

## Disminución de los anticuerpos antigliadina y de la beta-2 microglobulina en los niños celíacos de acuerdo a su edad \*

E. ARRANZ; A. BLANCO; M. ALONSO; C. CALVO y P. SOLÍS \*\*

RESUMEN: El estudio de la beta-2 microglobulina (B-2m) y de los anticuerpos antigliadina de clase IgG (AAG-G) y de clase IgA (AAG-A) habían sido anteriormente propuestos como una ayuda en el diagnóstico de la enfermedad celíaca. En el presente trabajo se incluyen 48 sueros de 33 niños celíacos en actividad, con atrofia vellositaria subtotal. Se encontró una correlación negativa entre la edad de los pacientes y los AAG-G ( $p < 0,05$ ); AAG-A ( $p < 0,05$ ) y la B-2m ( $p < 0,01$ ). No hubo diferencias significativas entre los resultados obtenidos al diagnóstico o durante la prueba de provocación, aunque existía una ligera disminución. Varios factores intervienen en la intensidad de la respuesta inmunitaria al gluten y la edad de los enfermos en uno de ellos. Los resultados muestran la necesidad de tener en cuenta la edad de los niños antes de interpretar los datos de los AAG y B-2m. PALABRAS CLAVE: ENFERMEDAD CELÍACA. ANTICUERPOS ANTIGLIADINA. BETA-2 MICROGLOBULINA.

DECREASE OF ANTIGLIADIN ANTIBODIES AND BETA-2 MICROGLOBULIN IN COELIAC CHILDREN ACCORDING TO THEIR AGE (SUMMARY): The measurement of antigliadin antibodies of IgG-class (AGA-G), IgA-class (AGA-A) and seric beta-2 microglobulin (B-2m) had previously been proposed as a help in the diagnosis of coeliac disease. In the present work are included 48 sera from 33 active coeliac children with subtotal villous atrophy. A negative correlation between the patients age and the levels of AGA-G ( $p < 0,05$ ), AGA-A ( $p < 0,05$ ) and B-2m ( $p < 0,01$ ) was found. There was not significant differences between the results obtained at the diagnosis moment or during the challenge test, although they had a light decrease. Several factors contribute to the intensity of immune response to gluten, and the patients age is one of these. The results show the need of taking into account the age of coeliac children before interpreting data of AGA or B-2m. KEY WORDS: COELIAC DISEASE. ANTIGLIADIN ANTIBODIES. BETA-2 MICROGLOBULIN.

El diagnóstico de la enfermedad celíaca puede sospecharse por la historia y la exploración clínica. En unos casos es muy típica, pero en otros se presenta con escasa sintomatología. Sólo puede confirmarse por la biopsia intestinal. Teóricamente se precisan 3 biopsias, pero la ma-

yoría de los pacientes acaban sufriendo muchas más. Con el fin de hacerlas en los momentos más idóneos y en los pacientes más sugerentes y atípicos (1), se propuso la determinación previa de pruebas de laboratorio menos agresivas, como la beta-2 microglobulina (B-2m) (2) y es-

\* Trabajo realizado con ayudas del FIS (86/993 y 86/394).

\*\* Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Valladolid.

pecialmente los anticuerpos antigliadina (3, 4, 5, 6).

Los anticuerpos antigliadina de clase IgG (AAG-IgG) y de clase IgA (AAG-IgA) están elevados en la fase de actividad, se normalizan durante la remisión y vuelven a hacerse positivos en las pruebas de provocación (7). Su uso diagnóstico se está extendiendo ampliamente y numerosos hospitales la emplean ya rutinariamente. El tiempo que tardaban los enfermos en recaer después de la reintroducción de gluten es muy variable, tanto en lo que se refiere a manifestaciones clínicas como a las puramente serológicas. Además es frecuente observar que la intensidad y extensión de los síntomas, durante las provocaciones no es tan intensa como lo fue al diagnóstico. Esta situación puede ser debida a la mayor edad de los enfermos, a la maduración intestinal e inmunológica o a otras circunstancias todavía no conocidas (8, 9).

