

TEMA 9

MARCADORES GENÉTICOS Y NUEVOS MARCADORES SEROLÓGICOS DE ENFERMEDAD CELÍACA

Inmaculada Alarcón Torres

**Programa de
Formación Continuada
a Distancia
2012**

FC AEFA 

MARCADORES GENÉTICOS Y NUEVOS MARCADORES SEROLÓGICOS DE ENFERMEDAD CELÍACA

Dra. Inmaculada Alarcón Torres

Especialista en Análisis Clínicos e Inmunología.
Área de Autoinmunidad. Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

INDICE

- | | | | |
|------|---|--------|--|
| 1. | INTRODUCCIÓN | 4.2. | Estudio autoinmune:
Autoanticuerpos |
| 2. | ENFERMEDAD CELÍACA | 4.2.1. | Anticuerpos anti-péptidos
deaminados de la gliadina |
| 2.1. | Epidemiología | 4.2.2. | Anticuerpos anti-endomiso y
anti-transglutaminasa tisular |
| 2.2. | Prevalencia de la enfermedad y
grupos de riesgo | 4.3. | Deficiencia de IgA |
| 2.3. | Manifestaciones clínicas | 5. | GUÍAS DE PRACTICA CLÍNICA |
| 3. | MARCADORES GENÉTICOS DE
LA ENFERMEDAD CELÍACA | 5.1. | Sospecha diagnóstica en pacientes
sintomáticos |
| 3.1. | Antígenos leucocitarios humanos HLA | 5.2. | Diagnóstico en sujetos
pertenecientes a grupos de riesgo. |
| 3.2. | HLA y enfermedad celíaca | 5.3. | Monitorización de pacientes con
DSG |
| 3.3. | Papel del HLA en la patogénesis de
la enfermedad | 5.4. | Recomendaciones para el manejo
de los HLA |
| 3.4. | Estudio del HLA en la enfermedad
celíaca | 5.5. | Recomendaciones para el manejo
de los anticuerpos |
| 3.5. | HLA y familiares de pacientes
celíacos | 6. | CONCLUSIONES |
| 4. | MARCADORES SEROLÓGICOS
DE LA ENFERMEDAD CELIACA | 7. | BIBLIOGRAFÍA |
| 4.1. | Diagnóstico de laboratorio de la
enfermedad | 8. | ENLACES WEB DE INTERÉS |
| | | 9. | ABREVIATURAS |
| | | 10. | EVALUACIÓN |

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Una vez superado el tema los alumnos serán capaces de optimizar el manejo clínico de la enfermedad celíaca mediante:

1. Conocimiento y desarrollo de los aspectos clínicos básicos de la enfermedad y manejo de los criterios diagnósticos de la enfermedad.
2. Conocimiento y desarrollo de los marcadores genéticos y serológicos.
3. Conocimiento del procedimiento analítico y la interpretación de los resultados.
4. Mejorar la eficacia y eficiencia en el diagnóstico de la enfermedad.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso inflamatorio crónico originado por la intolerancia permanente al gluten, que se desarrolla en aquellos individuos genéticamente predispuestos, dando lugar a la lesión de la mucosa del intestino delgado, aunque también pueden presentarse otras manifestaciones sistémicas no digestivas. Puede aparecer a cualquier edad, y aunque es más frecuente durante la infancia y adolescencia, también puede presentarse en edad adulta, incluso en pacientes de edad avanzada.

La EC es el resultado de la interrelación multifactorial entre la activación de la respuesta inmune celular mediada por las células T (inflamación) y la respuesta inmune humoral mediada por las células B (producción de autoanticuerpos) ante la exposición al gluten (factor extrínseco desencadenante) en personas genéticamente predispuestas (factor intrínseco predisponente). El agente causal es el gluten, está constituido por un grupo de proteínas presentes exclusivamente en determinados cereales, como el trigo, el centeno, la cebada y la avena, y que no se encuentra en maíz y arroz; sin embargo, las infecciones virales que alteran la permeabilidad intestinal, la lactancia y la edad de introducción del gluten en la dieta juegan un papel adicional importante. En cuanto a los factores genéticos, la EC aparece en muy raras ocasiones en ausencia de un determinado tipo de Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA). Por ello, en los últimos años, la identificación de los factores genéticos ha sido uno de los principales objetivos de la investigación en la EC y, en la actualidad, el estudio del HLA tiene un papel importante en la práctica clínica de la enfermedad. A diferencia de otras enfermedades autoinmunes, la EC es una enfermedad curable en casi todos los casos mediante una dieta adecuada sin gluten (DSG), siempre que no existan complicaciones irreversibles.

Las herramientas que disponemos para el estudio de la EC, además del criterio clínico, son:

- La **serología autoinmune** con los distintos marcadores serológicos de la enfermedad.
- El **estudio genético** con una importante asociación de determinados HLA.
- La **biopsia intestinal** con el hallazgo de la lesión histológica que, hasta ahora, era considerado el criterio definitivo o patrón de oro para el diagnóstico de la EC.

2. ENFERMEDAD CELÍACA

2.1. Epidemiología

La EC se trata de un proceso con una distribución mundial homogénea, que afecta a todo tipo de razas y se reconoce como uno de los trastornos congénitos más frecuentes, presentando una prevalencia media del orden del 2% en población general, siendo más frecuente en mujeres, aunque todavía sigue siendo una enfermedad infradiagnosticada. La intolerancia al gluten representa un problema importante de salud pública a nivel mundial, siendo necesario un mayor conocimiento de las características clínicas de la enfermedad, para que los clínicos en atención primaria, pediatras y especialistas, la diagnostiquen con mayor frecuencia y de forma precoz. Por otra parte, la instauración y el mantenimiento de una DSG presenta importantes problemas de adherencia por el elevado coste que supone en los países desarrollados y debido a la escasa disponibilidad de este tipo de alimentos, en los países en desarrollo.

2.2. Prevalencia de la enfermedad y grupos de riesgo

La ingestión de gluten determina, en los pacientes celíacos, la atrofia de las vellosidades de la mucosa intestinal y la consecuente malabsorción. Los síntomas son muy variables, de manera que la EC se considera actualmente una enfermedad multiorgánica, más que una enteropatía y de hecho, en algunos casos, no hay presente ningún tipo de manifestación gastrointestinal. Esta gran variabilidad en su expresión clínica hace muy difícil su diagnóstico. Aún así, la sensibilidad clínica y las

técnicas serológicas e histológicas han mejorado considerablemente en los últimos años, por lo que la prevalencia de la enfermedad está aumentando, sobre todo en determinados grupos de riesgo, en particular en familiares de primer grado de celíacos, en pacientes con determinados síndromes genéticos (Down, Turner, Williams) y en pacientes con otras enfermedades autoinmunes (EAI) como S. de Sjogren, Tiroiditis, Hepatitis Autoinmune o Diabetes tipo 1 (DM1). La concentración familiar de los casos de EC es la evidencia de la susceptibilidad genética de la enfermedad, mientras que la asociación con otras EAI en un mismo individuo o en diferentes miembros de una misma familia, es sugestiva de la existencia de genes que implican una predisposición autoinmune.

En Europa, la prevalencia de la EC en la población general se estima entre 0,3 y 1,2%, y en España, está entre un 0,85% en población infantil y del 0,26% en población adulta, según datos del Ministerio de Sanidad y Consumo del año 2008.

2.3. Manifestaciones clínicas

La EC presenta un gran polimorfismo desde el punto de vista clínico, bioquímico, biológico e histopatológico y se clasifica en varios grupos fundamentales:

- **EC activa** que puede ser oligosintomática y monosintomática.
- **EC silente** donde no se presentan manifestaciones clínicas, o son mínimas, pero sí hay anticuerpos y lesión histológica, incluso atrofia de vellosidades intestinales, que se normalizan con una DSG.
- **EC latente**, se presenta un HLA compatible con EC, generalmente sin sintomatología clínica y con una biopsia intestinal sin alteraciones de la mucosa, con o sin anticuerpos positivos.
- **EC potencial** cuando no hay presencia de anticuerpos específicos y HLA compatible con EC, sin alteraciones histológicas en la biopsia, generalmente sin sintomatología clínica. El paciente podrá desarrollar, o no, una enteropatía.

