
Avances en la patogenia y en el diagnóstico inmunológico de la enfermedad celíaca. Protocolos diagnósticos en Atención Primaria

ML. Vargas Pérez^a, JJ. Morell Bernabé^b, C. González Roiz^a, J. Melero Ruiz^a

^aInmunóloga. Doctora en Medicina. Sección de Inmunología.

Hospital Infanta Cristina. Badajoz.

^bPediatra. Centro de Salud de Barcarrota. Badajoz.

Rev Pediatr Aten Primaria 2004; 6: 443-462

M.^a Luisa Vargas Pérez, vargasinmuno@hotmail.com

Resumen

La Enfermedad Celíaca (EC) es la enfermedad gastrointestinal crónica más frecuente en niños. Se define como una intolerancia permanente al gluten, que da lugar a una lesión característica de la mucosa del intestino delgado proximal en individuos genéticamente predispuestos, y con unos factores ambientales propicios. Su prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los últimos años debido fundamentalmente a la utilización de nuevos métodos diagnósticos, más específicos y sensibles, que además han propiciado la descripción de formas clínicas atípicas o paucisintomáticas que pasaban desapercibidas. Los nuevos métodos diagnósticos incluyen marcadores serológicos (anticuerpos antigliadina, antiendomisio y antitransglutaminasa tisular) y un marcador genético de la enfermedad, el antígeno HLA-DQ2 (codificado por los genes HLA-DQA1*05 y HLA-DQB1*02). Ambos tipos de marcadores permiten seleccionar a aquellos pacientes con una alta probabilidad de padecer EC, y que deberá ser confirmada mediante biopsia intestinal (por examen histológico y fenotipaje de los linfocitos intraepiteliales). La sospecha de EC puede y debe hacerse desde Atención Primaria. Se pueden establecer algoritmos de decisión con protocolos diagnósticos en varios casos: ante la sospecha clínica, para estudio de familiares de celíacos o grupos de riesgo y también para control del tratamiento. Estos protocolos permitirían al pediatra de Atención Primaria disponer de la información analítica necesaria para tomar la decisión más conveniente en cada caso en cuanto a la realización o no de la biopsia intestinal confirmatoria, y de esta forma agilizar el diagnóstico de EC de forma significativa.

Palabras clave: Enfermedad Celíaca, Autoanticuerpos, HLA-DQ2.

Abstract

*Celiac disease is the more frequent chronic gastrointestinal disease in children. It is the result of gluten intolerance that produces a characteristic villous atrophy of the small intestinal mucosa, in genetically susceptible individuals and with an appropriate environment. Its prevalence has been increasing during the last years probably due to new highly sensitive and specific diagnostic tests has also have modified our current approach to diagnosis of the spectrum of celiac disease. The new diagnostic tools include serological markers (antigliadin, antiendomysial and tissue transglutaminase antibodies) and genetics markers (HLA-DQA1*05 y HLA-DQB1*02). The result of serological tests and the HLA-DQ typing permit to select some patients with high probability to suffer celiac disease that should be confirmed with intestinal biopsy.*

The suspicion of celiac disease can and must come from Primary Care. It is necessary to establish algorithms of decision and diagnostic protocols for: suspicion of celiac disease, study of relatives and associated diseases. With the analytical results and according to protocols, the Paediatrician in Primary Care could take the appropriate decision in each patients, and in this form he could facilitate the diagnosis.

Key words: Celiac disease, Autoantibodies, HLA-DQ2.

Introducción

La Enfermedad Celíaca (EC) es la enfermedad crónica gastrointestinal más frecuente en niños. Su prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los últimos años y se estima actualmente en 1/100-1/200 de la población general¹⁻³. Este aumento se explica, fundamentalmente, por la utilización de nuevos métodos diagnósticos, más específicos y sensibles, que además han propiciado la descripción de formas clínicas atípicas o paucisintomáticas que pasaban desapercibidas⁴.

La EC se presenta principalmente en sujetos de raza blanca de Europa, América y Australia. En otras regiones como India, Pakistán, Oriente Medio y Cuba la prevalencia es menor, y es rara en China y en personas de raza negra.