En este artículo intentamos conocer el comportamiento de los anticuerpos AAG en niños celíacos según la edad de los pacientes y que se trate de un caso en el momento del diagnóstico o durante la prueba de provocación.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

*Pacientes.* En el estudio se incluyeron 48 sueros correspondientes a 33 niños celíacos, de los que 16 estaban en el momento del diagnóstico y los otros 32 en fase de provocación. En todos los casos la extracción de sangre coincidió con la realización de la biopsia intestinal presentando una mucosa plana. Los sueros se guardaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su estudio. El estudio seriado, al diagnóstico y en provocación, fue posible en 8 de los casos. La edad osciló entre 11 meses y 8 a. 4 m. para los niños estudiados al diagnósti-

co, y entre 2 a. 8 m. y 6 a. 9 m. para los que estaban en fase de provocación.

*Métodos.* Los AAG se midieron por la técnica de ELISA, según detalles previamente publicados (8). En resumen, la técnica consistió en fijar gliadina (Sigma) 50  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . a microplacas (Dynatech) e incubar los sueros de los enfermos a las concentraciones de 1/320 para IgG y 1/160 para IgA. Luego se añadió un anticuerpo anti-IgG o IgA marcado con peroxidasa, se reveló con OPD y se midió la densidad óptica en un espectrofotómetro a 492 nm. Los resultados se compararon a los de suero de referencia y se expresaron en unidades aleatorias de la siguiente forma:

$$uu = (\text{DO suero del enfermo} / \text{DO suero de referencia}) \times 100$$

La beta-2 microglobulina (B-2m) se midió por ensayo comercial (Pharmacia). En todas las determinaciones se consideraron elevadas las cifras que superaron los niveles medios más 2 desviaciones estándar de un grupo de niños normales de edad comparable previamente estudiados (8, 9).

Para valorar los resultados se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y la prueba de Spearman realizándolos en un ordenador Macintosh con el programa Stat View 512+.

#### RESULTADOS

Los valores de AAG-G, AAG-A y B-2m tienen una correlación inversa con la edad que resultó significativa con el test de Pearson y el de Spearman (Tabla I y Fig. 1). La correlación es ligeramente superior para la B-2m ( $p < 0,01$ ) que para los anticuerpos ( $p < 0,05$ ) (Tabla II). Estos valores no son totalmente dependientes entre sí, sólo hubo correlación positiva entre las cifras de B-2m y AAG-G ( $p < 0,01$ ) (Tabla III).

TABLA I. ANTICUERPOS ANTIGLIADINA Y BETA-2 MICROGLOBULINA EN ENFERMOS CELIACOS EN ACTIVIDAD

EDAD	AAG-G*	AAG-A*	B-2m (µg/dl.)
0-2a.(n.12)	126 ± 29	71 ± 60	3,1 ± 1,2
2-4a.(n.12)	87 ± 46	58 ± 50	2,8 ± 1,0
4-6a.(n.15)	93 ± 40	31 ± 23	2,1 ± 0,8
6-8a.(n.8)	88 ± 35	27 ± 32	2,1 ± 0,4
0-2a.(n.12)	<46,2	<22,7	<2,00

\* AAG-G y AAG-A: anticuerpos anti gliadina de clase IgG e IgA expresados en unidades aleatorias (%) de acuerdo a un suero patrón.

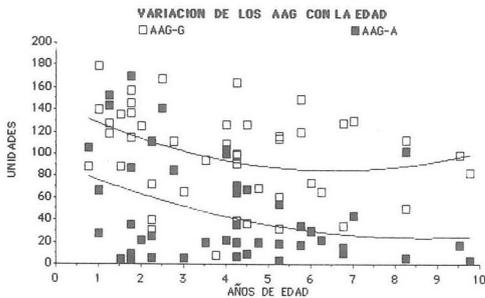


FIG. 1. Correlación entre los valores de AAG de clase IgG y de clase IgA en 48 celíacos en actividad con biopsia plana, simultáneamente realizada, y la edad. La línea superior representa la regresión polinomial de los AAG-G y la inferior de los AAG-A

TABLA II. CORRELACION ENTRE LA EDAD Y LOS NIVELES DE ANTICUERPOS ANTIGLIADINA Y DE BETA-2 MICROGLOBULINA SERICA

GRUPO DE CASOS	AAG-G		AAG-A		B2m	
	n	p	n	p	n	p
AL DIAGNÓSTICO	21	N.S.	21	N.S.	20	N.S.
EN PROVOCACIÓN	27	N.S.	27	N.S.	22	N.S.
GRUPO TOTAL	48	<0,05	48	<0,05	42	<0,01

n.: Número de casos estudiados.

p.: Probabilidad estadística para el coeficiente de correlación (r).

