.59, IC 95%: 1.13–2.25) (Lamb et al., 2014). Asimismo, el consumo de este alimento aumentó el riesgo de autoinmunidad en los niños con genotipo de riesgo bajo o moderado (HR=1.41, IC 95%: 1.08–1.84),

pero no en aquéllos con genotipo de riesgo alto (HR=0.85, IC 95%: 0.61–1.18) (Lamb et al., 2014; Virtanen et al., 2000).

En otro estudio, más del 25% de los niños de 3 a 8 años con síntomas típicos de EC, presentaban aumento de anticuerpos IgA contra caseína beta (Cabrera-Chávez et al., 2009). Sin embargo, no hay acuerdo en los resultados sobre la asociación del consumo de leche de vaca y el desarrollo de autoinmunidad y posterior DT1 o EC, por lo que se requiere más investigación (Knip et al., 2010).

**Otros factores ambientales.** El nivel económico bajo condiciona la escolaridad, las condiciones de vida y aumenta el riesgo de algunas enfermedades. Son condicionantes que impiden el acceso a un entorno y vivienda digna y, así como a servicios de salud de calidad, favoreciendo una exposición antigénica mayor (Calixto y Anaya, 2014; OMS, 2008).

Los niños que viven y crecen en un nivel socio-económico bajo se exponen tempranamente a diversos antígenos. De acuerdo a la hipótesis de la higiene, así se modula el sistema inmune, disminuyendo el riesgo de DT1 o EC (D'Angeli et al., 2010; Okada et al., 2010). Este efecto protector en el desarrollo de DT1, se ha evaluado en niños europeos (Bruno et al., 2013). En los países desarrollados que tienen mejores condiciones de higiene y atención en salud, la prevalencia de DT1 es mayor (Ghazarian et al., 2013). Sin embargo, hasta ahora no es posible establecer una relación directa (Okada et al., 2010).

En suma, el genotipo de riesgo, los factores perinatales y ambientales aumentan el riesgo de DT1 o EC durante la infancia. La población sonoreense presenta los genotipos de riesgo para DT1 o EC similarmente a otras poblaciones. Aunque no se han estudiado otros factores de riesgo con relación a autoinmunidad, se tienen datos de alto índice de cesáreas y malas prácticas de alimentación infantil de los niños sonorenses. La duración del amamantamiento es muy corta, permitiendo la introducción temprana de fórmula infantil y otros alimentos. La combinación de estos factores, podría aumentar el riesgo de autoinmunidad y su progresión a DT1 o EC, entre los niños sonorenses.

## **HIPÓTESIS**

Las condiciones perinatales inadecuadas, las prácticas deficientes de alimentación infantil, las infecciones recurrentes y su tratamiento con antibióticos durante la infancia, son factores involucrados en la presencia de autoinmunidad y eventualmente el desarrollo de DT1 o EC en pre-escolares sonorenses genéticamente predispuestos.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Identificar y describir los factores pre- y perinatales y ambientales relacionados al riesgo de auto-inmunidad y eventualmente el desarrollo de DT1 o EC en preescolares sonorenses genéticamente predispuestos.

### **Específicos**

Identificar niños con haplotipos o alelos de pre-disposición y analizar anticuerpos específicos para DT1 o EC, en aquéllos de alto riesgo genético.

Registrar las condiciones perinatales, prevalencia y manejo de infecciones y regímenes de alimentación durante el primer año de vida, a través de una entrevista estructurada a la madre de los niños de alto riesgo genético.

## **SUJETOS Y MÉTODOS**

### **Sujetos**

En este estudio se evaluaron niños de entre 4 y 6 años de edad, que acudían a 2 instituciones de educación pre-escolar, ubicadas en la zona norte y sur de Hermosillo, Sonora. De octubre de 2014 a junio de 2015, se contactó e invitó a participar a los padres de familia o cuidadores de los niños, a través de una reunión dentro del plantel educativo al que asistía su hijo. Los padres que aceptaron participar, firmaron una carta de consentimiento informado.

### **Diseño del Estudio**

El estudio fue transversal y descriptivo. De los hijos de las madres que aceptaron participar se colectaron muestras de sangre capilar para la identificación de haplotipos de riesgo. De los niños con riesgo genético alto (ver estratificación del riesgo dos secciones adelante), se tomó una muestra de sangre periférica para la determinación de anticuerpos asociados a DT1 o EC. Además, se aplicó una entrevista estructurada a la madre, en búsqueda de factores perinatales y ambientales durante el primer año de vida del niño, posiblemente involucrados en el desarrollo de autoinmunidad.

### **Obtención de Muestras de Sangre Seca y Extracción de ADNg**

Las muestras de sangre seca se obtuvieron por punción capilar de cada uno de los niños participantes. La punción se realizó en el dedo índice izquierdo, con

lancetas estériles. Se colocaron en una pieza de papel filtro estéril (Whatman® No.1), 3 gotas de sangre (>6 mm) de cada niño y se almacenó en una bolsa de plástico con sello, etiquetada con el nombre del niño y la fecha de toma (Aguayo-Patrón et al., 2015).

Se extrajo ADN genómico (ADNg) de cada una de las muestras de sangre seca colectadas. La extracción de ADNg se realizó siguiendo la técnica de Aguayo-Patrón et al. (2015). La concentración (ng/μL) y pureza (260/280 nm) del ADNg de cada una de las muestras, se evaluó en un espectrofotómetro Nanodrop 2000® (Thermo Scientific, Pittsburgh, USA).

### **Identificación de Haplotipos HLA y de Riesgo Genético Alto para DT1 o EC**

Se realizó la detección de haplotipos HLA-DR3-DQ2 o DR4-DQ8, por reacciones dúplex de cada par de alelos, con iniciadores prediseñados (Olerup et al., 1993), utilizando la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real, con detección de fluorocromo (iQ™ SYBR® Green supermix) (Aguayo-Patrón et al., 2015; Lavant et al., 2011). La lectura de las curvas de fluorescencia se realizó en el termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems).

Se seleccionaron únicamente aquellos niños con riesgo genético alto para DT1 o EC, de acuerdo al gradiente de riesgo genético de niños sonorenses (Mejía-León et al., 2015). Esto es, los que presentaban los haplotipos, HLA-DQ2 y DQ8, DQ2 o DQ8, o el alelo DQB1\*0201 combinado con DQA1\*0301 o DQB1\*0302.

### **Obtención de Muestras de Sangre Periférica y Separación del Suero**

A los niños con alto riesgo genético de DT1 o EC, se les tomó una muestra de sangre periférica de la vena del antebrazo izquierdo, con BD Vacutainer®. Las muestras se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 min a 25°C, para la obtención del suero. El suero se conservó a 4°C hasta su análisis.

## **Análisis de Anticuerpos Específicos de DT1 o EC**

Los auto-anticuerpos IgA anti-gliadinas y anti-transglutaminasa asociados a EC y anticuerpos contra insulina característicos de DT1, se cuantificaron por ELISA, siguiendo el método de Cabrera-Chávez et al. (2009). Brevemente, éste consistió en cubrir las placas con 5 µg/mL de gliadinas, transglutaminasa o insulina en buffer de cubierta (100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 9.6), durante 12 h. Después de lavar 3 veces, se bloquearon las placas con gelatina de pescado al 1% y se lavó de nuevo. Se incubó durante 12 h con suero humano iniciando con dilución 1:100 para anti-gliadinas y anti-transglutaminasa y en dilución 1:500 para insulina, haciendo diluciones dobles seriadas. Finalmente, se lavaron e incubaron las placas con anticuerpos de conejo anti-IgA humana (para gliadinas y transglutaminasa) o anti-IgG humana (para insulina), durante 1 h. Se lavó y se desarrolló la reacción enzimática después de un último lavado con buffer PBS (15 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM NaCl, pH 7.4, 0.2 % de Tween<sup>®</sup> 20). Se detuvo la reacción usando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (1 M). Se leyeron las placas a 450 nm, en un lector Biorad (modelo 550, Hercules, CA).

El punto de corte IgA anti-transglutaminasa, anti-gliadinas e IgG anti-insulina fue el promedio  $\pm$  2 desviaciones estándar de la absorbancia de sueros de niños sanos. El índice de reactividad se calculó dividiendo la absorbancia de cada uno de los sueros entre el punto de corte establecido, considerando los índices  $\geq$  1.0 como positivos.

## **Identificación de Factores Perinatales, Antecedentes Clínico-Familiares y Factores Ambientales Involucrados en DT1 o EC**

La identificación de los factores involucrados en autoinmunidad para EC o DT1, se realizó mediante la historia clínica del niño y por medio de una entrevista



estructurada diseñada *ex profeso*, que se aplicó a las madres de los niños con riesgo genético alto de DT1 o EC. Se estructuró una guía de entrevista con las áreas de interés y categorías (Cuadro 1).

El audio de la entrevista fue registrado en su totalidad, con una grabadora digital OLYMPUS® VN-4100PC (Pennsylvania, USA), previa autorización de la madre. Las entrevistas fueron transcritas textualmente para su análisis posterior.

Además, se realizó observación de las condiciones del entorno donde habitan las madres y los niños participantes y las condiciones de la vivienda, al momento de la entrevista. Dicha información fue registrada en un diario de campo para su posterior análisis.

### **Análisis Estadístico**

Se utilizó estadística descriptiva para las características de la población estudiada. Las variables continuas fueron expresadas como media  $\pm$  desviación estándar y las variables categóricas como porcentaje (%).

La información obtenida de cada una de las entrevistas fue de corte cualitativo y para su análisis se elaboró una matriz de acuerdo con las categorías y periodos de interés. Estas fueron: condiciones de vida, embarazo (inicio, durante y al momento del parto), cuidados posparto, cuidados del infante, enfermedades y tratamientos y régimen de alimentación durante el primer año de vida.

**Cuadro 1. Guía de entrevista estructurada aplicada a las madres**

<b>Área de interés</b>	<b>Categorías</b>
Antecedentes familiares	<ul style="list-style-type: none"><li>• Presencia de enfermedades autoinmunes en familiares de 1°, 2° y 3° grado.</li></ul>
Periodo pre- y perinatal	<ul style="list-style-type: none"><li>• Características maternas previas y durante el embarazo.</li><li>• Complicaciones durante el embarazo</li><li>• Cuidados y atención médica pre- y post parto</li><li>• Tipo de parto</li><li>• Estado de salud del niño</li><li>• Cuidados del recién nacido</li></ul>
Condiciones ambientales	<ul style="list-style-type: none"><li>• Condiciones de vida</li><li>• Alimentación durante el primer año de vida</li><li>• Tipo y frecuencia de infecciones durante la infancia (bacterias, virus o parásitos).</li><li>• Uso de antibióticos (tipo y frecuencia)</li></ul>