La EC es un proceso en que varían mucho las formas de presentación mostrando un amplio espectro de manifestaciones, que van desde casos subclínicos completamente asintomáticos, hasta los que llegan a presentar una evidente desnutrición. Los síntomas más frecuentes son el dolor abdominal, generalmente de tipo cólico, acompañado de la hinchazón fluctuante, dispepsia o malas digestiones, síntomas de reflujo gastro-esofágico, tales como la pirosis y regurgitación, y alteraciones del hábito intestinal desde la diarrea hasta el estreñimiento, o bien, una alternancia de ambos. También, se puede presentar anemia, astenia, disnea de medianos esfuerzos, trastornos del sueño, pérdida de peso, dolores óseos generalizados por la frecuente asociación con osteoporosis y trastornos del carácter con frecuente irritabilidad, cefaleas y depresión, entre otros.

La presencia de diarrea era considerada hasta hace un cierto tiempo como un síntoma habitual; sin embargo, en el adulto podemos encontrar hasta un 50% de los pacientes que presentan estreñimiento rebelde a tratamiento, de forma predominante. Lo mismo ocurre con la pérdida de peso, que en el adulto es poco habitual, incluso, hay hasta un 30% de pacientes que presentan signos evidentes de sobrepeso. Las manifestaciones clínicas de la EC se resumen en la tabla 1.

Desde el punto de vista clínico podemos encontrar distintas formas de presentación de la EC: Las **formas clásicas** que son más frecuentes en la infancia y excepcionales en la edad adulta, caracterizadas por un predominio de síntomas digestivos claros con aparición de síntomas graves de malabsorción, anticuerpos positivos y atrofia de vellosidades, dentro de este grupo, las formas monosintomáticas son las más frecuente, tanto de la edad adulta como en la infancia. El espectro histológico es variable, desde la enteritis linfocítica a la atrofia total y la positividad de los autoanticuerpos es variable dependiendo del grado de la lesión histológica.

Por el contrario, las denominadas **formas atípicas** son más frecuentes en los adultos que en la infancia, en las que la sintomatología digestiva es intermitente y menos intensa en general que en los niños, predominando las manifestaciones extradigestivas, tales como, la anemia ferropénica crónica, la elevación de las pruebas de función hepática, las tiroiditis y las alteraciones de la fertilidad, entre otras.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA		
INFANCIA	ADOLESCENCIA	ADULTOS
Signos típicos y/o Digestivos		
Diarrea	Diarrea, Malabsorción	Diarrea, Malabsorción
Dolor abdominal, Vómitos, Náuseas	Dolor abdominal, Estreñimiento	Dolor abdominal, Dispepsia, Estreñimiento
Distensión abdominal	Meteorismo, Hepatitis	Hipertransaminemia, Sind. intestino irritable
Retraso pondoestatural Fallo de crecimiento	Estatura baja	Astenia, Inapetencia
Hipotrofia muscular: nalgas, muslos y brazos	Dermatitis atópica	Dermatitis herpetiforme
Signos atípicos extradigestivos		
Anorexia, Astenia	Cefaleas, epilepsia	Osteoporosis, Fracturas, Artritis, Artralgias
Defectos del esmalte dental, Pelo frágil	Artralgias, Artritis, Estomatitis aftosa,	Apatía, Depresión Irritabilidad, Ansiedad
Irritabilidad, Introversión	Anemia ferropénica	Anemia ferropénica Pérdida de peso
Dependencia, Dislexia, Autismo, Hiperactividad	Retraso e irregularidad menstrual, Retraso puberal	Abortos, Infertilidad, Menopausia precoz, recién nacidos con bajo peso
Leucopenia, Anemia, Coagulopatía, Trombocitosis	Con frecuencia asintomática	Epilepsia, Ataxia, Neuropatías periféricas

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la enfermedad celíaca

ESTADÍO	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS
0	Biopsia duodenal normal
1 (Infiltrativo)	Aumento de los linfocitos intraepiteliales (LIE) (>30 por cada 100 células epiteliales)
2 (Hiperplasia)	Hiperplasia de las criptas Infiltrado inflamatorio crónico en submucosa
3 (Atrofia): 3a 3b 3c	Atrofia de vellosidades parcial Atrofia de vellosidades subtotal Atrofia de vellosidades total
4 (Hipoplasia)	Desaparición total de la mucosa y submucosa

Tabla 2. Clasificación de Marsh de las lesiones de la mucosa intestinal

Según los Criterios de Marsh, se establecen distintas categorías con respecto a la afectación de la mucosa intestinal, que van desde la mucosa normal a la mucosa hipoplásica. (Tabla2).

Los criterios diagnósticos considerados hasta ahora eran los de la *European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) del año 1990; esta guía representó una significativa mejora en el diagnóstico y manejo de la EC, aunque cuestionaba el valor de los marcadores serológicos y consideraba la atrofia vellositaria como la lesión característica de EC; por otro lado, existían unas recomendaciones de la *American Gastroenterological Association* (AGA) del año 2006 en que se hacía referencia expresa al alto valor predictivo de la negatividad de los marcadores genéticos y consideraba los anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-tTG) como el marcador serológico recomendado.

A principios de este año 2012, se publica una nueva guía clínica de la ESPGHAN para el manejo de la EC, estas directrices se centran en la infancia y la adolescencia, y establecen algunas modificaciones respecto a los criterios diagnósticos y manejo de los marcadores serológicos con el objetivo de lograr una mayor precisión diagnóstica. En dicha guía, se actualizan los criterios y se establece un sistema de puntuación para determinar el diagnóstico de la EC. La finalidad de este sistema de puntuación es el diagnóstico rápido en la evaluación inicial del paciente, simplificarlo en aquellos pacientes con resultados evidentes y evitar el sobrediagnóstico cuando los hallazgos son inespecíficos.

De esta forma, el diagnóstico de EC depende de 4 elementos fundamentales que son los síntomas clínicos asociados a la sensibilidad al gluten, los niveles de anticuerpos específicos de EC, la presencia de HLA-DQ2 y/o DQ8, y los cambios histológicos característicos en la biopsia duodenal. La conjunción entre estos puntos contribuye al diagnóstico de EC.

3. MARCADORES GENÉTICOS EN LA ENFERMEDAD CELÍACA

El estudio de los HLA es una herramienta útil para excluir o establecer el diagnóstico probable de EC. La determinación de los HLA se realizará en aquellos pacientes con diagnóstico dudoso, con anticuerpos específicos de EC negativos y ligeros cambios infiltrativos en la biopsia intestinal. En el caso de niños con una importante sospecha clínica de EC o con anticuerpos específicos positivos en los que no se va a realizar la biopsia, se recomienda la realización del estudio de HLA para apoyar el diagnóstico. Esta prueba también se realizara en los individuos asintomáticos con factores de riesgo asociados de EC con el fin de seleccionar a los que se les va a realizar la determinación de anticuerpos específicos.

3.1. Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA)

Los HLA son proteínas expresadas sobre la superficie celular y se dividen en moléculas de clase I y de clase II. Las primeras están formadas por una cadena alfa pesada y una pequeña cadena de beta 2 microglobulina y las segundas por dos cadenas, alfa y beta, del mismo tamaño. La función de las moléculas HLA es actuar como péptidos antigénicos de unión y de su presentación a linfocitos T, de hecho, el receptor de las células T sólo reconoce a los antígenos externos cuando son presentados por las moléculas HLA. Los péptidos derivados de antígenos endógenos, principalmente virales, se unen a las moléculas de clase I expresadas en las células nucleadas y los presentan a las células T CD8 +, activando una respuesta citotóxica. Las de clase II, se unen a péptidos derivados de antígenos exógenos, la mayoría de bacterias, los presenta a los linfocitos T CD4 +, activando la respuesta humoral. Por lo tanto, la función de las moléculas HLA es el desencadenar la respuesta inmune.

La región genética del HLA está localizada en el brazo corto del cromosoma 6. Este fue el primero en ser secuenciado y resultó ser la región del genoma humano más polimorfa y que incluye más de 600 genes. Si se consideran sólo los loci que codifican las moléculas más relevantes para la clase I y las de clase II, son conocidos más de 3000 alelos. En relación con las moléculas de clase I, los loci HLA-A, -B y -C están implicados en la codificación de la cadena pesada, mientras que el gen de la beta 2-microglobulina, que no es polimorfo, ha sido asignado al cromosoma 15. En cuanto a la clase II, ambas cadenas se codifican por los genes de la región HLA, HLA-DPA, -DQ y -DRA están involucrados en la codificación de la cadena alfa, y HLA-DPB, -DQB, y -DRB en la de la cadena beta. Para cada tipo de cadena están presentes varios loci que están numerados, los HLA-DQA1, -DQB1, y -DRB1 indican el primer locus de la cadena DQ alfa, DQ beta y DR beta, respectivamente. Por otra parte, los alelos se identifican por un número separado del gen por un asterisco (DRB1*0301). El término haplotipo se utiliza para indicar la combinación de los alelos en loci cercanos del mismo cromosoma que se heredan conjuntamente. Bajo condiciones de equilibrio, las combinaciones deben ser casuales y debería depender sólo de la frecuencia de los alelos. Sin embargo, este sistema es todavía más complicado, de forma que muchas combinaciones de haplo-

tipos se ponen de manifiesto con más frecuencia de lo esperado, debido a un fuerte desequilibrio de ligamiento en la región y este fallo del equilibrio se define como desequilibrio del ligamiento (LD).

