

Mesa Redonda: Avances en patología nutricional

Significado y valor de los marcadores serológicos de la enfermedad celíaca

E. ARRANZ, J.A. GARROTE, A. LEÓN, C. CALVO, A. BLANCO-QUIRÓS

Departamento de Pediatría e Inmunología, Universidad de Valladolid-IBGM y Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

La enfermedad celíaca (EC) es la enfermedad crónica gastrointestinal más frecuente en nuestro entorno. Afecta a individuos genéticamente predispuestos y se manifiesta por una respuesta inmune anormal del intestino delgado frente a péptidos de gluten, ricos en residuos de glutamina y prolina⁽¹⁾. La etiopatogenia de la EC se explica por una reacción de hipersensibilidad celular mediada por linfocitos T CD4+, aunque la presencia de (auto)anticuerpos es difícil de integrar en este esquema. El diagnóstico se basa en el hallazgo de alteraciones histopatológicas en una biopsia de intestino delgado proximal, cuando el paciente toma gluten, y la mejoría histológica tras su retirada de la dieta⁽²⁾. Hasta hace unos años, se consideraba que el aplanamiento de la mucosa intestinal era la única manifestación de la sensibilidad al gluten.

Estudios epidemiológicos recientes^(3,4) han estimado la prevalencia de la EC en el mundo en 1/266 individuos, lo que se ha confirmado en diversas áreas geográficas: Europa, América del Norte y del Sur, Norte de África y Asia⁽⁵⁾. Se sospecha que por cada nuevo diagnóstico quedan entre 5 y 10 casos sin identificar, y esta disparidad podría explicarse por las presentaciones subclínicas o atípicas y la existencia de casos de EC latente. La sensibilidad al gluten se caracteriza por la heterogeneidad clínica, histopatológica, inmunológica e, incluso, genética. El cuadro clásico de malabsorción, diarrea, pérdida de peso y atrofia vellositaria afecta a un 30-40% de los individuos con sensibilidad al gluten, y uno de cada dos adultos tiene síntomas extradiagnósticos. Además, hay individuos con enteropatía mínima y síntomas asociados al gluten, o con alteraciones inmunológicas similares a las de la EC, pero sin histología o clínica

definida^(6,7). Un uso más racional y protocolizado de las pruebas serológicas⁽⁸⁾ y la integración de todo el espectro de cambios histopatológicos relacionados con la ingestión de gluten al evaluar la biopsia intestinal⁽⁹⁾, mejoraría estos resultados.

El modelo del iceberg

Los estudios epidemiológicos, junto a un mejor conocimiento de la enfermedad entre los profesionales de la salud y la disponibilidad y amplio uso de pruebas serológicas simples y eficaces, han cambiado la imagen de la EC en los últimos años y el iceberg es el modelo que mejor representa estos cambios⁽⁵⁾. Su tamaño define la prevalencia, en relación directa con la frecuencia de los genes de susceptibilidad (más común en zonas con alta frecuencia de HLA-DR3) y con la definición de la enfermedad, que permite o no la inclusión de formas de EC latente, EC potencial, sensibilidad al gluten con enteropatía mínima, etc.⁽⁹⁾. La parte sumergida es mayor que la parte emergente y el reto está en identificar la EC subclínica (EC silente, latente, potencial), dado que el diagnóstico temprano y la dieta reducen el riesgo de complicaciones. El *nivel del agua* (proporción de pacientes con y sin diagnóstico), depende de la cantidad de gluten ingerido, pero también del conocimiento y grado de perspicacia del médico, y de la disponibilidad de medios diagnósticos.