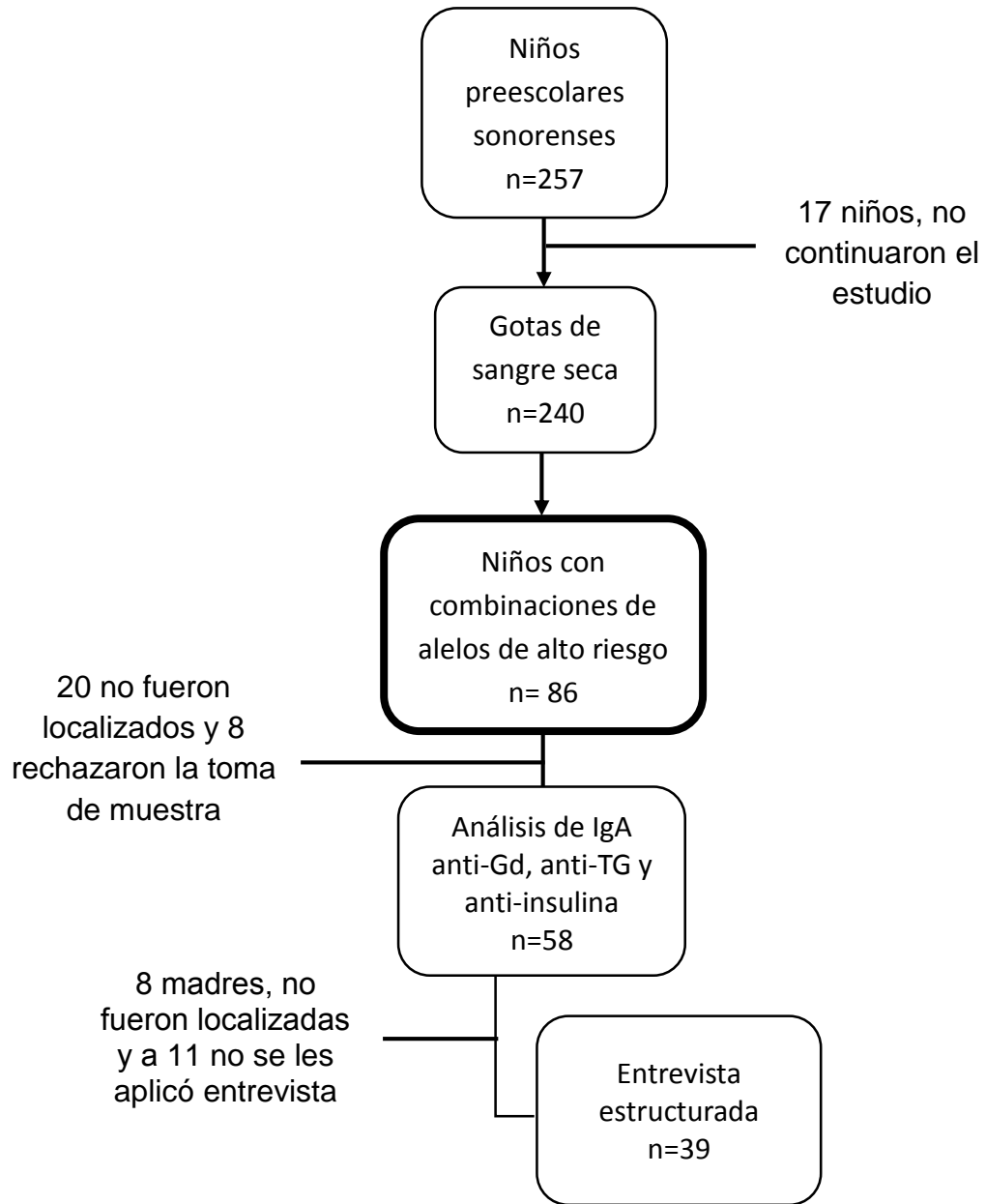
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Población Estudiada

Aceptaron participar 257 niños de edad preescolar, firmando sus padres consentimiento informado. El 52.1 % fueron del sexo femenino y el 47.9% del sexo masculino; la edad promedio fue de  $5.08 \pm 0.58$ . El contacto e invitación a participar se realizó a través de una reunión con los padres de familia, dentro del preescolar al que asistían los niños. A cambio de la participación, a los padres se les entregó por escrito la evaluación del estado nutricional de los niños de acuerdo a su peso y talla, además del análisis del grupo sanguíneo.

De los 257 niños cuyos padres consintieron participar, se colectaron 240 muestras de gotas de sangre seca, para la identificación de los haplotipos de riesgo (Figura 2). El resto (17 niños) no continuó en el estudio por diversas razones: 3 niños fueron dados de baja definitiva del pre-escolar, una mamá decidió abandonar el estudio y 13 no acudieron a clases los días de muestreo.

De los 240 niños participantes, 86 presentaron combinaciones de alelos de riesgo genético alto para DT1 o EC, de acuerdo al gradiente de riesgo genético para niños sonorenses (Mejía-León et al., 2015). Estos se contactaron, exceptuando a 20 que no se pudieron localizar, solicitándoles la muestra de sangre venosa de sus hijos y la disponibilidad para aplicarles una entrevista estructurada. Aunque las 66 madres (o padres) aceptaron continuar, 8 niños rechazaron por completo la toma de muestra de sangre. Respecto a la entrevista, no se pudo localizar a 8 madres y a 11 ya no se consideró necesario aplicar la entrevista, debido a que se habían saturado las respuestas (eran repetitivas).



**Figura 2. Diagrama de flujo de participantes en cada fase del estudio**

## **Obtención de Muestras de Sangre Seca y Extracción de ADNg**

Se obtuvieron 240 muestras de sangre de los niños participantes. Se optó por el método de colección de gotas de sangre por punción del dedo, por ser mínimamente invasivo para los niños y adecuado para la identificación de haplotipos en la población (Aguayo-Patrón et al., 2015).

En la extracción de ADNg se obtuvo una concentración promedio de  $54.7 \pm 8.5$  ng/ $\mu$ L y una relación ABS 260/280 de 1.5. La concentración de ADN fue mayor a la obtenida por Aguayo-Patrón et al. (2015), aunque con una relación de pureza menor (1.75 vs. 1.5).

## **Identificación de Haplotipos HLA y de Riesgo Genético Alto para DT1 o EC**

De 240 niños evaluados, 74 presentaron haplotipos completos de predisposición genética a DT1 o EC, es decir el 30.8% del total de la muestra. Esto coincide con ~ 30% de la población sonoreense que presenta haplotipos de predisposición a DT1 o EC, al igual que otras poblaciones alrededor del mundo (Ruiz-Dyck, 2012); lo que varía es la proporción DQ2:DQ8.

En el Cuadro 2, se presentan las combinaciones de alelos de los niños participantes. Se encontró el haplotipo HLA-DQ2 en el 17% de los niños, 15% tenían el HLA-DQ8 y el 1.3% presentaban ambos haplotipos; así HLA-DQ2 se encuentra en una proporción un poco mayor que HLA-DQ8. En niños sonorenses con EC o DT1 el haplotipo DQ2 es un poco mayor que el DQ8 (Mejía-León et al., 2014; Sotelo-Cruz et al., 2013).

**Cuadro 2. Combinaciones de haplotipos o alelos de los niños participantes con alto riesgo genético**

<b>Haplotipos de riesgo</b>	<b>Número de niños (%)</b>
DQA1*0501 + DQ8	28 (32.5)
DQ2 + *0302	22 (25.5)
DQ2	14 (16.2)
*0201 + *0301	8 (9.3)
DQ8	4 (4.6)
*0201 + *0302	4 (4.6)
DQ2 + DQ8	3 (3.4)
DQ2 + *0301	2 (2.3)
DQB1*0201 + DQ8	1 (1.1)

**Análisis de Anticuerpos Específicos de DT1 o EC**

Se colectaron 58 muestras de sangre venosa de los niños con riesgo genético alto, a los que se analizó IgA anti-gliadinas (anti-Gd) y anti-transglutaminasa (anti-TGt), así como IgG anti-insulina. Los índices IgA anti-Gd fueron positivos en 6 niños ( $1.09 \pm 0.06$ ), en ninguno hubo auto-anticuerpos contra la transglutaminasa y 4 niños tuvieron índices positivos anti-insulina (Cuadro 3). No hubo ningún caso con anticuerpos específicos para EC y DT1, de manera conjunta.

Los resultados indican una tendencia hacia EC y no para DT1, dicha tendencia era de esperarse ya que la prevalencia de EC (1:200-1:100) es un poco mayor que la de DT1 (1:300-1:200) (Knip y Simell, 2012; Elding Larsson et al., 2014).

**Cuadro 3. Índices de anticuerpos y auto-anticuerpos específicos de DT1 o EC analizados en suero de niños con riesgo genético alto**

	<b>Positivos</b>	<b>Negativos</b>
	(Media ± DE)	(Media ± DE)
IgA Anti-Gd	6/58 (1.09 ± 0.06)	52/58 (0.645 ± 0.22)
IgA Anti-TGt	-	58/58 (0.417 ± 0.14)
IgG anti-insulina	4/58 (1.34 ± 0.26)	54/58 (0.531 ± 0.188 )

La presencia de IgA anti-Gd en el suero de los niños de este estudio es indicativo de alteraciones en la permeabilidad intestinal que permite el paso de proteínas a través del epitelio. Los anticuerpos IgA anti-Gd, son una respuesta inmune inicial que eventualmente puede condicionar la aparición de auto-anticuerpos contra la transglutaminasa tisular. En niños pequeños (menores de 2 años) con EC activa, es común encontrar solo la IgA anti-Gd (Ludvigsson et al., 2013).

La respuesta inmune inicial en contra de los péptidos de gliadinas fue similar a lo observado por Sellitto et al. (2012), en niños italianos sin síntomas de EC pero de alto riesgo, aunque ellos evaluaron anticuerpos de la clase IgG. En nuestro estudio la respuesta inmune en contra de los péptidos de gliadinas es más específica, ya que la IgG es de las primeras inmunoglobulinas en producirse y posteriormente aparece IgA.

En el caso de DT1, se observó la presencia de anticuerpos contra insulina en 4 niños. Los anticuerpos anti-insulina son importantes marcadores pre-clínicos de la enfermedad, especialmente en los niños menores de 5 años (Nokoff y Rewers,

2013). La aparición de anticuerpos contra insulina, eventualmente condicionará la progresión a la producción de auto-anticuerpos específicos y la manifestación clínica de DT1 (Ziegler et al., 2013). Sin embargo, la autoinmunidad a DT1 se define por al menos dos auto-anticuerpos (Steck et al., 2015) y aquí se encontró solo uno. Así mismo, cuando se detectan al menos 2 auto-anticuerpos, la progresión a DT1 es ineludible (Ziegler et al., 2013).

### **Características de Niños con Índices de IgA Anti-gliadinas y Anti-insulina Positivos y Negativos**

En el Cuadro 4, se presentan los 6 casos con índices de IgA anti-Gd positivos, en el Cuadro 5, los 4 casos con índices anti-insulina positivos. La edad promedio de los casos positivos anti-gliadinas y anti-insulina fue de 5.1 años de edad, 5 de ellos fueron niñas y 5 niños. En el Cuadro 6 se registran las características de 6 niños con predisposición genética pero con índices de IgA anti-Gd negativos, seleccionados al azar. En estos últimos, la edad promedio fue de 5.1 años y se tuvieron 4 niños y 2 niñas. La edad de los niños en ambos grupos fue igual, lo que hace válida la comparación en cuanto a sus características.

La respuesta inmune en contra de los péptidos de gliadinas, en los niños de este estudio, se presentó a los 5 años de edad o antes, ya que solo se evaluaron una vez. En niños europeos con predisposición genética también se observó la presencia de anticuerpos IgA anti-Gd, en niños entre los 2 y 5 años de edad (Lionetti et al., 2014). Incluso, se ha detectado la presencia de anticuerpos contra gliadinas a edad más temprana, entre 6 y 12 meses, cuando se introduce el gluten en la dieta antes de tiempo (Sellitto et al., 2012).

La presencia de anticuerpos anti-insulina, al igual que la de anticuerpos anti-gliadinas en el presente estudio, ocurrió a los 5 años de edad. Los anticuerpos contra insulina son comúnmente los primeros en aparecer y se han detectado incluso a edades más tempranas, en otras poblaciones. En el estudio DIPP, en Finlandia, se detectaron anticuerpos contra insulina, durante el primer y segundo año de edad y posteriormente GADA e IA-2A, a partir de los 3 años de edad, en



niños de alto riesgo y en seguimiento (Ilonen et al., 2013; Parikka et al., 2012). Además, en el estudio TEDDY, en niños de Estados Unidos y Europa con predisposición genética, se presentaron casos de DT1 a los 2 años de edad, es decir la aparición de auto-anticuerpos debió ocurrir con anterioridad (Steck et al., 2015). Ambos estudios, han dado seguimiento a los niños con predisposición genética y antecedentes familiares desde el nacimiento, analizando periódicamente la presencia de auto-anticuerpos y síntomas asociados a DT1.