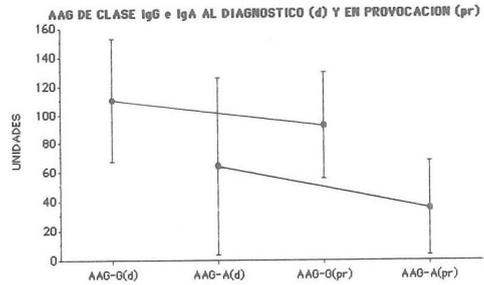


FIG. 2. Niveles medios ± DS de los AAG-G y AAG-A realizados al diagnóstico y en la provocación. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas

TABLA III. CORRELACION ENTRE LOS AAG DE CLASE IgG E IgA Y LOS NIVELES DE BETA-2 MICROGLOBULINA

B-2m / AAG-G	p < 0,01
B-2m / AAG-A	N.S.
AAG-G / AAG-A	N.S.

Quando se valoraron por separado los celíacos en el momento del diagnóstico (16 casos) y los que estaban durante la prueba de provocación (32 casos) no se encontró correlación inversa con la edad ni de los AAG, ni de la B-2m, aunque mostraban tendencia hacia el descenso (Tabla II). Tampoco resultaron significativas las diferencias entre las diferentes series de valores obtenidas al diagnóstico y durante la provocación (Fig. 2).

## DISCUSIÓN

El aumento de AAG-G y AAG-A y de beta-2m en el suero, es habitual en los celíacos durante la fase de actividad de la enfermedad. Nosotros habíamos encontrado cifras altas de AAG-G en el 91 %; AAG-A en el 61 % y beta-2m en el 40 % (9, 10). Al suprimir el gluten de la dieta los valores de AAG tendían a la normalidad, volviendo a subir tras someter a los pacientes a una prueba de provocación con

gluten. La elevación fue menor en este momento, que al diagnóstico, aunque no llegó a ser significativa la diferencia.

El progresivo descenso observado puede estar relacionado directamente con la edad del niño. Otra posibilidad es que la situación antigénica en las provocaciones, que se realiza en edades posteriores, no sea equivalente a la del momento del diagnóstico, y que la edad no sea exactamente la causa del progresivo descenso. Sin embargo, el grado de atrofia de la biopsia intestinal fue idéntico en ambos grupos.

Cuando relacionamos con la edad únicamente los valores del grupo de casos estudiados en fase de diagnóstico o en fase de provocación, se mantiene la misma correlación negativa del grupo general, pero ya no es suficientemente significativa. Quizás un número mayor de casos, con un rango de edades más amplio, le diera la precisa significación a los tests estadísticos.

La edad del niño parece jugar un importante papel en la respuesta contra antígenos orales, que varía con el grado de madurez de la mucosa gastrointestinal (11). Es conocido el aumento de anticuerpos de clase IgA frente a diversas proteínas de la dieta, entre las que el gluten es una de las más comunes. La edad de la primera ingesta de esta proteína puede condicionar las posteriores respuestas (12). Por otra parte, la composición de la dieta varía con los años, de modo que la cantidad de gluten ingerida por un lactante es proporcionalmente más alta que la de un niño mayor, con dieta más diversificada. Todavía no está perfectamente aclarada la relación dosis-efecto que pudiera existir en la enfermedad celiaca. Algunos autores vieron en niños menores de 2 años un aumento de AAG-A, sin un comportamiento similar de otras clases de anticuerpos, lo que configura, según ellos, un patrón de maduración fisiológico de IgA habitual en los niños (13).

La prueba de provocación suele realizarse en niños mayores, cuando cabe esperar la existencia de una mucosa intestinal más madura y quizás menos permeable. El aumento de los anticuerpos es menor. Parece existir una cierta «adaptación» al antígeno, o quizás los anticuerpos locales lleguen a comportarse como protectores impidiendo el contacto de la gliadina con la mucosa intestinal.