El principal órgano diana de la sensibilidad al gluten es el intestino, si bien la lesión intestinal no es específica, y el diagnóstico definitivo debe realizarse mediante manipulaciones dietéticas seguidas de biopsia, para confirmar la relación entre las alteraciones histológicas y la ingestión de glu-

ten. La sensibilidad al gluten incluye distintos grupos de individuos genéticamente susceptibles⁽¹⁰⁾ que, tras ingerir gluten: pueden permanecer sanos (EC potencial), en algunos casos desarrollan la enteropatía (por ejemplo, familiares directos y pacientes con diabetes tipo 1); o están aparentemente sanos pero luego desarrollan la lesión (EC latente); o son asintomáticos, pero tienen la lesión intestinal (EC silente); o, finalmente, un 30-40% de los individuos sensibles al gluten desarrollan la patología clásica (EC activa). (Fig. 1).

Los criterios diagnósticos revisados de la ESPGHAN⁽¹¹⁾, reducen el número de biopsias a una (excepto en circunstancias particulares), debido a la disponibilidad de los marcadores serológicos, y establecen que la sospecha clínica por manifestaciones típicas o atípicas, junto a una prueba positiva debe llevar a la realización de una biopsia intestinal, pero esto debe ocurrir también en los casos con resultado negativo, pero una sospecha clínica importante. En cualquier caso, la mejor garantía de un diagnóstico de certeza definitivo es la biopsia intestinal y la respuesta clínica e histológica a la ingestión de gluten que debe evaluarse en este contexto.

Marcadores serológicos

La heterogeneidad clínica de la enfermedad, la existencia de formas subclínicas, y la naturaleza invasiva de la biopsia intestinal han impulsado el desarrollo de métodos de ayuda diagnóstica sensibles y específicos, lo menos invasivos posible y fáciles de realizar. La utilidad de las pruebas serológicas está: a) en la búsqueda o selección de casos para biopsia, especialmente entre pacientes con sospecha clínica de EC, e individuos pertenecientes a grupos de riesgo, como familiares de pacientes o con enfermedades asociadas; b) en la monitorización de pacientes con dieta sin gluten, según protocolo establecido; y c) en la realización de estudios de prevalencia en la población general, aunque se trata de un tema aún muy controvertido.

Los resultados de las pruebas serológicas deben integrarse en un algoritmo de diagnóstico que incluya también datos clínicos e histopatológicos. La elección de la prueba depende de la prevalencia de la enfermedad en la población de estudio, edad, etc. Además, el rendimiento es distinto dependiendo de la utilidad buscada, como ayuda diagnóstica o para el seguimiento de la dieta, y lo que marca la dife-

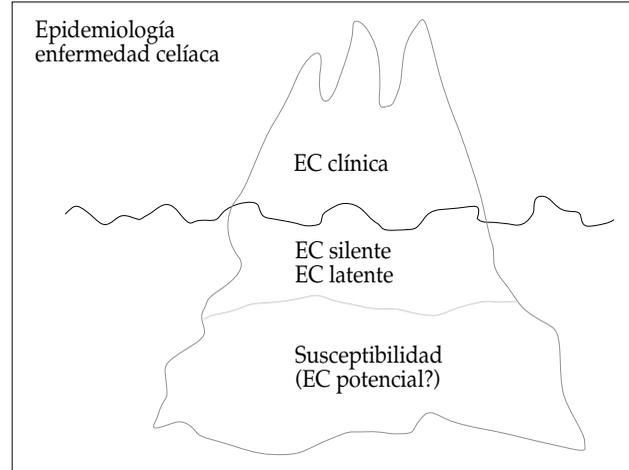


Figura 1.

rencia es el estado de la mucosa: la concordancia de resultados es mayor cuanto más atrófica (y viceversa). El hecho de realizar la biopsia sólo cuando la serología positiva y la falta de biopsias en otras situaciones, es una limitación a la hora de evaluar la utilidad de estas pruebas.

Anticuerpos antigliadina y antiendomiso

La determinación conjunta de anticuerpos antigliadina (AAG) IgA e IgG por ELISA proporciona una buena sensibilidad y una especificidad aceptable para cribado de poblaciones en estudios de diagnóstico. En la actualidad, la mejor utilidad de los AAG es en el seguimiento de la dieta, debido a que detecta bien las trasgresiones y conocemos cómo evolucionan tras la retirada y reintroducción del gluten.