Los criterios diagnósticos han cambiado en los últimos 30 años. Así, la ESPGAN (Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica) propone a principios de los 70 la necesidad de tres biopsias intestinales para confirmar el diagnóstico⁵. Sin embargo, el avance en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de la enfermedad y el desarrollo de técnicas analíticas no invasivas, cada vez más fiables, permiten la introducción de marcadores serológicos sensibles y específicos: anticuerpos antigliadina (AGA), antiendomysio (EMA) y antitransglutaminasa (ATGt), que han llevado a un nuevo planteamiento diagnóstico más simplificado. La propia ESPGAN propone en 1990 que puede ser suficiente una única biopsia intestinal como criterio de confirmación si se acompaña además de mar-

cadore serológicos positivos, reservando la realización de las otras dos biopsias para los casos dudosos⁶.

El curso de la EC en el niño es habitualmente benigno y el tratamiento, la supresión del gluten de la dieta, seguro y eficaz, aunque en determinadas circunstancias (edad, entorno social) es difícil de cumplir. El diagnóstico precoz así como el adecuado cumplimiento de la dieta son fundamentales para evitar el desarrollo de complicaciones graves: enfermedades autoinmunes, infertilidad o linfoma intestinal⁷. Por tanto, es necesario que el médico de Atención Primaria, primer eslabón asistencial, conozca la enfermedad en su amplio abanico clínico y tenga la posibilidad de solicitar las pruebas de laboratorio necesarias para orientar el diagnóstico.

Patogenia de la enfermedad celíaca

La EC se define como una intolerancia permanente al gluten, que da lugar a una lesión característica de la mucosa del intestino delgado proximal en individuos genéticamente predispuestos y con unos factores ambientales propicios⁸.

La ampliación del conocimiento, tanto de los factores predisponentes como de los mecanismos patogénicos de la enfermedad, favorece el desarrollo de alternativas al tratamiento.

1. Factores genéticos

Hasta ahora se ha identificado un único factor genético asociado al desarrollo de la EC. Se trata de un Antígeno de Histocompatibilidad (HLA) de clase II, concretamente el HLA-DQ2, formado por dos cadenas polipeptídicas a y b, codificadas por los genes DQA1*05 y DQB1*02⁹. Más del 90% de los enfermos celíacos expresan este heterodímero. La función de los antígenos HLA es presentar péptidos antigénicos; en este caso el HLA-DQ2 presenta péptidos de gliadina transformados por la transglutaminasa a los linfocitos T CD4 (+) de la lámina propia, iniciando la respuesta inmune perjudicial¹⁰. El HLA-DQ8 (DQA1*0301/DQB1*0302) también se ha relacionado con el desarrollo de EC en determinadas zonas geográficas^{11,12}.

Sin embargo, la asociación HLA sola no es suficiente para explicar la aparición de la enfermedad. De hecho, hay un elevado porcentaje de la población (30-40%) HLA-DQ2 positivos y que no padecen EC. Por tanto, deben existir marcadores genéticos adicionales que pueden predisponer a su desarrollo, y se están llevando a cabo numerosos estudios para identificar la naturaleza de tales genes. La región cromosómica que más consistentemente se ha unido a la EC es la 5q31-33^{13,14} localizada en el brazo largo del cromosoma⁵.

2. Factores ambientales

El ambiente juega claramente un papel crucial en el desarrollo de la EC: si no hay gluten, no hay enfermedad. El gluten es la fracción proteica del trigo, centeno y cebada, y puede ser fraccionado en prolaminas solubles en etanol y gluteninas insolubles en etanol. Las prolaminas del trigo, o gliadinas, así como las prolaminas del centeno y la cebada (secalinas y hordeínas respectivamente) tienen un alto contenido de glutamina y prolina, aminoácidos que parecen ser los principales responsables de la toxicidad del gluten en esta enfermedad. Las prolaminas del arroz y el maíz tienen un bajo contenido en estos dos aminoácidos, por lo que no son tóxicas¹⁵⁻¹⁷. En esta línea, la toxicidad de las prolaminas de la avena (avenina), que tienen una composición intermedia de aminoácidos prolina y glutamina, es discutida, y es posible que sólo una excesiva ingestión de este cereal pueda ser perjudicial¹⁸.

Las gliadinas del trigo se subdividen en gliadinas α , β , γ y ω , y aunque en estudios previos se achacó la toxicidad del trigo a la fracción α ¹⁹, trabajos más recientes implican al resto de las fracciones de la gliadina³ e incluso a la glutenina en la exacerbación de la EC^{15,20}.

No sólo la cantidad de gluten consumida, también el momento de la primera

exposición al gluten juega un importante papel en la manifestación de la enfermedad. Diversos estudios sugieren que una exposición temprana del sistema inmune inmaduro a la gliadina es un cofactor importante para la manifestación de una EC, probablemente por desviación del sistema inmune hacia una respuesta de linfocitos T de tipo Th1⁸.