3.2. HLA y enfermedad celíaca

La primera asociación de HLA y EC que se describió fue con el antígeno B8, cuando sólo se conocía la clase I y el tipaje se realizaba mediante el uso de anticuerpos; sin embargo, cuando se conoció la clase II, se hizo evidente que la asociación con DR3 era más fuerte y la B8 era secundaria. También se demostró que el DR7 estaba asociado a la enfermedad y era más frecuente en pacientes celíacos que en sujetos control. En 1983, se demostró que la mayor asociación era con la molécula DQ2, casi siempre presente junto con el DR3 y DR7. Cuando estuvo claro que los haplotipos DR3 y DR7 compartían el alelo DQB1*02 y que los haplotipos DR3 y DR5 compartían el alelo DQA1*05, fue evidente que la principal asociación de la EC ocurría con un alfa/beta heterodímero DQ2 codificado por los alelos DQA1*05 y DQB1*02.

La molécula DQ2, es un heterodímero formado por una cadena alfa y una beta, situado en la superficie de las células que están implicadas en la respuesta inmune, linfocitos B y macrófagos, y se codifica por dos alelos en la región DQ: DQA1*05 para la cadena alfa y DQB1*02 para la cadena beta. Este heterodímero DQ2 se encuentra en el 90-95% de los pacientes celíacos y en un 20-30% de la población general y el grupo restante de celíacos con DQ2 negativo presentan moléculas DQ8 codificadas por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302, representan el 5-10% sin DQ2. En la práctica clínica de la EC, el término DQ2 se usa para indicar la presencia de los alelos DQA1*05 y DQB1*02, a pesar de que, de hecho, DQ2 es un marcador serológico de la cadena beta DQ, determinado por DQB1*02 independientemente del alelo de la cadena alfa.

Debido a un marcado desequilibrio, que se traduce en heredar el grupo de genes del sistema HLA como haplotipos extendidos, la mayoría de los pacientes con EC expresan el haplotipo HLA-DR3-DQ2. Este haplotipo es especialmente interesante ya que se asocia a numerosas enfermedades autoinmunes como diabetes tipo I, hepatitis autoinmune, colangitis esclerosante, síndrome autoinmune poliendocrino o deficiencia de IgA. Por esta razón, el riesgo de EC es significativamente mayor en los pacientes con este tipo de enfermedades.

Un pequeño grupo de pacientes (5-10%) son negativos para el DQ2 y DQ8, ello implica que existen otros marcadores genéticos, aún no bien conocidos, que probablemente corresponden a otros subtipos localizados en el sistema HLA de clase I.

Esta fuerte susceptibilidad genética se confirma con la existencia de una concordancia de hasta el 75% en gemelos monocigóticos, hasta el 25% en los bivitelinos y del 6-12% en los familiares de primer grado de los afectados. Otros grupos que tienen un mayor riesgo de presentar una EC son los familiares de segundo grado, aunque con una menor frecuencia. Los pacientes con DM1, presentan una prevalencia de EC, comprendida entre el 4-8% y en los pacientes con síndrome de Down, la frecuencia está comprendida entre el 6-12%, y en otras cromosomopatías, como el síndrome de Turner y de Williams, es algo menor.

3.3. Papel del HLA en la patogénesis de la enfermedad

La predisposición genética relacionada con el sistema HLA explica en parte el mecanismo de esta enfermedad. La asociación entre el HLA-DQ y la EC se manifestó mediante estudios realizados con linfocitos T CD4 + aislados de biopsias intestinales de pacientes. La respuesta de las células T fue inhibida por un anticuerpo monoclonal dirigido contra los epítomos DQ2, que demostró que la presentación de los péptidos del gluten está mediada por moléculas DQ. Sin embargo, la búsqueda de una unión preferencial entre los péptidos de gluten y dímeros DQ2 inicialmente no dió resultado, ya que el punto de unión de las moléculas DQ2 contiene aminoácidos con carga positiva, mientras que los péptidos del gluten no tienen carga negativa.

Esta discrepancia se resolvió cuando se comprobó que la gliadina del gluten, rica en prolinas y glutaminas, es un sustrato excelente para la enzima transglutaminasa tisular (tTG), que

actúa mediante una desaminación de la glutamina de la gliadina y lo transforma en ácido glutámico, dando lugar a la carga negativa que es lo que permite el enlace con la molécula HLA-DQ2 y por lo tanto, la exposición de los neopéptidos para el reconocimiento de las células T. Las moléculas DQ8 también son capaces de ligarse a péptidos derivados del gluten, una vez modificados por la enzima tTG, aunque con una menor afinidad que los DQ2, lo que coincide con una asociación más débil entre HLA-DQ8 y la EC. El complejo HLA-DQ/Gliadina/tTG induce a una respuesta celular inmunocompetente con la producción de anticuerpos anti-gliadina y anti-tTG.

En conclusión, la asociación HLA-DQ2/DQ8 con la EC parece ser el resultado de la capacidad preferencial que tienen estas moléculas de clase II para unir y presentar a los péptidos del gluten, una vez modificados por la enzima tTG, a las células T CD4+. El reconocimiento del complejo antígeno/HLA-DQ por los linfocitos T es un paso esencial en la patogénesis de la EC, en que se desarrolla, por un lado una respuesta inmune celular con secreción de citoquinas y por otro lado, una respuesta humoral con actividad de las células B. La secreción de citoquinas, principalmente, IFN- γ y TNF- α induce a los fibroblastos intestinales a la liberación de inhibidores de la metaloproteínasa (MMP-1 y MMP-3) que conducen a la degradación de la matriz celular. Este proceso da lugar a una alteración de la estructura epitelial de la mucosa intestinal produciendo la atrofia vellosa y la hiperplasia de las criptas y a su vez, las células B maduras generan anticuerpos dirigidos frente a la enzima tTG y a los complejos péptido-tTG.

3.4. Estudio del HLA en la enfermedad celíaca

Los resultados de los estudios sobre el riesgo relativo de HLA-DQ de la EC han demostrado que al examinar los genotipos susceptibles a la intolerancia al gluten, el riesgo máximo es de los pacientes DQ2/DQ2 homocigotos y DQ2 heterocigotos que presentan un segundo alelo DQB1*02, existe un riesgo intermedio para los pacientes DQ2/noDQ2 (DQ2 heterocigotos) y bajo riesgo para los noDQ2/noDQ2.

La determinación de HLA por identificación de alelos específicos se realiza actualmente por técnicas de biología molecular, mediante *Single Specific Primer Polymerase Chain Reaction* (SSP-PCR), que permite una reducción en tiempo de manejo y costes. En el estudio de la EC, los métodos serológicos no son adecuados para la determinación del HLA, ya que no son capaces de evidenciar el polimorfismo de la cadena DQ alfa; por lo tanto, es necesaria la tipificación molecular. En la actualidad, existen equipos de detección de alta y baja resolución disponibles para la tipificación de los genes HLA, aunque para el estudio de la EC sólo es necesario identificar los antígenos DQ2 y DQ8, y hay nuevos equipos específicos en que solamente se detecta el tipo de los alelos asociados a la enfermedad con la ventaja de ser rápidos y de muy fácil manejo.

Los sujetos con los dos alelos DQA1*05 y DQB1*02, que codifican el heterodímero DQ2, y los DQB1*0302 positivo junto con DQA1*03 que codifica las moléculas DQ8, tienen mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. Como se ha visto recientemente, algunos celíacos tienen DQB1*02 y no DQA1*05, conduce a la formación de un dímero DQ con sólo una cadena beta (b2) para determinar la susceptibilidad. Además, se ha demostrado que el estado DQB1 homocigoto aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad (tabla3).

Por lo tanto, el riesgo genérico de EC depende de la presencia o ausencia de los alelos DQA1*05, DQB1*02 y DQB1*0302 y de sus combinaciones. Las diferentes combinaciones de estos tres alelos determina el grado de riesgo (tabla 3).