La determinación de anticuerpos antiendomiso (AAEm) por inmunofluorescencia indirecta (IFI) tiene una especificidad del 100%, y una sensibilidad al diagnóstico que puede variar entre el 70 y el 100% en los adultos, y el 85-100% en niños. La sensibilidad del uso combinado de AAEm-IgA y la evaluación histológica es del 98%. La sensibilidad para detectar una alteración mucosa aumenta con el grado de lesión⁽¹²⁾, y esto limita su utilidad en el seguimiento y control dietético. Entre los problemas que se han citado está su carácter semicuantitativo, la utilización de tejidos de animales, y la gran dependencia que tiene esta técnica del observador, además de ser más cara y laboriosa, lo que dificulta los estudios que requieran el análisis de gran cantidad de muestras.

Anticuerpos antitransglutaminasa tisular

La transglutaminasa tisular (TGt) es el antígeno principal con el que reaccionan los AAEm⁽¹³⁾ y podría intervenir en el mecanismo responsable de la pérdida de la tolerancia oral al gluten, mediante la modificación enzimática específica y selectiva de residuos de glutamina de los péptidos de gluten, que aumentan su afinidad por la molécula HLA-DQ2 o DQ8⁽¹⁴⁾. Para la determinación de AATG por ELISA se han utilizado diferentes sustratos: cobaya, algunos de fabricación propia que debían ser estandarizados por cada nuevo lote, debido a la inestabilidad del sustrato, extracto de eritrocitos humanos y, recientemente, proteína recombinante humana, de características más estables, con mejor especificidad sin comprometer la sensibilidad.

La determinación de AATG-IgA por ELISA tiene una sensibilidad del 95-98% y especificidad del 94-95%⁽¹¹⁾. Es una prueba técnicamente simple y resuelve algunos problemas de los AEm: es semicuantitativa y fácilmente automatizable, ahorra tiempo y dinero, no depende del observador, no utiliza tejidos animales, mejora la sensibilidad en niños < 2 años, etc. Sin embargo, faltan estudios para evaluar el tiempo que tardan en normalizarse tras la dieta sin gluten, y en elevarse en pruebas de provocación.

En nuestro laboratorio, se determinaron AATG por ELISA con distintos sustratos en 118 pacientes con EC (43 al diagnóstico, 51 en dieta sin gluten y 19 en provocación), 22 familiares de celíacos, 10 con diabetes mellitus, 10 con intolerancia a proteínas de vaca y 10 con otras patologías intestinales excluida la EC. Teníamos biopsia en 62 casos, de los que 21 se informaron como atrofia total, 17 subtotal, 7 parcial, y 17 mucosa normal. Las figuras 2, 3 y 4 muestran gráficos de concordancia entre AATG y biopsia, AAEm y biopsia, y AATG y AAEm, respectivamente.

En colaboración con investigadores del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de La Habana (Cuba), hemos desarrollado una prueba de un solo paso para determinar anticuerpos IgA e IgG AATG en plasma o suero por una técnica de inmunocromatografía (ICA). La prueba utiliza como marcador una sonda del antígeno conjugado con oro coloidal y el propio antígeno unido a un soporte sólido, formado por una tira de nitrocelulosa, que es la fase estacionaria