Otro factor importante podría ser el diferente grado de susceptibilidad a la gliadina, y a sus distintas fracciones, entre unas personas y otras. Ciertos factores genéticos parecen estar implicados en el control de la respuesta inmune humoral a la gliadina, tal es el caso de los pacientes con fenotipos HLA-DR3 y DR7 que son portadores de títulos más elevados de AAG (14, 15, 16). Apoyando esos hechos se cita el retraso en la aparición de los síntomas en niños que mostrando estos fenotipos reciben lactancia materna. Otros marcadores genéticos relacionados con la respuesta de anticuerpos son los fenotipos Gm de las cadenas pesadas de la inmunoglobulinas (17).

Estos factores, de carácter genético, tendrían muy probablemente escasa importancia para explicar nuestros hallazgos. Sin embargo, es posible que sobre una base genética, la respuesta inmunitaria contra la gliadina resulte influenciada por factores ambientales relacionados con infecciones víricas intestinales (18), que favorecerían la aparición de reacciones cruzadas de anticuerpos. El número de contactos con estos virus, que puede ser variable con la edad, influiría en el grado de respuesta generada por la prueba de provocación con la gliadina.

Ribes y col. (19) hallaron, como nosotros (Fig. 3), un aumento de la B-2m en celíacos en actividad comparado a controles, pero sus diferencias eran menores. Quizás la explicación radique en que los 23 casos que ellos estudiaban estaban to-

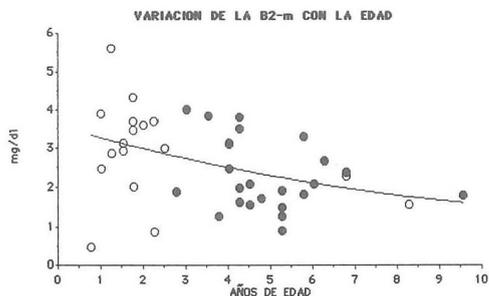


FIG. 3. Las cifras de B-2m descienden con la edad ( $p < 0,01$ ), pero no hubo diferencias entre las obtenidas al diagnóstico (círculos blancos) y en la provocación (círculos negros)

dos en fase de provocación y es de suponer que tuvieran una edad media más elevada

que las de nuestros enfermos. Una de las hipótesis que intentaban explicar la elevación de la B-2m es que resultara de la destrucción masiva de enterocitos y su posterior reabsorción. Sin embargo el grado de lesión histológica es similar y su descenso con la edad, muy paralelo al de los AAG, sugiere que pueda relacionarse directamente con los mecanismos inmunológicos.

Independientemente del significado patológico que pudiera tener el descenso de los AAG y de la B-2m con la edad, es un hallazgo que debe tenerse en cuenta a la hora de valorar sus resultados en un niño mayor, con el fin de indicar, o no, la realización de una biopsia.