El riesgo se define como muy alto con la presencia de los tres alelos, DQA1*05, DQB1*02 y DQB1*0302 (1/7), que implican la expresión DQ2 y DQ8, y también en los casos con DQ2, DQA1*05 y DQB1*02 homocigoto (1/10), que suelen ser frecuentemente, individuos DR3/3 y DR3/7. El fenotipo DQ8 se asocia con un riesgo intermedio un poco más alto que el de la población total (1/86), mientras que el grupo b2 tiene un bajo riesgo (1/210). En la población de sujetos celíacos se encuentran rara vez las combinaciones como DQA1*05(+), DQB1*02(-) y DQB1*0302(-) o DQA1*05(-), DQB1*02(-) y DQB1*0302(-) (1/1842 y 1/2518). La relación de los HLA y el riesgo de EC se resumen en la tabla 3.

HLA CLASE II Y RIESGO DE ENFERMEDAD CELIACA								
	DQA1*05	DQB1*02	DQB1*0302	DQ	DR	%	Riesgo	
I	+	+	+	DQ2/DQ8	DR3/4	2,5	1/7	Muy alto
II	+	Homoz	-	DQ2	DR3/3,DR3/7	23,1	1/10	Muy alto
III	-	+	+	DQ8 y b2	DR4/7	3	1/24	Alto
IV	-	Homoz	-	b2	DR7/7	1,4	1/26	Alto
V	+	+	-	DQ2	DR3, DR7/11	55,1	1/35	Alto
VI	+/-	-	+	DQ8	DR4	7,3	1/86	Medio
VII	-	+	-	b2	DR7	4,6	1/210	Bajo
VIII	+	-	-	a5	DR11	2,1	1/1842	Muy bajo
IX	-	-	-	Negativo	X/X	0,9	1/2518	Muy bajo
Mazzilli MC et al. Autoimmun Highlights. 2009								

Tabla 3. HLA de clase II y riesgo de enfermedad celíaca

La importancia del estudio genético en pacientes con EC radica en que más del 90% de estos pacientes presenta un HLA-DQ2 (DQA1*05/DQB1*02), el 6% son HLA-DQ8 (DQA1*03/DQB1*0302), un 4% presenta un solo alelo DQB1*02 y un 2% el alelo DQA1*05.

3.5. HLA y familiares de pacientes celíacos

En los familiares de pacientes celíacos, la determinación del HLA ayuda a diferenciar aquellos pacientes que no necesitan más controles porque no presentan riesgo genético a padecer la enfermedad frente aquellos que tienen una alta probabilidad de desarrollarla y que tienen que realizarse las pruebas serológicas periódicamente o la biopsia intestinal. Aunque el porcentaje de HLA negativo es relativamente bajo debido a la consanguinidad, la posibilidad de evitar los costes innecesarios, tranquilizar al paciente y no tener que someterse a continuos controles justifica la determinación de HLA como una prueba de cribado en este grupo de riesgo.

Por tanto, la determinación de los HLA en grupos de riesgo permite: a) Identificar a familiares de primer grado susceptibles a realizar la biopsia intestinal, b) Identificar aquellos individuos con síntomas y marcadores serológicos negativos para realizar biopsia, c) Identificar individuos con EAI susceptibles de realizar la biopsia, d) Información complementaria para aquellos casos de difícil diagnóstico.

La determinación del HLA no tiene valor diagnóstico, ya que sólo mide el riesgo a desarrollar la enfermedad en relación a la población general. Por lo que, una determinación positiva solo indica una susceptibilidad a padecer la enfermedad, pero no implica necesariamente el desarrollo de la misma. Un resultado negativo tiene un mayor significado, en el sentido que la ausencia de una determinada combinación de alelos hace que el desarrollo de la enfermedad sea realmente improbable. Por lo tanto, el HLA en el estudio de la EC es una prueba genética con un alto valor predictivo negativo (VPN). Considerando que los genes HLA son marcadores estables a lo largo de toda la vida, su tipaje puede discriminar a los pacientes genéticamente susceptibles de las personas no susceptibles a la enfermedad, mucho antes de la aparición de cualquier otro signo clínico o serológico. Por lo tanto, esta prueba juega un papel importante en la selección de grupos de riesgo y el grado de riesgo debe ser tenido en cuenta en la planificación del seguimiento serológico de estos pacientes.

4. MARCADORES SEROLÓGICOS EN LA ENFERMEDAD CELÍACA

4.1. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad celíaca

Los estudios epidemiológicos han demostrado que sólo el 10-20% de los casos de EC se identifican en base a los hallazgos clínicos, por ello, las pruebas del laboratorio son fundamentales para el diagnóstico y a menudo, ayudan a identificar a pacientes con signos clínicos inespecíficos difíciles de interpretar. En los últimos años, el conocimiento de la fisiopatología y el uso de marcadores serológicos sensibles y específicos han mejorado notablemente las posibilidades de identificación de pacientes con la enfermedad. Las pruebas de laboratorio, junto con la tipificación genética y el análisis histológico nos permiten identificar casi todos los casos de EC. Por lo que, el uso correcto de estas herramientas diagnósticas, así como la correcta solicitud de las pruebas y la interpretación de los resultados es fundamental.

4.2. Estudio autoinmune: Autoanticuerpos

La introducción en estos últimos años de la determinación de los anticuerpos anti-tTG y los anticuerpos anti-peptidos deaminados de la gliadina (PDG) caracterizadas por una elevada sensibilidad y especificidad, ha puesto en tela de juicio la utilización de pruebas diagnósticas tales como los anticuerpos anti-gliadina (AGA) y anti-reticulina (ARA). Para la determinación de los AGA de tipo IgA e IgG, por ELISA, se utiliza un extracto purificado de gliadina nativa que no aporta buena sensibilidad ni especificidad a la prueba y ha hecho que carezcan de utilidad diagnóstica en la actualidad.

4.2.1. Anticuerpos anti-peptidos deaminados de la gliadina (anti-PDG)

Con la reciente identificación de sitios antigénicos inmunodominantes de la gliadina ha mejorado su uso, así los métodos de ELISA de reciente aparición que utilizan péptidos sintéticos deaminados de la gliadina como antígeno para la detección de los **anticuerpos anti-peptidos deaminados de la gliadina (anti-PDG)** han logrado aumentar considerablemente la sensibilidad y especificidad de la determinación hasta del 91% y 98%, respectivamente. Estas nuevas determinaciones de los anticuerpos anti-PDG pueden jugar un papel diagnóstico en pacientes pediátricos en los cuales todavía no se ha demostrado bien la presencia de anticuerpos anti-tTG o en caso de la clase IgG, en sujetos con deficiencia de IgA. (Tabla 4).

4.2.2. Anticuerpos anti-endomiso y anti-transglutaminasa

Los **anticuerpos anti-endomiso** (EMA) son de tipo IgA y IgG, van dirigidos contra fibras de reticulina del tejido conectivo que rodea al músculo liso del esófago de mono, y el antígeno es la enzima tTG, proteína del tejido conectivo localizada en las microfibrillas del tracto gastrointestinal. La naturaleza de la tTG da lugar a la posibilidad de identificar a los EMA por IFI en tejidos diversos como esófago, hígado, estómago, o vejiga de mono, en yeyuno y riñón de rata y en secciones de cordón umbilical de mono, aunque se recomienda su detección sobre el tercio inferior del esófago distal de mono, sobre el que presentan un patrón de tinción característico en nido de abeja identificable en la zona muscular de la mucosa, pero esta metodología, aunque se considera todavía el patrón oro, es manual, cara y muy subjetiva, con un alto coste ecológico y problemas éticos por la utilización de animales protegidos. También, se puede utilizar como sustrato el cordón umbilical ya que es un tejido rico en fibras de reticulina. La especificidad de los EMA es elevada, sobre el 100% con una sensibilidad entre el 93 y 96%.

La **enzima tTG** descrita como el principal antígeno de los anticuerpos EMA, pertenece a la familia de enzimas dependientes de calcio, está formada por 8 diferentes isoenzimas que se han descrito en función de su localización en distintos tejidos. Las formas más relevantes en el contexto autoinmune son la tTG2, localizada en el intestino y la tTG3 localizada en la piel, que actúa como antígeno diana en la dermatitis herpetiforme.