En nuestro entorno, realizar estudios de seguimiento no es factible, en primer término porque apenas se empieza a conocer y/o registrar el tipo de enfermedades autoinmunes en esta región, además de lo costoso que resultaría. Por esta razón, se decidió analizar la presencia de auto-inmunidad en una edad determinada, como lo recomiendan Catassi y Fasano (2014), a los 5-6 años.

De los niños con anticuerpos IgA anti-Gd, 4 de 6 presentaron la combinación de haplotipos, DQ2 o DQ2 + \*0302 y 2 niños presentaron la combinación DQ8 + \*0501 (Cuadro 4). En los niños con anticuerpos anti-insulina, la combinación de alelos fue \*0201 + \*0301, en la mitad de los casos y el DQ2 + \*0301 o \*0302, en el resto. En los niños con índices IgA anti-gliadinas y anti-insulina negativos (Cuadro 6), el haplotipo DQ2 se observó en 3/6 casos y el DQ8 o DQ8 + \*0501 en tres casos. Así, en ambos grupos el riesgo genético era igualmente alto para EC o DT1, de acuerdo al gradiente propuesto por Mejía-León et al. (2015).

**Cuadro 4. Características de los niños con haplotipos de riesgo y anticuerpos anti-gliadina positivos**

<b>Caso</b>	<b>Edad/ Sexo<sup>a</sup></b>	<b>Alelos HLA</b>	<b>Anti-Gd</b>	<b>Anti-TG</b>	<b>Anti- insulina</b>	<b>Síntomas actuales<sup>b</sup></b>	<b>Antecedentes familiares, datos nacimiento y alimentación a los 2 años</b>	
1	5 a 6m / M	DQ2	1.139	0.443	0.800	D	Vaginal, <2.5 kg.	Fórmula. Introducción de vegetales: 7.5 meses. Cereales: 8 meses
2	4 a 9m / F	DQ2+ *0302	1.056	0.426	0.428	DA	Cesárea, >2.5 kg. Infancia: Amigdalitis / Antibiótico	Lactancia mixta, introducción de vegetales: 6 meses; cereales: 8 meses
3	5 a 8m / M	DQ8+ *0501	1.104	0.721	0.272	D, C	Vaginal, >2.5 kg.	Fórmula. Introducción de vegetales: 7 meses, cereales: 7 meses
4	5 a 9m / F	DQ2+ *0302	1.107	0.632	0.451	Ninguno	Cesárea, > 2.5 kg. Infancia: Asma/nebulizaciones	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 12 meses
5	6 a 2m / F	DQ2+ *0302	1.159	0.587	0.810	D, C	Vaginal, >2.5 kg	Pecho (2 meses) / Fórmula. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 2 meses
6	4a 6m / M	DQ8+ *0501	1.000	0.706	0.705	D	Vaginal, >2.5kg.	Pecho (8 meses)/ Leche Liconsa. Introducción de vegetales: 2 meses, cereales: 3 meses

F= Femenino, M= Masculino, D= Diarrea, DA=Distensión abdominal, C= Constipación

**Cuadro 5. Características de los niños con haplotipos de riesgo y anticuerpos anti-insulina positivos**

Caso	Edad/ sexo*	Alelos HLA	Anti- Gd	Anti-TG	Anti- insulina	Síntomas actuales	Antecedentes familiares, datos nacimiento y alimentación a 2 años	
1	5 a 1m /F	*0201+ *0301	0.903	0.586	1.294	Ninguno	Vaginal, >2.5 kg.	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 6 meses
2	5a 1m /M	*0201+ *0301	0.610	0.522	1.251	Ninguno	Cesárea, >2.5 kg.	Pecho (1 año). Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 8 meses
3	4a 5m /F	DQ2+ *0302	0.728	0.380	1.105	Ninguno	Vaginal, >2.5 kg.	Lactancia Mixta. Introducción de vegetales: 7 meses, cereales: 5 meses
4	5a 5m /M	DQ2+ *0301	0.679	0.408	1.722	Ninguno	Vaginal, >2.5 kg.	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 8 meses

\*F=Femenino, M=Masculino

**Cuadro 6. Características de los niños con haplotipos de riesgo e IgA anti-gliadinas y anti-insulina negativos**

Caso	Edad/ sexo <sup>a</sup>	Alelos HLA	Anti- Gd	Anti-TG	Anti- insulina	Síntomas Actuales <sup>b</sup>	Antecedentes familiares, datos nacimiento y alimentación a 2 años	
1	4 a 9m /M	DQ2	0.476	0.286	0.820	Ninguno	Cesárea, >2.5 kg. Infancia: Asma /Nebulizaciones.	Fórmula. Introducción de vegetales: 6 meses; cereales: 6 meses.
2	6 a 2m /F	DQ8 + *0501	0.385	0.232	0.471	DE	Vaginal, >2.5 kg.	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 6 meses.
3	5 a 2m /M	DQ8	0.549	0.240	0.508	DA, C	Vaginal, >2.5 kg. Infancia: Bronquiolitis /antibiótico	Pecho (6 meses). Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 6 meses
4	5 a 6m /M	DQ2	0.746	0.350	0.512	DA	Vaginal, >4.0 kg Infancia: Bronquiolitis / antibiótico, amigdalitis/ penicilinas	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 4 meses, cereales: 4.5 meses.
5	4a 5m /F	DQ2	0.479	0.253	0.422	Ninguno	Vaginal, >2.5 kg. Infancia: Bronquiolitis / antibiótico, tos/ salbutamol	Pecho (3 meses) /Fórmula: 3 meses. Introducción de vegetales: 6 meses, cereales: 9 meses.
6	5a 1m /M	DQ8 + *0501	0.840	0.393	0.794	Ninguno	Cesárea, >2.5 kg.	Lactancia mixta. Introducción de vegetales: 4 meses, cereales, 6 meses

Femenino, M= Masculino, D= Diarrea, DA=Distensión abdominal, DE= Dolor Estomacal C= Constipación

Los niños con IgA anti-gliadinas positivos, presentaron síntomas gastrointestinales ocasionales, como diarrea, distensión abdominal y constipación, excepto en un caso (Cuadro 4). Los niños anti-insulina positivos, no presentaron ningún tipo de síntoma asociado a DT1. De los niños con índices de anti-gliadinas y anti-insulina negativos, 3/6 niños presentaron síntomas gastrointestinales (Cuadro 6). Es de esperarse que no tengan síntomas de EC puesto que no la han desarrollado, ni aun tienen presencia de auto-anticuerpos contra transglutaminasa; solo están en muy alto riesgo de padecerla.

De los 6 niños con IgA anti-gliadinas positivos, 2 nacieron mediante cesárea (Cuadro 4) y en los niños con anti-insulina positivos sólo 1/4 casos nació por cesárea (Cuadro 5). De los casos negativos para ambos anticuerpos, 4/6 nacieron por vía vaginal y dos por cesárea (Cuadro 6). El parto por cesárea ya ha sido identificado como un factor perinatal que aumenta hasta 20% el riesgo de EC o DT1 en niños alemanes (Decker et al., 2010). Este tipo de parto condiciona inmadurez del sistema gastrointestinal e inmune y favorece la colonización de bacterias patógenas en el intestino del niño, ambos factores de importancia para el desarrollo de EC (Cho y Norman, 2013). En nuestro estudio, no hubo gran efecto con relación a este factor, ya que en el grupo con IgA específica positiva fueron 2/6, en el de anti-insulina positiva 1/4 y en el de comparación (sin IgA antigliadina ni anti insulina), 2/6 niños.

El peso al nacer en los niños con índices anti-gliadinas y anti-insulina positivos fue adecuado, excepto un caso anti-gliadinas positivo que presentó peso bajo (<2.5 kg) (Cuadros 4 y 5). En los niños con índices negativos, sólo se presentó un caso con macrosomía (>4.0 kg al nacer) y el resto tuvo un peso adecuado al nacimiento (Cuadro 6). El peso bajo al nacer se asoció como un factor de riesgo para EC en otras poblaciones (Adlercreutz et al., 2015). En nuestro estudio, el bajo peso al nacer puede ser un factor perinatal de menor impacto, ya que sólo se observó en uno de los casos positivos IgA anti-gliadinas.

Los episodios de infecciones durante la infancia y el uso de tratamientos con antibióticos ocurrieron en ambos grupos. Uno de los niños con anti-gliadinas positivos, tuvo un episodio de infección y tratamiento con antibiótico durante la infancia (Cuadro 4). Por el contrario, en los niños anti-insulina positivos no se dieron infecciones ni tratamientos durante la infancia (Cuadro 5). En los niños con anti-gliadinas y anti-insulina negativos 3/6 casos presentaron infecciones durante la infancia, y también el uso de antibióticos fue común (Cuadro 6). La presencia de infecciones durante la infancia y el uso de fármacos pueden aumentar la permeabilidad intestinal, facilitando el paso de proteínas complejas como las del gluten dietario (Heyman et al., 2012).

El desarrollo de EC en los niños pequeños, se asocia principalmente a infecciones causadas por virus (Kramná et al., 2015), de ahí que el tipo de antibiótico utilizado, modula de manera distinta el riesgo de EC. En este estudio se desconoce si la infección del niño con IgA anti-gliadinas positivo fue por virus o bacterias y qué tipo de antibiótico se utilizó para su tratamiento.

Los regímenes de lactancia en los niños de este estudio, parecen asociados a la respuesta inmune contra gliadinas y contra-insulina. En 4/6 casos de los niños con IgA anti-gliadinas positivos se utilizó fórmula infantil como alimentación desde el nacimiento o a edad temprana. Dos fueron amamantados, uno de ellos de forma exclusiva aunque solo por 2 meses; en el otro caso se le ofreció además del pecho, té herbal o agua (Cuadro 4). En los niños anti-insulina positivos, 3/4 fueron alimentados con fórmula desde recién nacidos y sólo uno fue amamantado hasta los 8 meses de edad. En los casos de IgA anti-gliadinas e IgG anti-insulina negativos, 2 niños fueron amamantados de forma exclusiva durante 3 o 6 meses, 3 en forma parcial y uno tomó fórmula infantil desde el inicio (Cuadro 6). El consumo de fórmula infantil en los niños es fuente de proteínas de leche de vaca (Calderón de la Barca et al., 1996; Knip et al., 2010) y pudo favorecer el inicio de reacciones inmunes adversas (Calderón de la Barca y Mejía-León, 2012).

En los niños con predisposición genética de otras poblaciones que han desarrollado autoinmunidad a EC o DT1 se han observado periodos de amamantamiento cortos (Frederiksen et al., 2013). Los componentes de la leche materna confieren inmunidad pasiva y favorecen la maduración y desarrollo del sistema gastrointestinal e inmune (American Academy of Pediatrics, 2012; Pozo-Rubio et al., 2012). Los niños amamantados por periodos cortos pudieran no aprovechar por completo los beneficios fisiológicos que ofrece la leche materna, favoreciendo así el desarrollo de enfermedades como DT1 o EC.

La introducción de vegetales a la dieta, ocurrió en promedio a los 5.7 meses de edad, en los niños con IgA anti-gliadinas positivos, a los 6.2 meses, en los niños con anti-insulina positivos y a los 5.3 meses en los niños con índices negativos (Cuadro 4,5 y 6). La introducción de cereales en la dieta ocurrió antes de los 3 meses de edad en dos de los casos y hasta los 12 meses de edad en otro de los casos con IgA anti-gliadinas positivos (Cuadro 4). En los niños con anti-insulina positivos, la introducción de cereales ocurrió hasta los 5 meses de edad en un caso y entre 6 y 8 meses de edad, en el resto (Cuadro 5). En los niños con índices negativos, la introducción de cereales ocurrió un poco más tarde en la dieta a los 6.2 meses, en promedio (Cuadro 6). La respuesta inmune contra gliadinas, coincide con lo observado por Sellitto et al. (2012), quienes encontraron una respuesta inmune mayor, en niños predispuestos que fueron expuestos de forma temprana al gluten.