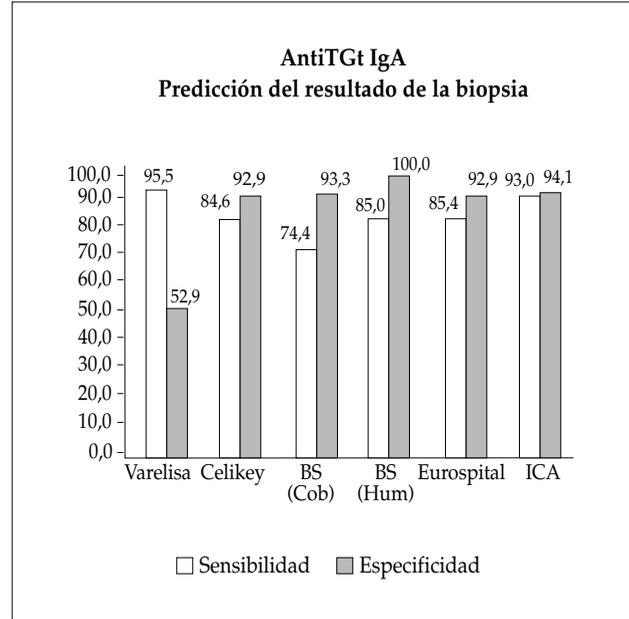


Figura 2. AntiTGt IgA. Predicción del resultado de la Biopsia.

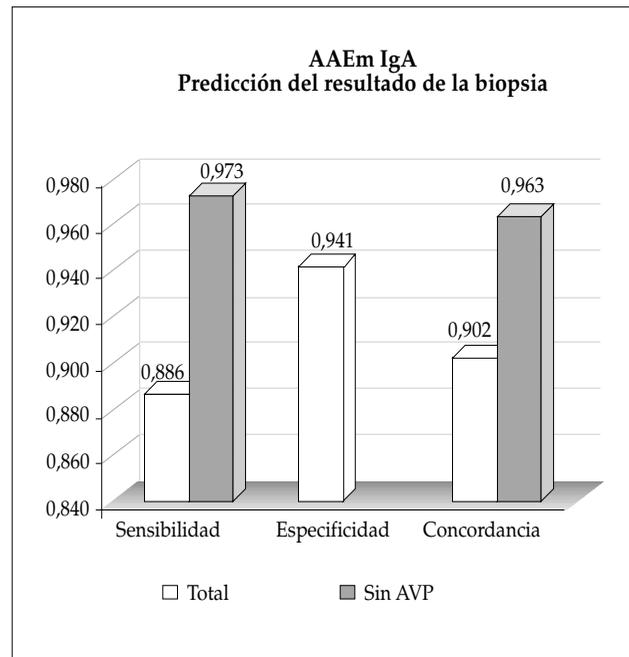


Figura 3. AAEm IgA. Predicción del resultado de la Biopsia.

del sistema. Al introducir la tira en la muestra, los anticuerpos de plasma o suero reaccionan con el oro coloidal-

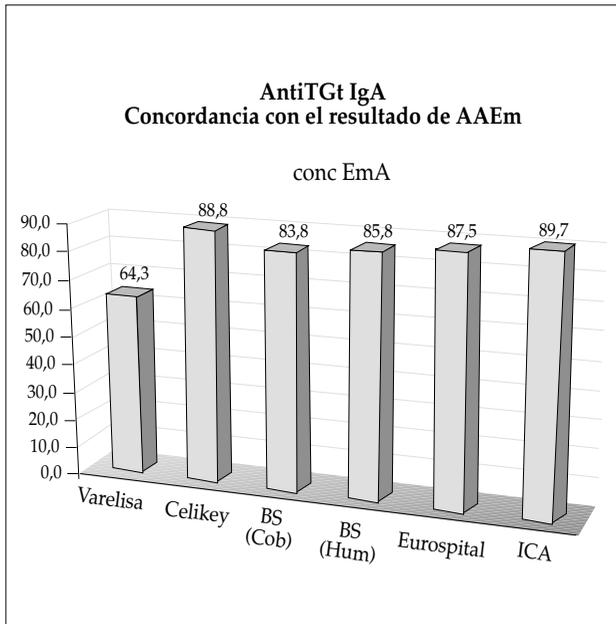


Figura 4. antiTGt IgA. Concordancia con el resultado de AAEm.

TGt formando inmunocomplejos que migran hasta reaccionar con la TGt inmovilizada dando lugar a un círculo coloreado en la zona reactiva⁽¹⁵⁾.