Los **anticuerpos anti-tTG**, de tipo IgA e IgG, son producidos por los linfocitos B presentes en la mucosa intestinal de pacientes con EC. Los anticuerpos anti-tTG de clase IgA, se encuentran en sangre y en la mucosa intestinal de pacientes con EC y se consideran marcadores específicos de

EC ya que no se localizan en otras enfermedades. Los de tipo IgG, no son específicos de EC, ya que se pueden encontrar, sobretodo a niveles bajos, en sujetos sanos y en otras enfermedades, se utilizan como marcadores en pacientes con déficit de IgA en los cuales el riesgo de padecer la EC es 10-20 veces superior al de la población general.

Aunque el antígeno diana de los anticuerpos anti-tTG y el de los EMA es la enzima tTG, la presencia de anticuerpos anti-tTG dirigidos frente a diferentes epítomos diana de moléculas de tTG podría explicar el diferente comportamiento de los anticuerpos anti-tTG determinados por ELISA y los EMA por IFI.

La determinación de anticuerpos anti-tTG de tipo IgA e IgG se realiza mediante técnicas de ELISA utilizando la enzima tTG como antígeno, aunque pueden usarse distintos tipos de tTG: la enzima obtenida de extracto de hígado de cobaya (pg-tTG) con 81% de homología con la tTG humana con menor especificad, la transglutaminasa nativa humana (h-tTG) y la recombinante humana (rh-tTG). El antígeno recombinante humano (rh-tTG) ha permitido mejorar considerablemente la sensibilidad y especificidad con valores muy superiores a la tTG de cobaya (pg-tTG), sobretodo en las formas leves de la enfermedad (Tabla 5).

Estas pruebas son cuantitativas, y aunque en la actualidad no hay estándares internacionales disponibles, los valores se informan en Ua/mL en base a una curva de calibración.

SENSIBILIDAD , ESPECIFICIDAD Y RENTABILIDAD DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES SÉRICOS					
%	AGA	EMA	tTG	PDG	PDG/tTG
SE	52	80	89	91	95
ES	46	100	98	98	96
RD	49	90	93	94	96

AGA: Ac anti-gliadina; EMA: Ac anti-endomisio; tTG: Ac anti-transglutaminasa tisular;
PDG: Ac anti-peptidos deaminados de la gliadina; PDG/tTG: Ac anti-péptidos deaminados de la gliadina y ac anti-transglutaminasa. Kaukinen K. et al. Scan J Gastroenterol. 2007.

Tabla 4. Marcadores serológicos de enfermedad celíaca

MARCADORES SEROLÓGICOS Y LESIÓN HISTOLÓGICA				
SE %	EMA	pg-tTG	rh-tTG	PDG-G
Marsh				
1	-	8	50-80	50
2	-	33	94	86
3a	31	56	86-100	86
3b	100	84	100	95
3c	100	96	100	90

Rodrigo Saez L. Inf Ter Sist Nac Salud. 2010; Vermeesch P et al. Clin Chim Acta. 2010

Tabla 5. Marcadores serológicos y su sensibilidad en función de la lesión histológica de la enfermedad celíaca (Escala de Marsh)

Diferentes estudios realizados en población adulta estiman una sensibilidad y especificidad de los anticuerpos anti-tTG del 98,1 % y 97% respectivamente mientras que los valores en población pediátrica están en 95,7% y 99% respectivamente. Con respecto a los sujetos con déficit de IgA la sensibilidad de estos anticuerpos anti-tTG de tipo IgG es del 90% y la especificidad del 100%.

Sin embargo, en la determinación de los anticuerpos anti-tTG se ha comprobado que la sensibilidad depende de la gravedad de la lesión duodenal, que va disminuyendo progresivamente desde las formas más graves, hasta las más leves, siendo próxima al 100%, cuando existe una atrofia vellositaria total, del 70% cuando existe atrofia subtotal y del 30%, cuando la arquitectura de la mucosa duodenal está preservada y únicamente se detecta un aumento de los linfocitos intraepiteliales (LIE). Es decir, su positividad depende directamente de la intensidad y gravedad de la lesión histológica duodenal y en pacientes que presentan únicamente enteritis linfocítica (EL), su sensibilidad es muy baja, estando comprendida entre el 15-30% (Tabla 5)

La alta sensibilidad de la determinación de los EMA en principio, y de los anticuerpos anti-tTG en la actualidad, ha hecho posible la identificación de pacientes con EC a menudo con una inespecífica presentación clínica o incluso asintomáticos. De hecho, muchos sujetos con EC no presentan alteraciones gastrointestinales, como distensión abdominal, diarrea, meteorismo, pero tiene signos secundarios de malabsorción como, ferropenia, anemia, osteopenia, defectos del esmalte dental o síntomas cuyo forma de aparición es un proceso vago, como hipertransaminasemia, cefalea o dolor articular.

La determinación de los anticuerpos anti-tTG de la clase IgA, se establece como el único marcador serológico a emplear en la práctica clínica, tanto para el despistaje de pacientes celíacos, como para el seguimiento de la adherencia a la DSG, pese a su frecuente negatividad en el adulto y en las formas leves de la enfermedad y las múltiples limitaciones que presenta su interpretación aislada.

El diagnóstico serológico de la EC basado únicamente en la positividad de los marcadores serológicos no se acepta en la actualidad, aunque se estima que valores de la concentración de anticuerpos anti-tTG muy elevados, superiores 100 U/ml, son capaces de predecir la presencia de atrofia vellositaria con suficiente fiabilidad, ya que los niveles elevados de anticuerpos anti-tTG de clase IgA se correlaciona con lesiones histológicas más severas, lo que haría innecesaria la realización de una endoscopia alta, al menos en niños, que precisa en estos casos, por lo general, de sedación profunda o anestesia general para su realización, con tomas de biopsia duodenales múltiples para confirmar el diagnóstico.

Aunque la serología es un buen método auxiliar para el diagnóstico de EC, por sí sola, carece de valor. Por tanto, ante una clínica sospechosa, es necesario realizar además, el estudio genético y la biopsia duodenal, para tratar de confirmar o descartar el diagnóstico. Sin embargo, su determinación podría ser de utilidad en el despistaje de la enfermedad en población general y también en los estudios de cribado, de tipo epidemiológico.

4.3. Deficiencia de IGA

Los individuos que presentan una inmunodeficiencia selectiva de tipo IgA, tienen un riesgo 10-20 veces superior a desarrollar la EC que la población general, por lo tanto, descartar esta deficiencia es fundamental en el correcto estudio de los pacientes que tienen que realizarse la prueba de anticuerpos anti-tTG y EMA y que van a dar un resultado negativo debido al déficit de la IgA, por lo que se deberá realizar la determinación de anticuerpos anti-tTG, EMA y los anti-PDG del tipo IgG y si alguno de estos anticuerpos es positivo se aconseja la realización de la biopsia intestinal.

Por ello, en el laboratorio se debe realizar la determinación de los niveles de IgA por nefelometría o turbidimetría en todos los pacientes para identificar a los sujetos con déficit de IgA entre los pacientes que se le vaya a realizar la determinación de los anticuerpos de tipo IgA.

Se define como déficit de IgA cuando la concentración de IgA en suero es inferior a 5 mg/dL. En sujetos con déficit de IgA y con síntomas muy sugestivos de EC, deberá recomendarse la realización de la biopsia intestinal independientemente de los marcadores serológicos, ya que en estos sujetos la presencia de formas silentes de EC es muy elevada.

5. GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA (GPC)

Según se establece en la GPC de la ESPGHAN de 2012, salvo en los estudios epidemiológicos o programas de cribado poblacional que tienen objetivos diferentes, es esencial que las pruebas del laboratorio para el estudio de la EC se soliciten en aquellos pacientes sintomáticos (grupo 1) y en sujetos asintomáticos que pertenezcan a alguno de los grupos de riesgo alto de EC (grupo 2), tales como, familiares en 1º grado, DM tipo 1, déficit de IgA, enfermedad hepática autoinmune, enfermedad tiroidea autoinmune y en los Síndrome de Down, de Turner, y de Williams.

Según dicha GPC, la determinación de anticuerpos contra gliadina nativa IgG o IgA no debe ser utilizado para la detección de EC y en su lugar, se utilizara la determinación de los anticuerpos frente a péptidos deaminados de la gliadina de tipo IgG e IgA. De forma que los marcadores serológicos recomendados para el estudio de la EC son los anticuerpos anti-tTG, anti-PDG y EMA.