### **Descripción de Factores Perinatales, Antecedentes Clínico-Familiares y Factores Ambientales Involucrados en DT1 o EC**

Se aplicó la entrevista estructurada a 39 (67.2 %) madres de los niños con riesgo genético alto a DT1 o EC, previo a la saturación de la información. Los hogares de estos niños son de clase baja. Las madres que se entrevistaron son jóvenes (28 años en promedio), con nivel de educación bajo o medio, sólo una estudió una carrera técnica y el resto secundaria o preparatoria; en algunos casos,

incompleta. Más del 80% de las madres se dedicaba al hogar y cuidado de sus hijos, excepto dos casos que trabajaban de manera informal. Esta información se confirmó con las directoras de los jardines de niños, quienes comentaron que las madres de los niños que asisten al jardín, tenían un nivel económico y de educación bajo.

El nivel socio-económico bajo al que pertenecen los niños de nuestro estudio determinó el entorno físico y social en el que se trabajó. Estas condiciones, limitan el acceso a viviendas y espacios dignos, alimentación adecuada, servicios de salud de calidad, oportunidades de empleo y/o educación. Además, la situación de pobreza, afecta el entorno emocional, como la práctica de estilos de vida saludables y concientización en salud (Calixto y Anaya, 2014). El estado de vulnerabilidad en la que se encontraba la población de nuestro estudio pudo aportar situaciones adversas o benéficas, involucradas en DT1 o EC.

### Condiciones de Vida

**Macro ambiente.** Las colonias donde se ubican los jardines de niños y los hogares donde habitan las madres y los niños participantes en este estudio se localizan en la periferia norte y sur de la ciudad de Hermosillo. En ambas zonas, el acceso era complicado, las calles no tienen pavimento, lo que provoca una gran cantidad de polvo en el ambiente, sobre todo al paso de los camiones o automóviles. Además, hay predios baldíos que son usados por los vecinos para tirar o quemar la basura. En los alrededores de las colonias donde se trabajó, por lo común había animales en la calle, como perros, gatos y gallinas. En el ambiente se percibía un olor fétido, consecuencia de restos de excremento y basura. Especialmente, en la colonia de la zona sur, la cual se ubica a un lado de una laguna, este olor era más intenso además de la proliferación de insectos. Las madres entrevistadas se referían a estas áreas como “*sucias*” y “*llenas de animales*”, donde además los vecinos tiran basura y animales muertos.



En las instalaciones de los jardines a los que asisten los niños de este estudio, los espacios entre los salones de clase y las áreas de juego, no tenían pavimento, excepto los salones y la cancha. En el jardín de niños de la zona norte hay un espacio de comedor que se usa como bodega, no hay bebederos y en los baños, los lavamanos no están habilitados, están descuidados y sucios. En cambio, en el jardín de niños de la zona sur, no cuentan con comedor, los baños son nuevos y limpios, aunque no tienen jabón para la higiene personal. En ambos jardines de niños, las directoras, mencionaron que a pesar de las condiciones en las que se encuentran las instalaciones, fomentan en los niños el lavado de manos, les ofrecen jabón dentro del salón y permiten que guarden y coman su colación dentro del salón de clases.

**Microambiente.** Las viviendas visitadas para realizar las entrevistas, en su mayoría tenían piso de cemento, techo de concreto y paredes de block. Algunas viviendas estaban a medio construir, con lámina de cartón y madera, con piso de tierra y la otra mitad, de material resistente y piso de cemento. En la mayoría de los casos, las madres dijeron que el terreno o vivienda era de su propiedad, excepto dos que comentaron pagar alquiler y otra más, que invade una vivienda. Las viviendas contaban con acceso y disponibilidad de servicios básicos. En el interior de las viviendas entraba poca luz, poca ventilación y se observaba poca higiene, algunas veces no se nos invitaba a pasar, por lo que la entrevista se realizaba en el patio.

Las condiciones de la colonia y de la vivienda de los niños con riesgo genético alto, evidencian un panorama de exposición antigénica diverso. Las condiciones de insalubridad y contaminación medio-ambiental han sido consideradas por la OMS como una de las causas de enfermedades infecciosas a nivel mundial (OMS, 2006). Estas enfermedades provocadas por virus, bacterias o parásitos se han considerado como “disparadores” de autoinmunidad en DT1 o EC, a edad temprana (Barbeau, 2014). Las condiciones en las que los niños con riesgo genético alto asociado a EC o DT1 han crecido, pudieran ser negativas y contribuir al desarrollo de autoinmunidad y eventualmente a la manifestación de

la enfermedad. Por el contrario, de acuerdo a la “hipótesis de la higiene”, la exposición antigénica temprana, brindaría cierta protección en el desarrollo de respuestas inmunes adversas (Okada et al., 2010).

En nuestro estudio, sólo se observó respuesta inmune inicial en DT1 o EC y no hubo casos con autoinmunidad. Así, las condiciones adversas en las que habitan estos niños, pudieran modular benéficamente el desarrollo de autoinmunidad y posterior DT1 o EC.

#### Antecedentes Familiares de Enfermedades Autoinmunes

Las madres de niños con IgA anti-gliadinas, no presentaron antecedentes de enfermedades autoinmunes, aunque expresaron que en su familia había casos de problemas cutáneos, diarreas y reacción alérgica a ciertos alimentos (chocolate y camarón).

*“Yo tengo manchas rojas, no sé de qué sean, siempre me salen [...] tengo como 13 años con estas manchas [...] probablemente sea una alergia a algo, me salen en todo el cuerpo” (Sandra, 23 años).*

*“Mi mamá el chocolate [...] se le suelta el estómago pero nada más” (Karla, 25 años).*

*“Mi mamá cuando come camarón le salen ronchitas, a veces como alergia” (Claudia, 28 años).*

En los familiares de 2 de los niños con auto-anticuerpos anti-insulina, también fueron comunes las reacciones alérgicas. Además, en 3 de los 4 casos anti-insulina positivos se tienen antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes; en uno de los casos, es DT1, en un familiar de primer grado. La presencia de DT1 en un hermano, aumenta de 10-20% el riesgo de desarrollar la enfermedad (Tandon, 2015). En población europea adulta, se detectaron auto-anticuerpos contra insulina en el 30% de la población que tenía un familiar de primer grado con DT1 (Siewko et al., 2014). Los antecedentes familiares de

autoinmunidad, pueden ser un factor involucrado en el desarrollo de respuesta inmune contra la insulina en nuestro estudio.

*“El mayor de los niños tiene diabetes, lo controlo en el Hospital del Niño. Ahí le dan insulina, la insulina NPH y la rápida” “El otro niño, con la piña se me enroncha, [...] se le hinchan los labios y le salen granitos, así como salpullido” (Paula, 36 años).*

En el grupo de los niños sin auto-anticuerpos o anticuerpos específicos, no se dieron casos de enfermedades asociadas a DT1 o EC, principalmente había padecimientos gastrointestinales (indigestión, colitis) y enfermedades crónico-degenerativas (diabetes tipo 2 e hipertensión).

#### Periodo Pre-natal

**Edad de la madre y cuidados durante el embarazo.** La edad de las madres al embarazo de los niños con índices anti-gliadinas o anti-insulina positivos, fue 23 años en promedio. En 2 de los casos con anticuerpos contra insulina positivos las madres tuvieron hasta 32 años de edad, al embarazarse. En nuestro estudio, este factor perinatal puede no tener relevancia ya que las madres entrevistadas no superan los 35 años de edad, que es cuando el riesgo aumenta (Frederiksen et al., 2013, Adlercreutz et al., 2015).

En general, las madres entrevistadas se enteraron de su embarazo hasta que ocurrió el retraso de su periodo menstrual, después buscaron atención médica y comenzaron los cuidados que consideraron necesarios. Entre los cambios que expresaron haber realizado, se encontraban, *“No levantar cosas pesadas”* o *“Comer más sano”*, especialmente en las madres de mayor edad.

*“Sí, me cuidé un poquito más porque como ya era un poquito más grande” (Elia, 36 años)*

Las madres más jóvenes no realizaron ningún cambio en particular para el cuidado del embarazo.

*“Pero igual pues, mi vida igual [...], no tiene nada que ver el embarazo con enfermedad, o sea es algo normal” (Karla, 25 años).*

El hecho de que todas las madres entrevistadas tuvieran un control-prenatal es un aspecto positivo, que no se ha relacionado con disminución del riesgo de DT1 o EC. Sin embargo, la atención médica durante el embarazo es de importancia para identificar riesgos obstétricos, evaluar condiciones maternas y evitar complicaciones (NOM-007-SSA2-1993). El control prenatal adecuado puede ser de importancia en el desarrollo de autoinmunidad en DT1 o EC (Lee et al., 2015).

El control prenatal que recibieron las madres de los niños con índices positivos y negativos consistió en realizarse ultrasonidos, análisis de sangre y de la presión arterial, por la preocupación de la salud de su hijo (a).

*“Para checar que la niña estuviera bien” (Andrea, 27 años).*

La alimentación que siguieron durante el embarazo fue a base de caldos, frutas y verduras, sin picante o irritantes, argumentando:

*“El bebé se alimenta de la mamá” (Karla, 25 años)*

*“Más nutritivo comer caldos, por el bien de las dos” (Andrea, 27 años)*

*“El picante no, porque me daban agruras” (Paula, 36 años)*

También, dos de las madres de niños sin respuesta de anticuerpos específicos, consumieron té de canela o manzanilla durante el embarazo.

*“Mi mamá me decía que la manzanilla era calentita y era buena para el embarazo” (María, 27 años)*

*“Para tenerla más rápido, era una tacita nada más en las mañanas” (Mónica, 25 años)*

Hubo también algunas madres que continuaron con su dieta habitual, no les fue posible realizar algún cambio o no lo consideraron necesario.

*“No tenía compañía así pues, no tenía pareja y aparte por la economía, no tenía todavía un sostén de quien me diera dinero [...]” (Leticia, 24 años)*

*“De todo pues, comida normal y a veces también comía comida chatarra, soda y de todo así” (Rosa, 32 años)*

La asociación entre la dieta de la madre durante el embarazo y el desarrollo de autoinmunidad, ha sido poco explorada. La dieta materna, rica en mantequilla baja en grasa, frutos rojos y consumo de café durante el embarazo se asoció con la disminución del riesgo de auto-inmunidad en niños de Finlandia (Virtanen et al., 2011). En nuestro estudio, no es posible identificar ni comparar el consumo de alimentos o patrones de alimentación que puedan ser benéficos o adversos para el desarrollo de la respuesta inmune anómala en los niños. La dieta de la madre durante el embarazo no fue evaluada a profundidad, únicamente se les preguntó acerca de lo que ellas acostumbraron o prefirieron comer en ese periodo.

**Ganancia de peso durante el embarazo.** La ganancia de peso durante el embarazo de más de 10 kg es considerado *“Lo normal”* por las madres entrevistadas y algunas de ellas desconocen el motivo de dicho aumento. La mayoría de las madres tuvo una ganancia de peso normal, considerando su IMC previo al embarazo (Herring y Oken, 2010) aunque algunas, tuvieron una ganancia de peso insuficiente.

*“Subí poquito, ya había quedado gordita del otro embarazo” (Marcela, 27 años)*

*“Yo le decía siempre a la doctora y me decía “¡No!, está bien me dice” porque es un kilo por mes [...] No es regla que tienes que engordar” (Elia, 36 años)*

Contrariamente, en las madres de los niños con índices de anticuerpos negativos fue más común el aumento de peso excesivo ( $\geq 30$  kg).

*“Subí mucho, de él si no me cuide de comer bien ni nada” (Ximena, 30 años)*

*“Gordísima, yo me sentía muy pesada” (Mónica, 30 años)*

*“Si comía mucho pero no decía “¡Ah! por dos y así” (Alma, 22 años)*

La ganancia de peso durante el embarazo tiene efecto en el estado de la madre y del niño, incluso en etapas posteriores (Herring y Oken, 2010). Con relación al desarrollo de EC o DT1, no se ha demostrado que la ganancia de peso en el embarazo aumente el riesgo de autoinmunidad, en niños del estudio DIPP de Finlandia (Arkkola et al., 2011). Sin embargo, el aumento de peso en el embarazo se asocia al crecimiento intra-uterino y complicaciones durante el embarazo y parto (Herring y Oken, 2010), condiciones asociadas como factores de riesgo en autoinmunidad en DT1 o EC (Lee et al., 2015).