#### BIBLIOGRAFIA

1. CACCIARI, E.; SALARDI, S.; VOLTA, U. y col.: *Can antigliadin antibody detect symptomless coeliac disease in children with short stature?* Lancet, 1985; 1: 1469-1471.
2. BLANCO, A.; ALONSO, M.; CILLERUELO, M. L.; SOLÍS, P.; CALVO, C.; SÁNCHEZ VILLARES, E.: *Increased serum beta-2 microglobulin levels in active coeliac disease.* J. Pediat. Gastroenterol. Nutr., 1985; 4: 388-392.
3. ARRANZ, E.; TELLERÍA, J. J.; BLANCO, A.: *Valor de los anticuerpos antigliadina.* Bol. Soc. Cast. Ast. Leon. Pediat., 1986; 27: 271-279.
4. BLAZER, S.; NAVEH, Y.; BERANT, M.; MERZBACH, D.; SPERBER, S.: *Serum IgG antibodies to gliadin in children with coeliac disease as measured by an immunofluorescence method.* J. Pediat. Gastroenterol. Nutr., 1984; 3: 205-209.
5. UNSWORTH, D. J.; WALKER-SMITH, J. A.; HOLBOROW, E. J.: *Gliadin and reticulín antibodies in childhood coeliac disease.* Lancet, 1983; 1: 874-875.
6. RIBES, C.; GILIAMS, J. P.; POLANCO, I.; PEÑA, A. S.: *IgA antigliadin antibodies in coeliac and inflammatory disease.* J. Pediat. Gastroenterol. Nutr., 1984; 3: 676-682.
7. VOLTA, U.; BONAZZI, C.; PISI, E.; SALARDI, S.; CACCIARI, E.: *Antigliadin and antireticulin antibodies in coeliac disease and at onset of diabetes in children.* Lancet, 1987; II: 1034-1035.
8. RIBES, C.; PEREDA, R. A.; FERRER, J.; PEÑA, A. S.: *The role of the measurement of IgA antigliadin antibodies in a pediatric unit in Spain.* J. Clin. Nutr. Gastroenterol., 1986; 1: 26-29.
9. ARRANZ, E.; BLANCO, A.; ALONSO, M.; GUIASOLA, J. A.; CALVO, C.: *Estudio sobre la especificidad de los diferentes anticuerpos antigliadina, séricos y secretores y de la beta-2 microglobulina en el diagnóstico de la enfermedad celiaca.* Premios Ordesa a la Investigación Pediátrica. Ed. Ordesa, S.A. Barcelona 1986, pp. 11-38.
10. BLANCO, A.; ARRANZ, E.; ALONSO, M.; TELLERÍA, J. J.: *Probable origen sistémico de los anticuerpos antigliadina de tipo IgA.* Rev. Esp. Alergol. Inmunol. Clín., 1987; 2: 185.
11. ARRANZ, E.; BLANCO, A.; ALONSO, M.; CALVO, C.; TELLERÍA, J. J.; GUIASOLA, J. A.; SÁNCHEZ VILLARES, E.: *IgA antigliadin antibodies are the most specific in children with coeliac disease.* J. Clin. Nutr. Gastr., 1986; 1: 291-295.
12. BLANCO, A.; LINARES, P.; ANDIÓN, R.; ALONSO, M.; SÁNCHEZ VILLARES, E.: *Development of humoral immunity system of the small bowel.* Allergol. Immunopathol., 1976; 4: 235-240.
13. FERGUSON, A.; CARSWELL, F.: *Precipitins to dietary proteins in serum and upper intestinal secretions of coeliac children.* Brit. Med. J., 1972; I: 75-77.

14. SAVILAHTI, E.; VIANDER, M.; PERKKIO, M.; VAINIO, E.; REUNALA, T.: *IgA antigliadin antibodies: A marker of mucosal damage in childhood coeliac disease*. Lancet, 1983; I: 320-322.
15. MEARIN, M. L.; RIBES, C.; BIEMOND, I.; POLANCO, I.; PEÑA, A. S.: *Influence of genetic factors on the serum levels of antigliadin antibodies in coeliac disease*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1984; 3: 373-377.
16. SCOTT, H.; HIRSCHBERG, H.; THORBY, E.: *HLA-Dr3 and HLA-Dr7 restricted T cell hyporesponsiveness to gluten antigen: A clue to the etiology of coeliac disease*. Scand. J. Immunol., 1983; 18: 163-167.
17. TOSI, R.; VISHARA, D.; TANIGAKI, N.; FERRARA, G. B.; CICIMARRA, F.; BUFFOLANO, W.; FOLLO, D.; AURICCHIO, S.: *Evidence that coeliac disease is primarily associated with a Dc locus allelic specificity*. Clin. Immunol. Immunopathol., 1983; 28: 395-404.
18. KAGNOFF, M. F.; WEISS, J. B.; BROWN, R. J.; LEE, T.; SCHANFIELD, M. S.: *Immunoglobulin allotype markers in gluten-sensitive enteropathy*. Lancet, 1983; I: 952-953.
10. KAGNOFF, M. F.; AUSTIN, R. K.; HUBERT, J. J.; BERNARDIN, J. E.; KASARDA, D. D.: *Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease*. J. Exp. Med., 1984; 160: 1544-1557.
20. RIBES, C.; ENGUIDANOS, M. J.; PEREDA, A.; FERRER, J.: *Valores de beta 2 microglobulina en niños celiacos*. XI Reunión Gastr. Nutr. Pediatr. La Coruña 1986, p. 30.