La pauta a seguir variará en función de si las pruebas se solicitan en caso de sospecha clínica de EC o de si se trata de población de riesgo asintomática. Por ello, la solicitud de estas pruebas debe acompañarse de una descripción de los signos o síntomas, así como, de la posible presencia de factores de riesgo; también, sería útil indicar si las pruebas se solicitan con fines diagnósticos o para el seguimiento de un paciente con DSG.

5.1. Sospecha diagnóstica en pacientes sintomáticos

La determinación de los anticuerpos específicos de EC es la primera herramienta que se utiliza para confirmar o descartar la EC en pacientes sintomáticos. Se recomienda que la prueba inicial para el diagnóstico sean los anticuerpos anti-tTG de clase IgA paralelamente a la cuantificación de la IgA. La determinación de los anticuerpos anti-tTG-IgA por ELISA es muy sensible y específica, cuantitativa y automatizable. La determinación de anticuerpos anti-PDG se puede utilizar como prueba adicional en pacientes con una fuerte sospecha de EC, especialmente en menores de 2 años, y la determinación de los anticuerpos anti-tTG de tipo IgG se reservará solo para aquellos casos en que exista un déficit de IgA.

- **Si los anticuerpos anti-tTG-IgA son negativos** en un paciente sintomático con IgA dentro de los niveles de normalidad, entonces es improbable que la EC sea la causante de los síntomas y no está recomendado realizar pruebas adicionales a menos que existan circunstancias especiales, como por ejemplo: niños menores de 2 años, síntomas muy severos, predisposición genética familiar, otra enfermedad predisponente o medicación inmunosupresora. En ausencia de anticuerpos específicos de EC y HLA-DQ2/DQ8 negativos, deberá considerarse la posibilidad de otras causas de enteropatía, como por ejemplo, alergia alimentaria o enteropatía autoinmune.

En los casos de pacientes con anticuerpos anti-tTG, EMA, y anti-PDG negativos con síntomas muy severos y fuerte sospecha clínica de EC, se recomienda realizar el estudio de los HLA y si presenta HLA-DQ2/DQ8 positivo se realizará la biopsia intestinal para establecer el diagnóstico definitivo. Si la histología muestra lesiones compatibles con EC y el HLA-DQ2/DQ8 son negativos, entonces no es probable que se trate de una EC y debe considerarse la posibilidad de una enteropatía causada por un proceso diferente de la EC y en estos pacientes, el diagnóstico de EC se podrá establecer sólo después de realizar biopsias repetidas. En el caso de lesiones leves (Marsh 1), antes de establecer el diagnóstico de la EC se deben buscar evidencias de apoyo al diagnóstico, como estudios de HLA, biopsia, determinar depósitos de anti-tTG intestinal o elevación de LIE $\gamma\delta$.

En resumen, siempre que existan síntomas sugestivos de EC a pesar de tener los marcadores serológicos negativos, deberá realizarse el tipaje del HLA-DQ2/DQ8 y si éste es positivo, la biopsia intestinal.

- **Si los anticuerpos anti-tTG-IgA son positivos**, se recomienda realizar la determinación de EMA por IFI y si son positivos, el diagnóstico de EC es prácticamente seguro y se debe recomendar la realización de la biopsia duodenal confirmatoria y el estudio del HLA.

Si los anticuerpos anti-tTG son positivos a baja concentración y los EMA son negativos, el diagnóstico de la EC es menos probable. Se debe realizar la biopsia intestinal para aclarar si se trata de una EC. La presencia de EMA negativos en un paciente con anticuerpos anti-tTG IgA positivos puede

sucedan en algunos casos en que estas falsas positividades son transitorias y desaparecen pasado un cierto tiempo.

En el caso de encontrar un paciente que presente anticuerpos anti-tTG-IgA positivos y el resultado de la biopsia intestinal sea normal o incluso, se encuentre una lesión mínima Marsh 1, la determinación del tipaje de los HLA clase II es fundamental. Si el resultado es positivo para HLA-DQ2 y/o DQ8, estaríamos con toda probabilidad ante una EC latente en que la atrofia de vellosidades podría aparecer posteriormente.

Ante un resultado positivo de anti-tTG, EMA o anti-PDG, la EC debe ser confirmada por histología, a menos que se presenten ciertas condiciones que permitan, la opción de omitir la confirmación mediante la biopsia. Según la guía ESPGHAN de 2012, el diagnóstico se podrá establecer sin realizar la biopsia en aquellos casos de niños y adolescentes con signos o síntomas que sugieran de EC y que presenten niveles de anticuerpos anti-tTG superiores a 10 veces el rango de normalidad, la probabilidad de atrofia de las vellosidades (Marsh 3) es alta. Por ello, en esta situación, cabe la opción de realizar pruebas de laboratorio adicionales (EMA, HLA) para establecer el diagnóstico de la EC sin biopsia. En estos pacientes sin biopsia intestinal, es aconsejable comprobar el tipo de HLA para reforzar el diagnóstico de la EC. Si tras la DSG hay una disminución de los niveles de anticuerpos y una buena respuesta clínica se confirma el diagnóstico.

5.2. Diagnóstico en sujetos pertenecientes a grupos de riesgo

Lo importante en los pacientes que pertenecen a alguno de los grupos de riesgo es que su condición aumenta significativamente su posibilidad de padecer la EC, por ello en estos pacientes es fundamental la determinación de los antígenos HLA y se aconseja la determinación de los anticuerpos anti-tTG-IgA y de la IgA en suero, aún en ausencia de síntomas clínicos asociados a la EC.

En aquellos **sujetos asintomáticos con factores de riesgo de EC**, si se dispone de la posibilidad de determinar los HLA, se recomienda realizar esta prueba como cribado ya que en ausencia de un HLA-DQ2/DQ8 es altamente improbable que se trate de una EC y no se necesitará realizar el seguimiento con pruebas serológicas. Si el paciente es DQ2/DQ8 positivo, homocigoto sólo para las cadenas beta del complejo HLA-DQ2 (DQB1*0202), o las pruebas de HLA no se pueden realizar, se deberá realizar la determinación de anticuerpos anti-tTG-IgA y de la IgA, pero preferiblemente no antes de que el niño cumpla los 2 años de edad. Si los anticuerpos son negativos, entonces se recomienda repetir la determinación de los anticuerpos específicos de EC.

Los individuos con un mayor riesgo genético de EC pueden tener niveles séricos fluctuantes o transitorios de anticuerpos anti-tTG y anti-PDG. Por lo tanto, en este grupo de individuos, sin signos y síntomas clínicos, la biopsia duodenal deberá formar parte del procedimiento diagnóstico de la EC.

Para evitar biopsias innecesarias en aquellas personas con niveles de anticuerpos bajos, inferior a 3 veces el rango de normalidad, se recomienda realizar la prueba de los EMA y si estos son positivos, realizar la biopsia duodenal. Si la prueba EMA es negativa, se recomienda repetir las pruebas serológicas, manteniendo el gluten en la dieta, en un intervalo de 3-6 meses.

Por tanto, la realización del tipaje de los haplotipos HLA-DQ2/DQ8 en el abordaje diagnóstico de pacientes con sospecha de EC, ayuda a identificar a aquellos individuos de grupos de riesgo susceptibles de presentar la enfermedad, y por tanto, candidatos a realizar biopsia duodenal.

5.3. Monitorización de pacientes con DSG

El seguimiento de los pacientes debe realizarse hasta la mejoría de los síntomas y la normalización de los niveles de los anticuerpos. En general, la normalización de los niveles de autoanticuerpos se alcanza dentro de los 12 meses después del inicio de la DSG. Si no hay respuesta clínica a la DSG en pacientes sintomáticos, después de una cuidadosa evaluación dietética vigilando la correcta adhesión a la dieta, será necesario realizar biopsias adicionales.

En los pacientes con DSG para la confirmación del correcto cumplimiento de la dieta es más efectiva la determinación de los anticuerpos anti-tTG-IgA que los de EMA. Sin embargo, debemos

tener en cuenta que el hallazgo de marcadores séricos negativos no indica una adherencia completa a la dieta y no se correlaciona con la completa recuperación de la mucosa intestinal.

Los resultados positivos persistentes de los anticuerpos anti-tTG IgA en pacientes con DSG pueden tener dos interpretaciones diferentes:

- un incumplimiento de la dieta por parte del paciente, con conocimiento de ello o no, lo que requerirá en cualquier caso, una revisión de la dieta.
- la sospecha diagnóstica de un posible sprue refractario asociado a la EC, que es la manifestación clínicamente relevante asociada a un posible linfoma o prelinfoma.