En nuestro estudio, las madres dijeron haber tenido aumento insuficiente o excesivo de peso en el embarazo, esta condición no coincide con el peso al nacer de sus hijos, sólo un caso de los niños con índices positivos tuvo bajo peso al nacer (<2.5 kg) (Cuadro 4) y uno de los casos negativos, fue macrosómico (>4 kg) (Cuadro 6). Tal vez la percepción del peso en las madres antes del embarazo esté subestimada o no recordaban bien este dato.

Las complicaciones durante el embarazo se presentaron en los niños con y sin anticuerpos específicos, dos madres tuvieron ruptura prematura de membranas y sangrado, hubo un caso con pre-eclampsia y las infecciones genito-urinarias también fueron comunes.

*“Ya tenía días de que ¡ay! como que te quieres hacer pipí. Ya ese día como a las 4 de la tarde, mi mamá me dijo: ¡no!, se te reventó la fuente; pero ahí sí se me vino con sangrado” (Karla, 25 años)*

*“Cuando se me reventó la fuente y eso, olía feo y a mí se me hizo raro, pero fue porque al final la infección se hizo más fuerte” (Elia, 36 años)*

*“Tuve pre-eclampsia, a los siete meses, me vi muy mal [...] nada más que la presión cedió mientras estuve internada, me normalizaron y me tuve que esperar para el parto” (María, 27 años).*

Las infecciones vaginales y urinarias se presentaron durante el segundo y tercer trimestre de embarazo, todas las madres tuvieron tratamiento con óvulos o tabletas, indicado por el médico. Para ellas, la presencia de infecciones en el embarazo es un aspecto normal y en todos los casos siguieron el tratamiento recomendado por el médico.

*“Eran infecciones leves, siempre me dijeron que en el embarazo es común la infección” (Karla, 25 años)*

Hubo un caso que pensaba que la infección se resolvería por sí sola y no tomó el medicamento sino hasta después:

*“Tenía guardado lo que me había dado el doctor [...], siempre guardo todas las recetas, ahí me las tomé y ya todo normal” (Elia, 36 años).*

La asociación de las complicaciones del embarazo y el riesgo de autoinmunidad en DT1 o EC no es clara, aunque la pre-eclampsia e infecciones durante el embarazo son frecuentes en madres de niños europeos con DT1 (Lee et al., 2015). En nuestro estudio, no se observa una diferencia entre los niños con anticuerpos positivos y negativos en relación con este factor, lo que puede sugerir que las complicaciones durante el embarazo no intervienen en el desarrollo de autoinmunidad.

**Posición familiar del niño.** La mayoría de los niños con IgA anti-gliadinas positivos, son primogénitos o los más pequeños de la familia y con un año de diferencia entre hermanos. Los niños con anticuerpos contra insulina positivos son los más pequeños en el orden de nacimiento, aunque con 6 o 7 años de espacio entre embarazos. Según Cardwell et al. (2012), el ser segundo hijo, con

una diferencia  $\leq 3$  años de edad es un factor protector para DT1 en niños alemanes, situación que no se observó en nuestro estudio.

### Periodo Perinatal

**Parto.** Las madres de los niños con IgA anti-gliadinas y anti-insulina positivos con parto vaginal tuvieron un trabajo de parto prolongado, hasta por 7 horas, con retraso en la dilatación y fue necesario el uso de anestesia y medicamentos.

*“Sí me pusieron para que te dé el dolor más, para ayudar a que los dolores sean más fuertes” (Marcela, 27 años).*

*“Me tardé mucho, no dilataba y no dilataba, ya me habían dicho que pues me tenían que hacer cesárea [...] Me pusieron [...] como anestesia, en el parto de ella como que si batallé un poquito más, no sé si fue por cuestión de las dilataciones o no sé a qué se deba [...]” (Karla, 25 años)*

En los casos de cesáreas en los niños positivos, estas fueron programadas desde el inicio del embarazo, ambas con la justificación de que el anterior embarazo también lo había sido.

*“Fui a internarme, la anterior también fue cesárea” (Leticia, 24 años).*

*“Iba cada mes a cita para que me programaran la cesárea, la otra niña también fue cesárea” (Andrea, 27 años).*

En cambio, en los niños que tuvieron índices negativos, el trabajo de parto fue rápido y sin ningún tipo de complicación.

*“Normal, muy rápido, poco tiempo con dolores” (María, 27 años).*

*“Fue muy rápido, se me vino el niño” (Rosa, 32 años)*

De acuerdo a lo expresado por las madres, el nacimiento mediante cesárea no estaba justificado. Con ello, es posible identificar que la práctica de cesárea a todas las mujeres con cesárea previa es un argumento médico erróneo que



prevalece en la región. La Organización Mundial de la Salud (OMS) únicamente recomienda el nacimiento por cesárea por motivos médicos, en situaciones en las que se pone en riesgo la salud del niño o la madre (OMS, 2015). La práctica de cesáreas injustificadas es negativa ya que es uno de los principales factores de riesgo para DT1 o EC a edad temprana (D'Angeli et al., 2010; Decker et al., 2010).

**Nacimiento.** Las complicaciones al nacimiento ocurrieron en todos los niños con anticuerpos IgA anti-gliadinas positivos y en un caso con anticuerpos anti-insulina positivos.

*“No lloró al nacer, “Como que se estaba ahogando, no sé si con el cordón o qué. [...] Lo subieron más o menos como en 3 horas más” “Yo trabajé todo el embarazo, cargaba cajas yo digo que también eso me hizo daño” (Claudia, 28 años)*

*“Lo tuve, lo limpiaron y salieron con él corriendo [...] y se lo llevaron a incubadora porque al niño le dio taquicardia” (Marcela, 27 años).*

*“Creo que cuando me la dieron, a los minutos la niña se empezó a ahogar y se la llevaron porque no la habían limpiado bien por dentro” (Leticia, 24 años).*

La presencia de complicaciones al nacer es un hallazgo importante en los niños con anticuerpos específicos positivos de nuestro estudio. No hay evidencia de que el sufrimiento fetal se encuentre relacionado con el desarrollo de autoinmunidad en DT1 o EC.

#### Periodo Post-natal

**Cuidados post-parto de la madre.** Los cuidados pos-parto de las madres de los niños con índices positivos consistieron en cuidar la alimentación, no realizar esfuerzos o “no levantar cosas pesadas”, por recomendación de mamás o abuelas. Cuidaban su alimentación con la intención de no afectar la salud de sus hijos

*“Trataba de estar en la dieta porque sí, a veces dan cólicos” (Paula, 36 años)*

Intentaron, dentro de sus posibilidades llevar una alimentación libre de grasa, sin picantes ni irritantes y consumir caldos, avenas, atoles, tortillas tostadas.

*“Dicen que porque se inflama uno mucho [...] o agarras aire” “Trataba de que fuera todo más ligero” (Elia, 36 años).*

Hubo dos casos en los que no fue posible cuidar la alimentación por falta de recursos económicos o falta de tiempo, ya que debían cuidar a sus otros hijos.

*“Pues no tuve mucha dieta que digamos la verdad, era muy poca la economía y entonces era como que comer frijoles y lo que sea” (Sandra, 23 años).*

*“Ahí sí que no llevé dieta ni nada” (Marcela, 27 años)*

Los cuidados y la dieta durante el puerperio no tienen relación con el desarrollo de autoinmunidad, sin embargo es positivo identificar este tipo de prácticas en las madres. Los cuidados durante el periodo pos-parto tienen efecto en la salud y recuperación de la mujer, aunque no en la salud de sus hijos, como ellas lo expresan.

**Cuidados del recién nacido.** En cuanto a los cuidados del recién nacido, no se observó una diferencia entre los niños con anticuerpos positivos y negativos. Los cuidados en los recién nacidos consistieron en curar el ombligo, baños con agua tibia, no sacarlos a la calle, mantenerlos abrigados y evitar corrientes de aire.

*“Yo siempre lo traía bien abrigado, soy muy miedosa para eso” (Marcela, 27 años)*

*“No me gustaba acercarle al aire, estaba chiquito y se podía ahogar” (Ximena, 30 años)*

Contrariamente, también hubo algunos casos en donde los cuidados del recién nacido pueden favorecer el desarrollo de infecciones neonatales.

*“Lo bañé como hasta el mes de nacido, mientras lo limpiaba con toallitas húmedas, por ser época de frío intenté no bañarlo mucho” (Sandra, 24 años)*

*“Le puse aceite de comer y merthiolate en el ombligo y lo fajé hasta que se le secó. Mi mamá era la que me decía y yo le hacía caso, yo decía: “¡Ella debe saber más que yo!” (Mónica, 30 años).*

Los cuidados que las madres entrevistadas tuvieron con sus niños recién nacidos eran con el fin de evitar que sus hijos se enfermaran o por seguir costumbres familiares arraigadas.

### Etapa Infantil

**Enfermedades infecciosas y tratamientos.** La infancia se dividió en etapa inicial (hasta 1 año de edad), intermedia (2-4 años) y actual (últimos meses), para facilitar que las madres recordaran si se dieron infecciones y el tipo de tratamientos que utilizaron.

Durante la etapa inicial, los niños presentaron crisis de asma, bronquiolitis, gripe y tos. Las crisis de asma, las trataron con antibióticos como amoxicilina y salbutamol, de acuerdo a prescripción médica, durante 3 días.

*“Así me decía el doctor” (Andrea, 27 años)*

Los casos de bronquiolitis fueron tratados con nebulizaciones y broncodilatadores (salbutamol), por indicación médica

*“Le daba nada más medicina que me daba el doctor” (Marcela, 27 años).*

Los casos de gripe son considerados por las madres como eventos normales, que ocurren debido al cambio de clima, aun así acuden al médico cuando se presenta en los recién nacidos. Los episodios de gripe fueron tratados con nebulizaciones hasta por 7 días. Hubo un caso que no tuvo enfermedades durante esta etapa ya que la madre prefería no sacarla de casa.

A partir del primer año y hasta los 4 años de edad, se presentaron cuadros de asma, bronquitis, bronquiolitis, faringitis, fiebre, gripe y tos seca.

*“Siempre que se enferma le tenemos que dar antibiótico” (Sandra, 23 años).*

*“Era más el medicamento que le daba que otra cosa, ya se me hacía mucho y le deje de dar, porque muchas veces te haces adicta pues al salbutamol, me daba miedo” (Karla, 25 años).*

Para el tratamiento de la fiebre se utilizaron anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) (Ibuprofeno), por decisión de las madres, ya que lo consideran un medicamento eficaz.

*“Para mí siempre el ibuprofeno, o sea el paracetamol como que no [...] no me espero al paracetamol, prefiero comprarles el otro”. (Karla, 25 años)*

Los episodios de diarrea que se presentaron entre 2 y 4 años de edad no son considerados de importancia para las madres y les daban un poco de suero y esperaban a que la diarrea remitiera.

*“A veces comen cosas y les pasa, pero no se me hace nada grave a mí” “Le doy suero y ya” (Marcela, 27 años).*

A partir de la etapa intermedia de la infancia, fue más común la automedicación por parte de las madres cuando se les enfermaban los niños, incluso una de las madres entrevistadas, de los niños con anticuerpos negativos, comentó:

*“Nunca le di así porque no me gusta darles así medicamento yo solo de chiquitos, ya ahorita de grandes a lo mejor sí les auto-medico pero de chiquitos no” (Nayeli, 28 años).*

Fue complicado lograr que las madres recordaran la presencia de enfermedades y uso de medicamentos para sus niños durante la etapa intermedia de la infancia.

Comúnmente, recordaron con mayor facilidad si el padecimiento se complicaba y necesitaba tratamientos y cuidados por más tiempo.