Por otro lado, cualquier agresión de la mucosa intestinal por infecciones o agentes químicos puede alterar la permeabilidad de la mucosa, aumentando el paso de gliadina a la lámina propia y favoreciendo el desarrollo de una respuesta inmune. También influyen negativamente los tratamientos con interferón (IFN) o las infecciones virales que inducen un incremento del mismo²¹, ya que el IFN lleva a un estado inflamatorio que favorecería la respuesta inmune al gluten. Nieuwenhuizen²² postula que la *Cándida albicans* favorecería el comienzo de la EC, ya que presenta secuencias de aminoácidos en su pared muy semejantes a las fracciones tóxicas de la gliadina, que darían reacciones cruzadas y respuestas antigliadina en el intestino.

3. Mecanismo patogénico

La EC es una alteración inflamatoria crónica del intestino mediado por linfo-

citos T y con un componente autoinmune²³, debido posiblemente a una pérdida de tolerancia al gluten.

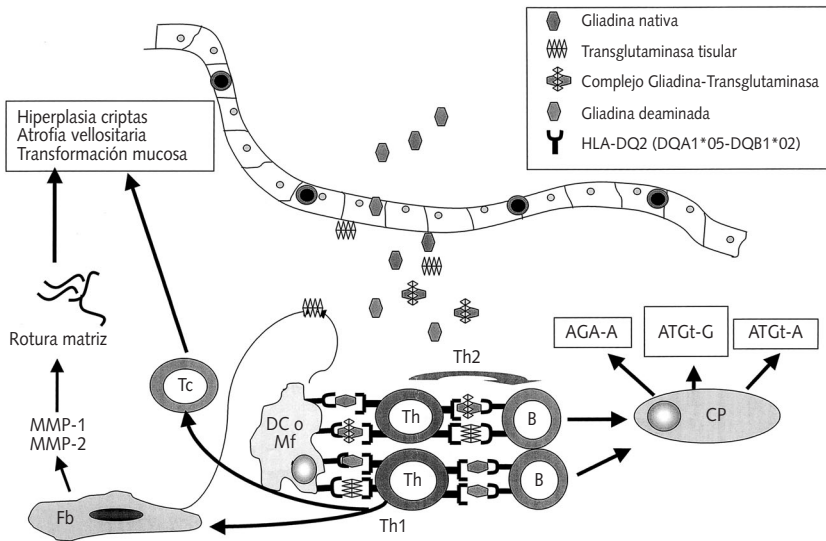
La respuesta inmune frente a la gliadina tiene lugar en dos compartimentos: la lámina propia y el epitelio⁷.

Lámina propia

En la lámina propia se produce la presentación antigénica (a través de HLA-DQ2) de la gliadina nativa, o deaminada por la transglutaminasa tisular (TGt), a las células T CD4(+) para iniciar la respuesta

inmune, que producirá lesión intestinal⁹. Según el modelo propuesto por Schuppan²⁴ (Figura 1), la secuencia de acontecimientos se iniciaría cuando la gliadina de la dieta entra en la lámina propia de la mucosa intestinal; allí es deaminada por la TGt (el autoantígeno), enzima intracelular liberada por una gran variedad de células durante una irritación mecánica o un proceso inflamatorio. La gliadina deaminada es captada por las células presentadoras de antígeno o APC (linfocitos B, macrófagos, células dendríticas), que a su

Figura 1. Respuesta inmune frente a la gliadina en lámina propia, que induce producción de anticuerpos y alteración de la mucosa intestinal (Modelo de Schuppan).



Th: linfocito T helper (CD4); **B:** linfocito B; **CP:** célula plasmática; **MF:** macrófago; **CD:** célula dendrítica; **Tc:** linfocito T citotóxico; **Fb:** fibroblasto; **MMP:** metaloproteinasa; **AGA-A:** anticuerpos antigliadina IgA; **ATGt:** anticuerpos antitransglutaminasa IgA o IgG.

vez, captarían también la gliadina nativa y los complejos gliadina-TGt. Estas moléculas procesadas se unen al heterodímero HLA-DQ2 de la superficie de las APC y son presentados a los linfocitos T, desencadenando la respuesta inmune patogénica, cuyo resultado es, por un lado, la producción de AGA y ATGt (respuesta Th2) y, por otro, la destrucción de la mucosa por liberación de citoquinas, enzimas y por la acción citolítica de los linfocitos T (respuesta Th1). Los ATGt parecen tener un importante papel patogénico en la lesión intestinal: la TGt interviene también en la regeneración y diferenciación del epitelio intestinal y estos procesos se inhiben por la presencia de anticuerpos que la bloquean y que perpetuarían la lesión²⁵.