Si se da el caso de encontrar los marcadores séricos negativos tras la DSG, pero los síntomas clínicos gastrointestinales persisten, se debería sospechar que pueda existir otra patología concomitante como insuficiencia pancreática, síndrome de intestino irritable, infección bacteriana, otro tipo de intolerancia alimentaria, o tumor.

La determinación de anticuerpos anti-tTG IgA para la monitorización de los pacientes con DSG se realizará a los 6-9 meses después del inicio de la dieta.

5.4. Recomendaciones para el manejo de los HLA

Las recomendaciones que se plantean en la guía ESPGHAN-2012 para el manejo del estudio de los HLA, entre otras, son:

- Los resultados negativos de los HLA-DQ2/DQ8 en pacientes con sospecha clínica, hacen muy poco probable el diagnóstico de la EC. Por lo que en estos pacientes, hay que plantearse otras causas de los síntomas, distintas a la EC.
- En los grupos de riesgo descritos, se recomienda iniciar el estudio con el tipaje del HLA-DQ2/DQ8, si se tiene disponibilidad de dichas determinaciones.
- En niños con sospecha clínica de la EC y con niveles altos de anticuerpos específicos, se puede diagnosticar la enfermedad sin realizar la biopsia, realizando el estudio de HLA-DQ2/DQ8 para confirmar el diagnóstico.

5.5. Recomendaciones para el manejo de los anticuerpos

Las recomendaciones que se plantean en la guía ESPGHAN-2012 para el manejo de los anticuerpos, entre otras, son:

- La detección de anticuerpos específicos de EC debería ser la primera herramienta utilizada para identificar pacientes con síntomas sugestivos de EC para diagnosticar o descartar a la EC. La determinación de los anticuerpos específicos debe realizarse cuando los pacientes se encuentran con dieta que contiene gluten.
- Como prueba inicial en pacientes sintomáticos se realizará la determinación de anti-tTG de clase IgA o EMA y los niveles de IgA. En sujetos con deficiencia de IgA, se recomienda la medición de los anticuerpos anti-tTG, PDG y/o EMA de clase IgG.
- Las pruebas para la detección de anticuerpos contra gliadina nativa de clase IgG o IgA no debe ser utilizado para la detección de EC.
- La medición de anticuerpos anti-PDG clase IgG y/o IgA se puede utilizar como pruebas adicionales en los niños que son negativos para otros anticuerpos específicos en que los síntomas clínicos plantean una fuerte sospecha de EC, especialmente si son menores de 2 años de edad.
- La determinación de anticuerpos anti-tTG para confirmar la disminución de los niveles de anticuerpo después de iniciar la DSG debe realizarse con el mismo método que antes del tratamiento.
- Si los anticuerpos anti-tTG-IgA son negativos, en un sujeto sintomático IgA competente, es poco probable que la EC esté causando el síntoma.

6. CONCLUSIONES

- Los anticuerpos anti-transglutaminasa, con tTG recombinante humana como antígeno, es el estudio inicial recomendado.
- Existe acuerdo generalizado en utilizar solo los anticuerpos anti-tTG de clase IgA para el cribado de EC y es obligada la detección de la IgA sérica.
- Los anticuerpos anti-gliadina están en desuso por su baja sensibilidad y especificidad, disponiendo en la actualidad de la posibilidad de determinar los anticuerpos anti-PDG que aportan una mejor sensibilidad y especificidad.
- No deberán utilizarse los marcadores serológicos como único criterio diagnóstico
- Ante marcadores negativos y evidente sospecha clínica, no se excluye la enfermedad, por lo que se debe recomendar la realización del tipaje HLA y la biopsia y ante marcadores positivos confirmados sin evidencia clínica, también habrá que reconsiderar la realización del tipaje HLA y la biopsia.
- Las determinaciones genéticas, serológicas e histológicas no siempre son concluyentes, por lo que hay casos en que la DSG ayuda a establecer el diagnóstico.
- Los estudios prospectivos aclararán si la tipificación HLA es una herramienta eficiente y eficaz de diagnóstico en estos pacientes.
- El diagnóstico de la EC se basa en la valoración conjunta de los síntomas clínicos, los datos genéticos, las determinaciones serológicas, los hallazgos de la biopsia duodenal, así como, la respuesta a la DSG.
- Para establecer el diagnóstico de EC se utilizarán los criterios según el sistema de puntuación establecido, aunque el rendimiento de estas nuevas directrices en la práctica clínica deberá ser evaluado de forma prospectiva.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al. 1997. Identification of tissue transglutaminase as the auto-antigen of celiac disease. *Nat Med* 3: 797-801
2. Esteve M, Rosinach M, Fernández-Bañares F et al. 2006. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis. *Gut*; 55:1739-45
3. Hill ID. 2005. What are the sensitivity and specificity of serological tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterol* 128: S25-S32
4. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS et al. 2005. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 40:1-19
5. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. 2012. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Guidelines for the Diagnostic of Coeliac Disease. *JPGN*; 54 (1): 136-160
6. Kaukinen K, et al. 2007. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scan J Gastroenterol*;42(12):1428-1433
7. Marsh MN. 1992. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*;102:330-54
8. Mazzilli MC, Megiorni F, Mora B, Drago S. 2009. Genetics of celiac disease. *Autoimmun Highlights*; 0:5-10
9. Megiorni F, Mora B, Bonamico M et al. 2008. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol* 70: 55-59
10. Megiorni F, Mora B, Bonamico M et al. 2008. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent of origin effects. *Am J Gastroenterol* 103: 997-1003
11. Meensel BV, Hiele M, Hoffman I et al. 2004. Diagnostic Accuracy of Ten Second-Generation (Human) Tissue Transglutaminase Antibody Assays in Celiac Disease. *Clin Chem* 50: 2111-2116
12. Ministerio Sanidad y Consumo. 2008. Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca. Disponible en Internet. Acceso: Septiembre 2011
13. Rodrigo Saez L. 2010. Enfermedad Celíaca. *Inf Ter Sist Nac Salud* ; 34: 49-59
14. Rostom A, Catherine D, Cranney A et al. 2005. The diagnostic accuracy of serological tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterol* 128: S38-46
15. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. 2006. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*; 131:1981-2002
16. Tonutti E, Bizzaro N, Villalta D, Tozzoli R, Tampoia M. 2009. *Autoimmun Highlights*; 0:15-21
17. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM. 2003. Prevalence of anti-tissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. *J Clin Gastroenterol*; 36: 219-221.
18. Walker-Smith JA GS, Schmerling DM, Visakorpi JK. 1990. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65:909- 11
19. Vermeersch P et al. 2010. Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease. *Clin Chim Acta*.;411:931–935

8. ENLACES WEB DE INTERÉS

1. European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: www.espgan.med.up.pt
2. Acceso directo a la guía ESPGHAN 2012: http://espgan.med.up.pt/position_papers/Guidelines_on_coeliac_disease.pdf
3. Celiac Awareness Campaign from National Institutes of Health: www.celiac.nih.gov
4. World Gastroenterology Organisation (WGO): www.worldgastroenterology.org
5. Celiac Disease Foundation: www.celiac.org
6. Center for Celiac Research. University of Maryland: www.celiaccenter.org
7. Sociedad Española de Enfermedad Celíaca: www.seec.es
8. Federación de Asociaciones de Celíacos de España: www.celiacos.org
9. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2008: <http://www.msc.es/profesionales/prestacionesSanitarias/publicaciones/Celiaquia/enfermedadCeliaca.pdf>.

9. ABREVIATURAS

Anti-tTG: Anticuerpo antitransglutaminasa tisular humana.
AGA: Anticuerpos antigliadina
ARA: Anticuerpo antireticulina
DM1: Diabetes Mellitus tipo 1
DSG: Dieta sin Gluten
EAI: Enfermedades autoinmunes
EC: Enfermedad celíaca.
EMA: Anticuerpos antiendomiso
GPC: Guía de Practica Clínica
HLA-DQ2: Marcador genético (heterodímero DQ2)
HLA-DQ8: Marcador genético (heterodímero DQ8)
IFNg: Interferon gamma
IgA: Inmunoglobulina A
IgG: Inmunoglobulina G
LIE: Linfocitos intraepiteliales
MMP: Metaloproteinasa
PDG: Péptidos Deaminados de la Gliadina
SSP-PCR: Single Specific Primer Polymerase Chain Reaction
tTG: Enzima transglutaminasa tisular
rh-tTG: Antígeno tTG recombinante humano
pg-tTG: Antígeno tTG de cobaya
h-tTG: Antígeno tTG humana
TNF: Factor de necrosis tumoral
VPN: Valor predictivo negativo

10. EVALUACIÓN

CASO CLÍNICO 1

Paciente varón de 12 años de edad con Diabetes Mellitus tipo I en seguimiento en la consulta de Endocrinología desde hace dos años, con mal control glucémico. Sin antecedentes familiares de interés, presenta sintomatología alérgica con rinitis y algún episodio asmático. Presenta pérdida de peso, buen estado general y nutricional, sin sintomatología digestiva y la exploración física general está dentro de la normalidad, abdomen blando y depresible.