En la etapa actual de la infancia, se cuestionó si los niños habían sufrido alguna enfermedad en los últimos meses. Los niños con anticuerpos específicos positivos y negativos han enfermado de infecciones virales como gripe, tos y varicela, dengue y casos de asma recurrente, cuando la padecían desde recién nacidos. Los casos de gripe ocurren una o dos veces por año y se deben a los cambios de clima o contagio, según lo expresaron las madres:

*“En los cambios de clima nada más” (Andrea, 27 años)*

*“Normalmente me dicen que es alergia al clima que cambia” (Sandra, 23 años)*

*“Ahí en el kínder, hay muchos niños enfermos, ahí lo agarró” (Paula, 36 años)*

Los episodios de gripe o tos los han solucionado con la auto-medicación, con remedios caseros y en un caso, esperar a que la gripe desaparezca por sí sola.

*“Le doy paracetamol, no la llevo al doctor” (Andrea, 27 años)*

*“No lo llevé al doctor, le compré un ambroxol porque le escuchaba la tos muy seca y ya, se le calmó” (Mónica, 30 años)*

*“El niño casi no se me enferma, cuando se me enferma es por eso [gripe o tos], paracetamol si es lo común que le doy”. “No le he dado nada ni lo he llevado porque apenas le está empezando” (Marcela, 27 años).*

*“Para la gripa le di antibiótico, loratadina y paracetamol además té de gordolobo y canela, pues casi todos lo usamos y es bueno” (Paula, 36 años)*

La presencia de infecciones y el uso inadecuado de tratamientos durante la infancia fue similar en el grupo de los niños con anticuerpos específicos positivos y negativos. Curiosamente, los niños con anticuerpos positivos presentaron

infecciones durante la etapa inicial, intermedia y actual y los niños con anticuerpos negativos, sólo enfermaron en alguna de estas etapas. La presencia de este factor de riesgo en los niños de este estudio, indica la exposición continua a patógenos o el poco cuidado y atención de los niños. Dicha situación, es preocupante, especialmente en los casos de los niños con índices de anticuerpos positivos, ya que en algún momento, el desarrollo de nuevas infecciones pudiera favorecer la progresión a autoinmunidad.

El uso de antibióticos durante la infancia condiciona la alteración en la composición de la microbiota intestinal, un factor de riesgo clave en el desarrollo de autoinmunidad en DT1 o EC (Nielsen et al., 2014). En nuestro estudio, el uso de tratamientos con antibióticos, parece estar regulado y son administrados sólo en los casos que el médico lo indica. Sin embargo, fármacos como los AINEs, que son de venta libre y las madres ofrecen a los niños por decisión propia pudieran generar disbiosis en la microbiota intestinal y afectar el desarrollo de autoinmunidad y posteriormente DT1 o EC (Syer y Wallance, 2014).

### Régimen de Alimentación Infantil

Los niños con índices de anticuerpos específicos positivos fueron amamantados por periodos cortos y sólo un caso IgA anti-gliadina positivo, hasta los 8 meses de edad. Las madres complementaron la alimentación al pecho con agua, té de hierbas, fórmula infantil o cereal en polvo, por recomendación de algún familiar.

*“El té de manzanilla, pues me decían en mi familia que para el estómago que para que lo tuviera bien, y agua” (Andrea, 27 años)*

La madre de uno de los niños IgA anti-gliadinas positivos que amamantó a su hijo hasta los 8 meses de edad, reconoce los beneficios del amamantamiento para su hijo, sin embargo siguió la recomendación familiar de ofrecer té herbal a su niño.

*“Bueno el pecho me dijeron que era lo mejor que podía dar”, “Ya no me acuerdo pero mi suegra me dijo que le diera manzanilla” (Sandra, 23 años)*

Los argumentos para no dar pecho exclusivamente, son:

*“Yo trabajaba y no me bajó bien la leche” (Karla, 25 años)*

*“Muy poco le di pecho, no lo quiso casi, le di dos semanas nada más, se lo ponía y no quería” (Claudia, 28 años)*

*“No la llenaba” (Paula, 36 años)*

Los niños con índices de anticuerpos negativos fueron amamantados durante un poco más de tiempo (3 o 6 meses), aunque después les ofrecieron fórmula, argumentando que con el pecho ya no satisfacían el hambre de su niño.

*“Le daba fórmula porque muchas veces yo sentía que no se llenaba porque comía de más” (María, 27 años).*

La duración del amamantamiento fue mayor en los niños con índices de anticuerpos específicos negativos. La duración del amamantamiento en los niños con IgA anti-gliadina e IgG anti-insulina positivos se vio afectada por el consumo de té herbal o por barreras del amamantamiento, que favorecieron que se complementara la alimentación al pecho con fórmula.

El ofrecer agua o té de hierbas a los recién nacidos es común entre las madres sonorenses, lo cual consideran benéfico para la salud del niño. Contrario a lo que las madres expresan, ofrecer té o agua es una práctica innecesaria y que puede afectar la salud del niño (Nunes et al., 2011). La introducción de fórmula infantil a edad temprana ocurrió por percepciones maternas como sentir que no satisfacían el hambre de su hijo o por problemas en la relación madre-hijo. Los argumentos por los que complementaron la alimentación con fórmula, coinciden con los de estudios previos en la misma población (Beltrán-Sauceda, 2013).

El amamantamiento por periodos cortos supone un riesgo de autoinmunidad en EC o DT1, aunque no hay completo acuerdo en esto. Sin embargo, la falta de amamantamiento limita que los niños aprovechen totalmente la inmunidad pasiva y el efecto de maduración del sistema inmune y gastrointestinal que ofrecen los componentes de la leche materna (American Academy of Pediatrics, 2012).

Las fórmulas que ofrecieron las madres a sus hijos fueron de inicio (0-6 meses), después las de continuación y al final, leche entera o leche Liconsa.

*“Leche Liconsa, porque es más barata y tiene muchos nutrientes aparte. Ya después de los 9 meses de esa le di” (Nayeli, 28 años)*

El consumo de leche de vaca a edad temprana, proveniente de la fórmula infantil o leche entera es negativo en el desarrollo de autoinmunidad en DT1 o EC. Las proteínas complejas de leche de vaca favorecen el inicio de reacciones inmunológicas adversas.

Las madres entrevistadas fueron cuidadosas al momento de preparar la toma de fórmula infantil para sus niños, usaban agua purificada o hervida, lavaban y esterilizaban biberones y una de ellas, optaba por tener un biberón únicamente para la leche de fórmula. Es decir, reconocen que la alimentación debe ser higiénica y especial para sus hijos.

*“El agua Gerber® es para bebés, más delicadito y así” (Karla, 25 años)*

*“Pues primero hervía los bibis y ya con agua purificada y la leche, la niña tenía un bibi chiquito para la leche, no era todo en el mismo bibi” (María, 27 años)*

*“Agua hervida porque pues más sano para ella, desinfectada” (Andrea, 27 años)*

La introducción de alimentos a edad temprana inició en forma de “probaditas” de galletas, papillas, dulces o chocolates. La mitad de los niños con IgA anti-gliadinas positivos y dos casos de anticuerpos anti-insulina positivos, consumieron alguno de estos alimentos antes de la edad recomendada. En su



mayoría lo hicieron por cumplir los gustos del niño o por suponer que dicha práctica no tenía ningún impacto en su salud. Además, las madres responsabilizaron a otra persona de ofrecer alimentos a su hijo.

*“Ella pedía, por eso le dábamos” (Elia, 36 años)*

*“El otro niño le dio, [...] y pues no le pasó nada” (Paula, 36 años)*

*“Yo peleaba porque le daban, en eso siempre batallé [...], pero me decían: ¡Ay, no le va a pasar nada!” (Sandra, 23 años).*

Hubo algunos casos (3 madres) que decidieron no ofrecer alimentos antes de la edad recomendada, porque lo consideraron inadecuado.

*“No me gustó darle, para mí no se me hace correcto darle” (Claudia, 28 años)*

*“Probaditas no le di, porque no, estaba muy chiquito” (Marcela, 27 años)*

El ofrecer alimentos al niño a edad temprana es una práctica que favorece reacciones inmunológicas adversas, especialmente si se consumen alimentos con gluten (galletas, pan, cereal, etc.). Los cereales, contienen antígenos desencadenantes de EC y DT1 (Frederiksen et al., 2013; Tonutti y Bizarro, 2014). Curiosamente, las madres de los niños con anticuerpos anti-insulina positivos, aseguraron haber ofrecido a sus hijos alimentos con gluten a partir de los 8 meses de edad.

La mayoría de las madres inició la alimentación complementaria con caldos, frutas (manzana, mango, pera, plátano) o verduras (calabacita, zanahoria, papa, brócoli, chayote), en forma de papilla, a partir de los 2 meses de edad. Después comenzaron a ofrecer sopas, o papillas de verduras combinadas con pollo.

Al inicio, las papillas las ofrecieron cocidas, algunas veces picadas o “raspaditas”, cuando el niño crecía un poco más, ofrecían los mismos alimentos pero “machacados”.

*“Las ponía a cocer juntas y ya las licuaba, nomás la pura verdura cocida”  
(Andrea, 27 años)*

*“Yo le cocía así papa y zanahoria y se la picaba bien picadita o se la licuaba así y le daba”, “Se las licuaba con mantequilla para que le supiera a algo” (Leticia, 24 años)*

Los cuidados al momento de alimentar a sus hijos incluyeron: preparar especialmente los alimentos del niño, no agregar picante o especias y ofrecerle porciones pequeñas.

*“Como estaba chiquita, no le fuera a caer pesado” (Elia, 36 años)*

*“Hacía primero la comida del bebé, sin que estuviera nadie; era un bebé, entonces al bebé siempre lo tienes así como en una burbuja” (Sandra, 23 años).*

*“Hacer la comida aparte, pero ya después del año ya no” “Se lo hacía aparte por la grasa y por los picantes y las especias, para que no se me fuera a enfermar del estómago, es muy fuerte las especias para ella” (Paula, 36 años).*

La edad de introducción de alimentos es un aspecto importante en el desarrollo de DT1 o EC. La edad ideal para que el niño consuma alimentos diferentes a la leche materna es a partir de los 6 meses, según la OMS (OMS, 2014). En las madres de este estudio, la introducción de alimentos ocurrió a edad temprana y ofrecieron una variedad de frutas y verduras, indistintamente. La introducción de alimentos en los niños debe ocurrir gradualmente y siguiendo un patrón para evitar reacciones alérgicas o gastrointestinales. Además, el consumo temprano de tubérculos como la papa y la zanahoria, se ha relacionado con autoinmunidad y DT1 en niños finlandeses (Hummel et al., 2011; Vitarnen et al., 2011).

## CONCLUSIONES

No se encontraron casos de autoinmunidad, aunque sí se detectaron en niños de riesgo genético alto, anticuerpos contra gliadinas (en el 6.9%) e insulina (en el 4.6%), de primera aparición, asociados a EC o DT1; esto corresponde a 2.5 y 1.7% de la población preescolar estudiada.

En los niños con anticuerpos específicos positivos se identificó la presencia de antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes en 3 casos, a diferencia de los casos sin positividad donde se presentaron otro tipo de enfermedades. Esta condición indica que además de la genética de riesgo en los niños, tener familiares con enfermedades autoinmunes, supone un riesgo mayor para el desarrollo de DT1 o EC en los preescolares sonorenses evaluados.

Aunque no es un factor determinante, el riesgo genético en DT1 o EC es importante, se trata de factores de riesgo no modificables. En estos casos, es aún más importante cuidar las prácticas de alimentación infantil y el tratamiento de infecciones, para prevenir un desenlace adverso

Se observaron condiciones pre- y perinatales inadecuadas en los niños con anticuerpos positivos, particularmente complicaciones al nacimiento que no se habían reportado en otros estudios.