Problemas y dificultades en la utilización de pruebas serológicas

Una biopsia de morfología normal no descarta la enfermedad, pero tampoco una prueba serológica negativa, especialmente en adultos. La sensibilidad de estas pruebas varía con el tipo de lesión, pudiendo llegar al 100% en los casos de atrofia total⁽¹²⁾. En situaciones particulares, cuando los resultados son discordantes o poco claros, puede ser útil estudiar marcadores genéticos de riesgo (DQ2/DQ8) o histopatológicos⁽⁸⁾.

- Los pacientes con atrofia vellositaria parcial o lesión mínima (morfología normal y aumento de linfocitos intraepiteliales) pueden tener resultados negativos. Alguno podría identificarse mediante un protocolo sistemático de estudio con datos clínicos, hematológicos, serológicos, histológicos, etc. En especial, los AAEm se correlacionan con el grado de atrofia y, quizá, con la extensión de la lesión intestinal.
- Los pacientes con déficit selectivo de IgA (alrededor del

1,7-2,6%) presentan también falsos negativos, junto a una elevación de los anticuerpos IgG. Se ha sugerido la utilidad de determinar IgA total en suero de estos pacientes junto a otras pruebas.

- Los resultados de las pruebas pueden alterarse con las variaciones en la cantidad de gluten que consumen los pacientes, al igual que por tratamientos inmunosupresores.

Protocolo de uso de los marcadores serológicos

1. El protocolo diagnóstico se basa en la sospecha clínica y utiliza los AATG como primer eslabón (descartando el déficit de IgA), por las ventajas que representa el método de ELISA. La determinación de AAG puede no ser necesaria.
2. En los grupos de alto riesgo, los AATG definen el grado de actividad y la indicación de la biopsia, mientras que los marcadores genéticos de riesgo definen los casos en los que está indicado hacer un seguimiento (EC. potencial).
3. El objetivo de los estudios de poblaciones determina la pauta a seguir: los AATG pueden ser suficientes en estudios epidemiológicos transversales, pero en programas de rastreo y detección de la enfermedad, es necesario un estudio longitudinal con determinaciones repetidas de AATG por grupos de edad. En este caso, los marcadores genéticos de riesgo permitirían acotar la población de estudio y disminuir el número total de determinaciones serológicas a realizar.
4. Aunque la monitorización de la dieta puede realizarse con AAG, debido a su alta sensibilidad para detectar trasgresiones dietéticas, la mejor alternativa puede ser determinar AATG-IgG o valorar la evolución de sus niveles en un mismo paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schuppan D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2000; 119:234-42.
2. Green PHR, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003; 362:383-91.
3. Catassi C, Rättsch I-M, Fabiani E. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994; 343:200-3.
4. Not T, Horvarth K, Hill ID, et al. Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 494-8.

5. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120:636-51.
6. Arranz E, Ferguson A. Intestinal antibody pattern of celiac disease: occurrence in patients with normal jejunal biopsy histology. *Gastroenterology* 1993; 104:1263-72.
7. Arranz E, Bode J, Kingstone K, Ferguson A. Intestinal antibody pattern of coeliac disease: association with gd T cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes, and other indices of potential coeliac disease. *Gut* 1994; 35:476-82.
8. Garrote JA, Arranz E, Blanco-Quirós A, et al. Valor de los marcadores serológicos en el diagnóstico de la enfermedad celíaca. Propuesta de un protocolo. *An Esp Pediatr* 2000; 53:533-41.
9. Marsh MN. Gluten, MHC and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten-sensitivity. *Gastroenterology* 1992; 102:330-54.
10. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease: active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34:150-1.
11. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J et al. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.
12. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R et al. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:888-94.
13. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen on celiac disease. *Nature Med* 1997; 3:797-801.
14. Molberg O, McAdam SN, Korner R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells. *Nat Med* 1998; 4:713-17.
15. Sorell L, Garrote JA, Acevedo B, Arranz E. A one step immuno-chromatographic assay for the screening of celiac disease. *Lancet* 2002; 359:945-6.