Se solicita analítica con hemograma, estudio bioquímico para el control de glucemia y estudio de despistaje de enfermedad celíaca:

Hemograma con parámetros hematológicos y VSG dentro de la normalidad. Bioquímica: Glucemia 137 (VR: 70-110), HBA1c de 6.5 (VR: 4-6), presenta ligera hipertransaminasemia, AST 42 (VR: 5-38) y ALT 48 (VR: 5-40), hierro y ferritina dentro del rango de normalidad.

Autoinmunidad: Los anticuerpos anti-transglutaminasa frente a antígeno recombinante humano fueron positivos con 42 Ua/mL (VR: 0-20) y se realiza al determinación de los anticuerpos anti-endomisio con resultado positivo a título superior a 1/80.

A la vista de los resultados analíticos se realiza el estudio histológico y genético de EC con los resultados siguientes:

Biopsia de intestino: presenta una mucosa intestinal con un discreto acortamiento de las vellosidades y leve hiperplasia de criptas (Tipo 1 de la clasificación de Marsh) con el estudio de linfocitos intraepiteliales (LIE) dentro de la normalidad.

*Estudio genético: se encuentra un HLA susceptible a EC con positividad de los HLA-DQ2: DQA1*05-DQB1*02 y HLA-DQ8: DQA1*03 DQB1*0302.*

En base a los resultados del estudio genético, marcadores serológicos y por el grupo de riesgo al que pertenece el paciente se establece el diagnóstico clínico y se pauta la correspondiente DSG.

Diagnóstico clínico: A pesar de no detectarse una lesión histológica avanzada en la mucosa intestinal, el paciente pertenece a un grupo de riesgo, presenta reacción inmunológica anormal frente a las proteínas del gluten con presencia de autoanticuerpos positivos y un perfil genético susceptible a la enfermedad aunque no hay síntomas clínicos digestivos claros y evidentes, ni tampoco un perfil histológico altamente patológico por lo que se diagnostica como enfermedad celíaca latente y se establece la dieta sin gluten.

- 1 - ¿Cuál de las siguientes patologías no está asociada a la EC?
 - a) Déficit selectivo de IgA
 - b) S de Sjogren
 - c) Diabetes Mellitus tipo 1
 - d) Todas pueden estar asociadas a la EC

- 2 - De los siguientes marcadores séricos de EC, ¿cual de ellos presenta la mejor rentabilidad diagnóstica y se recomienda en la actualidad para el estudio de la enfermedad?:
 - a) Anti-reticulina IgA y Anti-gliadina IgA
 - b) Anti-transglutaminasa IgG y Anti-gliadina IgA
 - c) Anti-transglutaminasa IgA y Anti-gliadina IgG
 - d) Anti-transglutaminasa IgA y Anti-péptidos deaminados de la gliadina IgA

- 3 - ¿Por que razón está justificada la solicitud del estudio autoinmune de enfermedad celíaca en este paciente concreto?
 - a) Por presentar únicamente pérdida de peso
 - b) Por pertenecer a un grupo de riesgo (DM-1)
 - c) Por presentar rinitis
 - d) Por todas las anteriores

4 - ¿Cual sería inicialmente el riesgo de este paciente en función de su HLA?:

- a) Bajo
- b) Medio
- c) Alto
- d) Muy alto

5 - La conversión de la glutamina en ácido glutámico dando lugar a la carga negativa necesaria para la unión al HLA-DQ2 en los pacientes genéticamente predispuestos se realiza por:

- a) Por la acción enzimática de la tTG
- b) Por la acción de los anticuerpos anti-tTG
- c) Por la acción de los anticuerpos anti-gliadina
- d) Por la acción de la gliadina

CASO CLÍNICO 2

Paciente varón de 23 años que presenta episodios de enteritis y colitis, con dolor abdominal e hipertransaminasemia y anemia ferropénica. Consumidor de cocaína y anfetaminas, se remite al Servicio de Gastroenterología para estudio.

*Se realiza una analítica que contempla la determinación de los marcadores serológicos de EC, además del perfil bioquímico y hematológico. Se confirma la hipertransaminasemia con AST 58 (VR: 5-38) y ALT 62 (VR: 5-40) y la anemia ferropénica con hierro y ferritina a niveles por debajo del rango de normalidad, con un Fe de 30 ug/dL (VR: 37-145) y Ferritina de 5.6 ng/mL (VR: 10-160). Los ac anti-tTG dan un resultado negativo de 6.8 Ua/mL, y ac anti-endomiso IgA negativos y se confirma que no hay déficit de IgA mediante la determinación de la concentración de IgA, 168 mg/dL (VR: 70-400). Se repiten los marcadores a los dos años tras un episodio de dolor abdominal, siendo los ac anti-tTG de 5.6 Ua/mL (VR: 0-20), ac anti-gliadina IgA y ac anti-endomiso IgA negativos. Debido a los síntomas digestivos y a la persistencia de los marcadores séricos negativos, se realiza el estudio genético de la enfermedad celíaca, encontrando el siguiente perfil HLA: DRB1*04, DQB1*0302, DQA1*0301, DQA1*0303. Informe: Heterodímero DQ8 presente.*

Se realiza, a su vez, la determinación de los marcadores séricos, de nuevo. Los anti-tTG y anti-endomiso IgA que mantienen un resultado negativo y se incluye, en esta ocasión, la determinación los ac anti-péptidos deaminados de la gliadina IgA, con un resultado de 12,2 Ua/mL (VR: 0-10). Por lo cual, se procede a realizar la biopsia intestinal encontrándose un perfil de atrofia de vellosidades muy leve con hiperplasia de criptas (Marsh 2). Se instaura dieta sin gluten, mejorando considerablemente la sintomatología digestiva del paciente.

- 6 - Ante la persistencia de los marcadores séricos negativos en este paciente con una inespecífica y discreta sintomatología digestiva para un correcto diagnóstico que sería adecuado realizar:
- La determinación de ac anti-tTG IgA y anti-endomiso IgA seriadas cada 3 meses
 - Inicialmente, la biopsia intestinal
 - Únicamente, el estudio genético
 - Se realizará el estudio genético, y si es DQ2/DQ8 (+), se realiza la biopsia intestinal
- 7 - Cual de los siguientes alelos está asociado en este paciente al riesgo a desarrollar la EC:
- DQB1*0603
 - DQA1*0103
 - DQB1*0302
 - DQA1*0503
- 8 - Cual sería inicialmente el riesgo de este paciente de desarrollar una EC en función de su perfil de HLA:
- Bajo
 - Medio
 - No tiene riesgo
 - Ninguna de las anteriores
- 9 - En relación a la utilidad de los marcadores genéticos en la EC, la determinación de los alelos HLA DQ2/DQ8 es útil por su:
- Alto valor predictivo del positivo
 - Bajo valor predictivo del negativo
 - Alto valor predictivo del negativo
 - Bajo valor predictivo del positivo
- 10 - Que marcador serológico sería recomendable utilizar para obtener una mejor rentabilidad diagnóstica en el estudio de los estadios precoces de la EC?:
- Ac anti-tTG recombinante humana (rh-tTG)
 - Ac anti-tTG de hígado de cobaya (pg-tTG)
 - Ac anti- gliadina (AGA)
 - Ac anti-péptidos deaminados de la gliadina (PDG)

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACÉUTICOS ANALISTAS

c/ Modesto Lafuente, 3 - entreplanta C y D

28010 Madrid

Tel.: 91 593 84 90 - Fax: 91 593 01 34

Correo electrónico:

Secretaría: aefa@aefa.es

Tutoría y envío de resultados: fcd@aefa.es

Web: www.aefa.es

COMISIÓN DE FORMACIÓN CONTINUADA

Coordinación y tutoría:

Antonio Casas Moreno, Juan Carlos Vella Ramírez

ISBN: 978-84-615-6860-4

Depósito Legal: M-5521-2012

Imprime: AYREGRAF

Colabora: **REFERENCE LABORATORY**