Respecto a los regímenes de alimentación infantil deficientes, se observó una tendencia hacia los casos de niños con índices de anticuerpos anti-gliadinas y anti-insulina positivos. Por esta razón, puede considerarse como uno de los factores mayormente involucrado en la respuesta inmune anómala observada en nuestro estudio.

Las infecciones y tratamientos con antibióticos se presentaron en casos con y sin positividad. Aunque, los niños con anticuerpos positivos enfermaron y fueron tratados con medicamentos más frecuentemente durante la infancia, con respecto a los casos con anticuerpos negativos.

Los regímenes de alimentación inadecuados durante el primer año de vida, junto con tener familiares con enfermedades autoinmunes, tuvieron mayor influencia en el desarrollo de la respuesta inmune contra gliadinas y contra insulina, en los niños preescolares de alto riesgo genético.

## REFERENCIAS

- Adler K, Mueller DB, Achenbach P, Krause S, Heninger AK, Ziegler AG, et al. 2011. Insulin autoantibodies with high affinity to the bovine milk protein alpha casein. **Clin Exp Immunol**; 164:42-49.
- Adlercreutz EH, Wingren CJ, Vincente RP, Merlo J, Agardh D. 2015. Perinatal risk factors increase the risk of being affected by both type 1 diabetes and coeliac disease. **Acta Paediatr**; 104:178-184.
- Adriaanse MP, Tack GJ, Passos VL, Damoiseaux JG, Schreurs MW, Van Wijck K, et al. 2013. Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. **Aliment Pharmacol Ther**; 37:482-490.
- Aguayo-Patrón SV, Beltrán-Sauceda IL, Calderón de la Barca AM. 2015. Dried blood spots DNA extraction and duplex PCR reactions for HLA-DQ2 and DQ8 massive genotyping. **Journal of Immunological Methods**; (con el editor. Abril, 2015).
- Algert CS, McElduff A, Morris JM, Roberts CL. 2009. Perinatal risk factors for early onset of type 1 diabetes in a 2000-2005 birth cohort. **Diabet Med**; 26:1193-1197.
- American Academy of Pediatrics (AAP). 2012. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**; 115:496-506.
- Arkkola T, Kautiainen S, Takkinen HM, Kenward MG, Nevalainen J, Uusitalo U, et al. 2011. Relationship of maternal weight status and weight gain rate during pregnancy to the development of advanced beta cell autoimmunity in the offspring: a prospective birth cohort study. **Pediatr Diabetes**; 12:478-84.
- Armstrong J, Abraham EC, Squair M, Brogan Y, Merewood A. 2014. Exclusive breastfeeding, complementary feeding, and food choices in UK Infants. **J Hum Lact**; 30:201-208.
- Barbeau WE, Hontecillas R, Horne W, Carbo A, Koch MH, Bassaganya-Riera J. 2014. Elevated CD8 T cell responses in type 1 diabetes patients to a 13 amino acid coeliac-active peptide from alpha-gliadin. **Clin Exp Immunol**; 175:167-171.
- Barnett MP, McNabb WC, Roy NC, Woodford KB, Clarke AJ. 2014. Dietary A1 beta-casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to A2 beta-casein in Wistar rats. **Int J Food Sci Nutr**; 20:20.

- Bell SJ, Grochoski GT, Clarke AJ. 2006. Health implications of milk containing beta-casein with the A2 genetic variant. **Crit Rev Food Sci Nutr**; 46:93-100.
- Beltrán-Sauceda IL. 2013. Efectividad de materiales de consejería impresos para promover el amamantamiento en madres sonorenses. Tesis de licenciatura.
- Beyerlein A, Wehweck F, Ziegler AG, Pflueger M. 2013. Respiratory infections in early life and the development of islet autoimmunity in children at increased type 1 diabetes risk: evidence from the BABYDIET study. **JAMA Pediatr**; 167:800-807.
- Bolaños AV, Ramírez Magaña OY, Ortega Vélez I, Calderón de la Barca AM. 2012. Diseño de materiales gráficos para ayudar a salvar las barreras físicas y culturales que enfrentan las madres sonorenses al amamantar. **Revista de Estudios Sociales**; 20:376-395.
- Bonifacio E, Pflüger M, Marienfeld S, Winkler C, Hummel M, Ziegler AG. 2008. Maternal type 1 diabetes reduces the risk of islet autoantibodies: relationships with birthweight and maternal HbA(1c). **Diabetología**; 51:1245-1252.
- Borras V, Freitas A, Castell C, Gispert R, Jané M. 2011. Type 1 diabetes and perinatal factors in Catalonia (Spain). **Pediatr Diabetes**; 12:419-423.
- Boutrou R, Gaudichon C, Dupont D, Jardin J, Airinei G, Marsset-Baglieri A, et al. 2013. Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. **Am J Clin Nutr**; 97:1314-1323.
- Bruno G, Spadea T, Picariello R, Gruden G, Barutta F, Cerutti F, et al. 2013. Early life socioeconomic indicators and risk of type 1 diabetes in children and young adults. **J Pediatr**; 162:1341-1343.
- Cabrera-Chávez F, Rouzaud-Sandez O, Sotelo-Cruz N, Calderón de la Barca AM. 2009. Bovine milk caseins and transglutaminase-treated cereal prolamins are differentially recognized by IgA of celiac disease patients according to their age. **J Agric Food Chem**; 57:3754-3759.
- Calderón de la Barca AM, Bolaños-Villar A, Román-Pérez R. 1996. Composición de proteínas de los sucedáneos de la leche materna más utilizados y su regulación sanitaria. **Salud Pública Méx**; 38:268-275.
- Calderón de la Barca AM, Mejía-León M.E. 2012. Are dietary caseins related to the onset and evolution of type 1 diabetes and celiac disease? En: Anthony M. Ventimiglia y JM Birkenhäger. Editores Casein. Production, uses and health effects. Nueva York.195-207.
- Calixto OJ, Anaya JM. 2014. Socioeconomic status. The relationship with health and autoimmune diseases. **Autoimmun Rev**; 13:641-654.
- Canova C, Zabeo V, Pitter G, Romor P, Baldovin T, Zanotti R, et al. 2014. Association of maternal education, early infections, and antibiotic use with celiac disease: a

- population-based birth cohort study in northeastern Italy. **Am J Epidemiol**; 180:76-85.
- Cardwell CR, Svensson J, Waldhoer T, Ludvigsson J, Sadauskaite-Kuehne V et al., 2012. Interbirth interval is associated with childhood type 1 diabetes risk. **Diabetes**; 61:702-707.
- Catassi C, Fasano A. 2014. Coeliac disease. The debate on coeliac disease screening--are we there yet?. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol** ;11:457-458.
- Cho CE, Norman M. 2013. Cesarean section and development of the immune system in the offspring. **Am J Obstet Gynecol**; 208:249-254.
- Clemens RA. 2011. Milk A1 and A2 peptides and diabetes. **Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program**; 67:187-195.
- Collado MC, Cernada M, Baüerl C, Vento M, Pérez-Martínez G. 2012. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. **Gut Microbes**; 3:352-365.
- Couper JJ, Beresford S, Hirte C, Baghurst PA, Pollard A, Tait BD, et al. 2009. Weight gain in early life predicts risk of islet autoimmunity in children with a first-degree relative with type 1 diabetes. **Diabetes Care**; 32:94-99.
- Dahlbom I, Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Szalai Z, Maki M, Hansson T. 2010. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**; 50:140-146.
- D'Angeli MA, Merzon E, Valbuena LF, Tirschwell D, Paris CA, Mueller BA. 2010. Environmental factors associated with childhood-onset type 1 diabetes mellitus: an exploration of the hygiene and overload hypotheses. **Arch Pediatr Adolesc Med**; 164:732-738.
- Decker E, Engelmann G, Findeisen A, Gerner P, Laass M, Ney D, et al. 2010. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. **Pediatrics**; 125:1433-1440.
- Denham JM, Hill ID. 2013. Celiac disease and autoimmunity: review and controversies. **Curr Allergy Asthma Rep**; 13:347-353.
- Di Sabatino A, Vanoli A, Giuffrida P, Luinetti O, Solcia E, Corazza GR. 2012. The function of tissue transglutaminase in celiac disease. **Autoimmun Rev**; 11:746-753.
- Elding Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, Akolkar B, Hagopian W, Lernmark A, et al. 2014. Children followed in the TEDDY study are diagnosed with type 1 diabetes at an early stage of disease. **Pediatr Diabetes**; 15:118-126.

- Enríquez-Leal MC, Montaña-Figueroa CA, Saucedo-Tamayo MS, Vidal-Ochoa MG, Rivera-Icedo BM, Cabrera R-MB et al. 2010. Incidence, clinical characteristics and nutritional status in diabetic mexican children and adolescents. **Interciencia**; 35:455-460.
- Eringsmark Regnéll S, Lernmark A. 2013. The environment and the origins of islet autoimmunity and Type 1 diabetes. **Diabet Med**; 30:155-160.
- Frederiksen B, Kroehl M, Lamb MM, Seifert J, Barriga K, Eisenbarth GS, et al., 2013. Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). **JAMA Pediatr**; 167:808-815.
- Freeman HJ, Chopra A, Clandinin MT, Thomson AB. 2011. Recent advances in celiac disease. **World J Gastroenterol**; 17:2259-2272.
- Ghazarian L, Diana J, Simoni Y, Beaudoin L, Lehuen A. 2013. Prevention or acceleration of type 1 diabetes by viruses. **Cell Mol Life Sci**; 70: 239-255.
- Gómez-Díaz RA, Perez-Perez G, Hernandez-Cuesta IT, Rodriguez-Garcia J del C, Guerrero-Lopez R, Aguilar-Salinas CA, et al. 2012. Incidence of type 1 diabetes in Mexico: data from an institutional register 2000-2010. **Diabetes Care**; 35:e77.
- Grummer-Strawn LM, Scanlon KS, Fein SB. 2008. Infant feeding and feeding transitions during the first year of life. **Pediatrics**; 122: S36-42.
- Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: **Instituto Nacional de Salud Pública**.
- Henderson L, Kitzinger J, Green J. 2000. Representing infant feeding: content analysis of British media portrayals of bottle feeding and breast feeding. **British Medical Journal**; 321:1196-1198.
- Herring SJ, Oken E. 2010. Ganancia de peso durante el embarazo: Su importancia para el estado de salud materno-infantil. **Ann Nestlé [Esp]**; 68:17–28.
- Heyman M, Abed J, Lebreton C, Cerf-Bensussan N. 2012. Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. **Gut**; 61:1355-1364.
- Hummel S, Pfluger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler AG. 2011. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. **Diabetes Care**; 34:1301-1305.
- Ilonen J, Hammais A, Laine AP, Lempainen J, Vaarala O, Veijola R, et al. 2013. Patterns of beta-cell autoantibody appearance and genetic associations during the first years of life. **Diabetes**; 62:36-40.