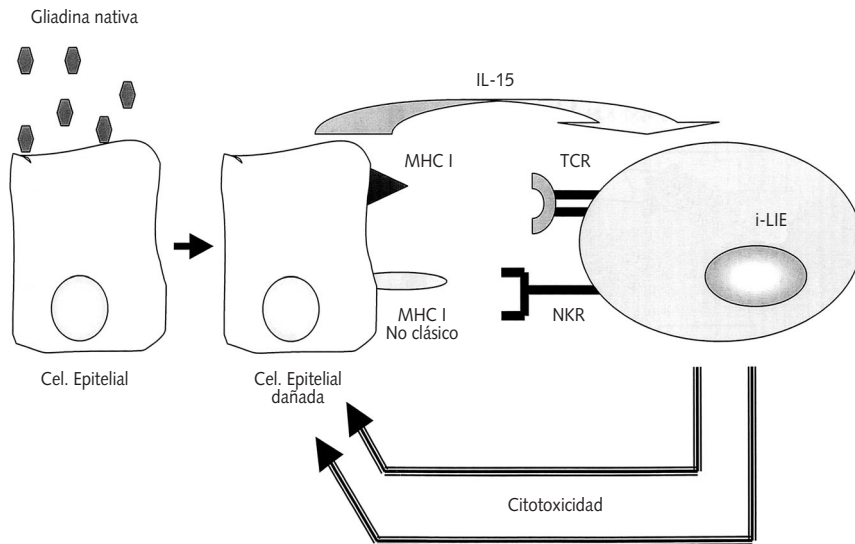
Existen muchos estudios que intentan caracterizar cuáles son las fracciones antigénicas de la gliadina responsables de esta respuesta inmune, lo que permitiría tratar el gluten para eliminar esas fracciones tóxicas. Los resultados encontrados son diferentes en niños y en adultos. En adultos, se ha demostrado "in vitro" que las enzimas pancreáticas y gástricas actúan sobre la gliadina de la dieta produciendo el péptido 33-mer, que es muy estable y que contiene los epítomos antigénicos reconocidos por los linfocitos T. Este péptido es resisten-

te a las enzimas de la luz intestinal, por lo que podría pasar en cantidad significativa a la mucosa intestinal provocando la respuesta inmune característica²⁶. Sin embargo, estudios en niños demuestran que existen más péptidos implicados en este proceso²⁷.

Epitelio intestinal

En el epitelio intestinal, además de las células epiteliales, se encuentra una población de linfocitos denominados linfocitos intraepiteliales (i-LIE); representan un compartimento celular heterogéneo de funciones desconocidas y ontogenia controvertida. La mayoría de los i-LIE expresan el complejo CD3 asociado al receptor de linfocito T (TCR) $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$. También está descrita otra población de i-LIE CD3 (-), expresada por algunos marcadores de células Natural Killer (NK), por lo que se denominan linfocitos NK-like y que podrían intervenir en procesos inmunes que favorezcan la tolerancia oral²⁸⁻³⁰. Sin embargo, no se conoce exactamente el papel patogénico que estos tipos celulares puedan tener en la EC. La teoría más aceptada actualmente es la siguiente (Figura 2): las células epiteliales en presencia de gluten se alteran³¹, secretan Interleukina 15 (IL-15) y expresan moléculas de histocompatibilidad (MHC) no clásicas. La IL-15 activa a los i-LIE in-

Figura 2. Respuesta inmune en el epitelio intestinal.



iLIE: linfocitos intraepiteliales; *IL-15*: interleuquina 15, *MHC*: moléculas de histocompatibilidad; *NKR*: receptor de célula Natural Killer; *TCR*: receptor de linfocito T; *IFNg*: interferón gamma.

duciendo en ellos la expresión de receptores NK, que a su vez reconocen a las moléculas MHC no clásicas, provocando la activación de los i-LIE que destruyen el epitelio por citolisis y por secreción de IFNg³²⁻³⁴.