- Kaminski S, Cieslinska A, Kostyra E. 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. **J Appl Genet**; 48:189-198.
- Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, et al. 2003. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\*05-DQB1\*02 (DQ2) heterodimer: results from the european genetics cluster on celiac disease. **Hum Immunol**; 64:469-477.
- Knip M, Simell O. 2012. Environmental triggers of type 1 diabetes. **Cold Spring Harb Perspect Med**; 2: 1-15.
- Knip M, Virtanen SM, Akerblom HK. 2010. Infant feeding and the risk of type 1 diabetes. **Am J Clin Nutr**; 91:24.
- Kramná L, Kolářová K, Oikarinen S, Pursiheimo JP, Ilonen J, Simell O. et al. 2015. Gut Virome Sequencing in Children With Early Islet Autoimmunity. **Diabetes Care**. 38:930-933.
- Lamb MM, Miller M, Seifert JA, Frederiksen B, Kroehl M, Rewers M, et al. 2014. The effect of childhood cow's milk intake and HLA-DR genotype on risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the diabetes autoimmunity study in the young. **Pediatr Diabetes**; 20.
- Lamb MM, Yin X, Zerbe GO, Klingensmith GJ, Dabelea D, Fingerlin TE, et al. 2009. Height growth velocity, islet autoimmunity and type 1 diabetes development: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. **Diabetologia**; 52:2064-2071.
- Lavant EH, Agardh DJ, Nilsson A, Carlson JA. 2011. A new PCR-SSP method for HLA DR-DQ risk assessment for celiac disease. **Clinica Chimica Acta** 412:782–784.
- Lee HY, Lu CL, Chen HF, Su HF, Li CY. 2015. Perinatal and childhood risk factors for early-onset type 1 diabetes: a population-based case-control study in Taiwan. **Eur J Public Health**. 3.
- Li M, Song LJ, Qin XY. 2014. Advances in the cellular immunological pathogenesis of type 1 diabetes. **J Cell Mol Med**; 18:749-758.
- Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, et al. 2014. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. **N Engl J Med**; 371:1295-1303.
- Lionetti E, Castellaneta S, Pulvirenti A, Tonutti E, Francavilla R, Fasano A, et al. 2012. Prevalence and natural history of potential celiac disease in at-family-risk infants prospectively investigated from birth. **J Pediatr**; 161:908-914.
- Ludvigsson JF, Green PH. 2014. The missing environmental factor in celiac disease. **N Engl J Med**; 371:1341-1343.
- Ludvigsson, JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH. et al. 2013. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. **Gut**; 62:43-52.

- Marild K, Stephansson O, Montgomery S, Murray JA, Ludvigsson JF. 2012. Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. **Gastroenterology**; 142:39-45.
- Marttila J, Huttunen S, Vaarala O, Suzuki K, Elliott JF, Narvanen A, et al. 2008. T-cell reactivity to insulin peptide A1-12 in children with recently diagnosed type 1 diabetes or multiple beta-cell autoantibodies. **J Autoimmun**; 31:142-148.
- Mejía-León ME, Petrosino J, Ajami, NJ, Domínguez-Bello MG, Calderón de la Barca AM. 2014. Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. **Scientific Reports**; 4:3814.
- Mejía-León ME, Ruiz Dyck M, Calderón de la Barca AM. 2015. Gradiente de riesgo genético HLA-DQ para diabetes tipo 1 y enfermedad celíaca en el noroeste de México. **Rev Gastroenterol Méx.** <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmx.2015.03.003>
- Méndez-Velarde F, Ruiz-Díaz R, Fonseca-Chon I, Valenzuela-Galván M. 2007. Tendencia de Cesáreas de 1995 a Agosto del 2006 en el Hospital Integral de la Mujer del Estado de Sonora y su Comparación con el Índice a Nivel Nacional. **Bol Clin Hosp Infant Edo Son**; 24:50-55.
- Miluchová M, Gabor M, Trakovicka A. 2013. Analysis of slovak spotted breed for bovine beta casein A1 variant as risk factor for human health. **Acta Biochim Pol**; 60:799-801.
- Namatovu F, Sandstrom O, Olsson C, Lindkvist M, Ivarsson A. 2014. Celiac disease risk varies between birth cohorts, generating hypotheses about causality: evidence from 36 years of population-based follow-up. **BMC Gastroenterol**; 14:14-59.
- Nielsen DS, Krych Ł, Buschard K, Hansen CH, Hansen AK. 2014. Beyond genetics. Influence of dietary factors and gut microbiota on type 1 diabetes. **FEBS Lett**; 588:4234-4243.
- Nokoff N, Rewers M. 2013. Pathogenesis of type 1 diabetes: lessons from natural history studies of high-risk individuals. **Ann N Y Acad Sci**; 1281:1-15.
- Norris JM. 2010. Infant and childhood diet and type 1 diabetes risk: recent advances and prospects. **Curr Diab Rep**; 10:345-349.
- Nunes LM, Giugliani ER, Santo LC, de Oliveira LD. 2011. Reduction of unnecessary intake of water and herbal teas on breast-fed infants: a randomized clinical trial with adolescent mothers and grandmothers. **J Adolesc Health**; 49:258-264.
- Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. 2010. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clin Exp Immunol**; 160:1-9.
- Olerup O, Aldener A and Fogdell A. 1993. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. **Tissue Antigens**. 41:119-134.

- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2006. La exposición a riesgos ambientales provoca casi una cuarta parte de las enfermedades. [Consultado el 14 de junio de 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr32/es/>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2008. Subsanan las desigualdades de una generación. Comisión sobre determinantes sociales de la salud. Resumen Analítico del informe final.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013. ¿Hasta qué edad es adecuado alimentar al bebé sólo con leche materna? [Consultado el 09 de mayo de 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/21/es/>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Declaración de la OMS sobre tasas de cesárea.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Alimentación del lactante y del niño pequeño, Nota descriptiva N°342. 2014. [Consultado el 10 de junio de 2015] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs342/es/>
- Parikka V, Nanto-Salonen K, Saarinen M, Simell T, Ilonen J, Hyoty H, et al. 2012. Early seroconversion and rapidly increasing autoantibody concentrations predict prepubertal manifestation of type 1 diabetes in children at genetic risk. **Diabetologia**; 55:1926-1936.
- Patrick C, Wang GS, Lefebvre DE, Crookshank JA, Sonier B, Eberhard C, et al. 2013. Promotion of autoimmune diabetes by cereal diet in the presence or absence of microbes associated with gut immune activation, regulatory imbalance, and altered cathelicidin antimicrobial Peptide. **Diabetes**; 62:2036-2047.
- Patterson C, Guariguata L, Dahlquist G, Soltesz G, Ogle G, Silink M. 2014. Diabetes in the young - a global view and worldwide estimates of numbers of children with type 1 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**; 103:161-175.
- Pereira PF, Alfenas R de C, Araujo RM. 2014. Does breastfeeding influence the risk of developing diabetes mellitus in children? A review of current evidence. **J Pediatr**; 90:7-15.
- Pihoker C, Gilliam LK, Hampe CS, Lernmark Å. 2005. Autoantibodies in Diabetes. **Diabetes**; 54:52-61.
- Pociot F, Akolkar B, Concannon P, Erlich HA, Julier C, Morahan G, et al. 2010. Genetics of type 1 diabetes: what's next? **Diabetes**; 59:1561-1571.
- Pozo-Rubio T, Olivares M, Nova E, De Palma G, Mujico JR, Ferrer MD, et al. 2012. Immune development and intestinal microbiota in celiac disease. **Clin Dev Immunol**; 65.
- Remes-Troche JM, Nuñez-Alvares C, Uscanga-Dominguez LF. 2013. Celiac disease in Mexican population: an update. **Am J Gastroenterol**; 108: 283-284.

- Ruiz-Dyck KM. 2012. Polimorfismos de un solo nucleótido para identificar haplotipos de predisposición a enfermedad celiaca en niños sonorenses. Tesis Programa de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora.
- Salmi TT, Collin P, Jarvinen O, Haimila K, Partanen J, Laurila K, et al. 2006. Immunoglobulin A autoantibodies against transglutaminase 2 in the small intestinal mucosa predict forthcoming coeliac disease. **Aliment Pharmacol Ther**, 24:541-552.
- Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., a 31 de octubre de 1994.
- Sellitto M, Bai G, Serena G, Fricke WF, Sturgeon C, Gajer P et al., 2012. Proof of concept of microbiome-metabolome analysis and delayed gluten exposure on celiac disease autoimmunity in genetically at-risk infants. **PLoS One** 7.
- Siewko K, Popławska-Kita A, Telejko B, et al., 2014. Prognostic markers for the development of type 1 diabetes in first-degree relatives of diabetic patients. **Endokrynol Pol**; 65:176-180.
- Snell-Bergeon JK, Smith J, Dong F, Barón AE, Barriga K, Norris JM, Rewers M. 2012. Early childhood infections and the risk of islet autoimmunity: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). **Diabetes Care**; 35:2553-2558.
- Sollid LM, Jabri B. 2013. Triggers and drivers of autoimmunity: lessons from coeliac disease. **Nat Rev Immunol**; 13:294-302.
- Sosenko JM, Skyler JS, Palmer JP, Krischer JP, Yu L, Mahon J, et al. 2013. The prediction of type 1 diabetes by multiple autoantibody levels and their incorporation into an autoantibody risk score in relatives of type 1 diabetic patients. **Diabetes Care**; 36:2615-2620.
- Sotelo-Cruz N, Calderón de la Barca AM, Hurtado Valenzuela JG. 2013. Enfermedad celiaca en niños del noroeste de México: características clínicas de 24 casos. **Rev de Gastroenterol Mex**; 78:211-218.
- Steck AK, Vehik K, Bonifacio E, Lernmark A, Ziegler AG et al., 2015. Predictors of Progression From the Appearance of Islet Autoantibodies to Early Childhood Diabetes: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY). **Diabetes Care**; 38: 808-813.
- Stene LC, Gale EA. 2013. The prenatal environment and type 1 diabetes. **Diabetologia**; 56:1888-1897.
- Suárez-López L, Campero L, Vara-Salazar E, Rivera-Rivera L, Hernández-Serrato MI, Walker D, et al. 2013. Características sociodemográficas y reproductivas

- asociadas con el aumento de cesáreas en México. **Salud Pública Méx**; 55:225-234.
- Syer SD, Wallace JL. 2014. Environmental and NSAID-enteropathy: dysbiosis as a common factor. **Curr Gastroenterol Rep**;16:377.
- Tandon N. 2015. Understanding type 1 diabetes through genetics: Advances and prospects. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**. 19 (Suppl 1):S39-S43.
- Tonutti E, Bizzaro N. 2014. Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. **Autoimmun Rev**; 13:472-476.
- Tromp II, Briede S, Kiefte-de Jong JC, Renders CM, Jaddoe VW, Franco OH, et al. 2013. Factors associated with the timing of introduction of complementary feeding: the generation r study. **Eur J Clin Nutr**; 67:625-630.
- Truswell AS. 2005. The A2 milk case: a critical review. **Eur J Clin Nutr**; 59:623-631.
- Tsabouri S, Douros K, Priftis KN. 2014. Cow's milk allergenicity. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**; 14:16-26.
- Vaarala O, Ilonen J, Ruohtula T, Pesola J, Virtanen SM, Harkonen T, et al. 2012. Removal of bovine insulin from cow's milk formula and early initiation of beta-cell autoimmunity in the FINDIA pilot study. **Arch Pediatr Adolesc Med**; 166:608-614.
- Vehik K, Dabelea D. 2011. The changing epidemiology of type 1 diabetes: why is it going through the roof?. **Diabetes Metab Res Rev**; 27:03-13.
- Viner RM, Hindmarsh PC, Taylor B, Cole TJ. 2008. Childhood body mass index (BMI), breastfeeding and risk of type 1 diabetes: findings from a longitudinal national birth cohort. **Diabet Med**; 25:1056-1061.
- Virtanen SM, Laara E, Hypponen E, Reijonen H, Rasanen L, Aro A, Knip M, Ilonen J, Akerblom HK. 2000. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes: a nested case-control study of siblings of children with diabetes. Childhood diabetes in Finland study group. **Diabetes**; 49:912.
- Virtanen SM, Nevalainen J, Kronberg-Kippila C, Ahonen S, Tapanainen H, Uusitalo L, et al. 2012. Food consumption and advanced beta cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes: a nested case-control design. **Am J Clin Nutr** ; 95:471-478.
- Virtanen SM, Uusitalo L, Kenward MG, et al., 2011. Maternal food consumption during pregnancy and risk of advanced  $\beta$ -cell autoimmunity in the offspring. **Pediatr Diabetes**. 12:95-9.

- Yeung WC, Rawlinson WD, Craig ME. 2011. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. **BMJ**; 342:35.
- Zanardo V, Svegliado G, Cavallin F, Giustardi A, Cosmi E, Litta P, et al. 2010. Elective cesarean delivery: does it have a negative effect on breastfeeding? **Birth**; 37:275-279.
- Ziegler AG, Rewers M, Simell O, Simell T, Lempainen J, Steck A, et al. 2013. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. **JAMA**; 309:2473-2479.