Diagnóstico inmunológico de la enfermedad celíaca

El laboratorio de inmunología ofrece un arsenal analítico de gran utilidad para el diagnóstico y seguimiento de la EC. La determinación de marcadores serológicos (autoanticuerpos) y genéticos

(DQA1*05-DQB1*02) permite seleccionar a aquellos pacientes con una alta posibilidad de padecer EC, que deberá ser confirmada mediante biopsia intestinal. Por otra parte, tras la biopsia intestinal, la caracterización (fenotipaje) de los i-LIE es de gran valor diagnóstico en casos de histología dudosa.

1. Marcadores inmunes serológicos

En los últimos años se está prestando mucha atención al valor de la detección de anticuerpos séricos en el manejo clínico de la EC. La aparición de nuevos mar-

cadore más sensibles y, sobre todo, más específicos y el desarrollo de nuevas tecnologías para su detección están planteando en muchos clínicos dudas acerca de la necesidad de confirmar el diagnóstico con la biopsia intestinal. En los enfermos celíacos no tratados se pueden detectar anticuerpos AGA, antirreticulina (ARA), antiyeyuno, EMA y ATGt.

1.1. AGA

Fueron los primeros en ser utilizados; se describieron en los años 60, aunque su uso se extendió a finales de los 80.

Los AGA séricos son predominantemente de tipo IgA e IgG. Los AGA-IgA tienen una sensibilidad superior al 80% y una especificidad que ronda el 90% dependiendo de la edad de los pacientes en estudio: la eficacia es mayor para los pacientes pediátricos, especialmente para los menores de 2 años, y menor para los adultos³⁵⁻⁴¹. Los AGA-IgG, aunque poseen una elevada sensibilidad, son poco específicos, dando un porcentaje elevado de falsos positivos.

Para la determinación de AGA se han utilizado una gran variedad de métodos, siendo los más extendidos los de enzimoimmunoanálisis (ELISA)^{35-39, 41}.

Los AGA-IgA pueden ser positivos en otras enfermedades gastrointestinales, como la intolerancia a la leche de vaca,

infecciones por rotavirus, enfermedad inflamatoria intestinal y otros procesos (Nefropatía IgA, Síndrome de Down, Diabetes Mellitus tipo I), incluso en individuos sanos (sobre todo en ancianos). Sin embargo, lógicamente son negativos en el déficit de IgA, lo que hay que tener en cuenta considerando la frecuencia de esta inmunodeficiencia primaria.

1.2. ARA

Se determinan por inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre riñón, estómago e hígado de rata. Dan un patrón específico de tinción que se denomina R1 (peritubular en el riñón). Son fundamentalmente de tipo IgA⁴².

La sensibilidad y especificidad de los ARA es más baja que la de otros marcadores. Su utilidad práctica es muy limitada y en la actualidad no se usan en la rutina de laboratorio.

1.3. Anticuerpo antiyeyuno

Se han identificado anticuerpos antiyeyuno aunque no se utilizan en los protocolos de estudio. Los antígenos reconocidos parecen ser similares a los que reconocen los EMA y ARA⁴³.

1.4. EMA

Van dirigidos frente a la sustancia interfibrilar del músculo liso (endomisio). Se

detectan por IFI sobre la porción distal del esófago de mono y el cordón umbilical humano. Son preferentemente de isotipo IgA y se relacionan estrechamente con el daño de la mucosa intestinal⁴⁴.

La sensibilidad y especificidad de los EMA es superior al 90%, la especificidad es discretamente inferior en adultos que en niños. Su sensibilidad varía según los grupos de población y la edad. Son menos sensibles que los AGA en niños menores de 2 años y adolescentes, y similar o superior a los AGA en los otros grupos de edad^{38,39,41,45,46}.

Se puede encontrar débil positividad de este marcador en niños con intolerancia a la leche de vaca. El déficit de IgA es la principal causa de falsos negativos.

1.5. ATGt

Estudios de inmunoprecipitación identifican a la TGt como el antígeno más importante, aunque no el único, frente al que van dirigidos los EMA⁴⁷.

En la actualidad se han desarrollado métodos para cuantificar los ATGt e intentar correlacionarlos con el grado de atrofia vellositaria y con los marcadores inmunes previamente descritos. Aunque con sensibilidad y especificidad muy altas (similares a los EMA), no hay una total concordancia entre los resultados de los ATGt medidos por ELISA y los EMA de-

terminados por IFI 48. Los últimos estudios intentan clarificar si la determinación de estos anticuerpos podría servir como prueba de oro para el diagnóstico inicial de EC.

2. Marcadores genéticos. Tipaje HLA

En nuestro medio el 95% de los enfermos celíacos son DQ2(+), con los alelos específicos DQA1*05 y DQB1*02¹². La determinación del antígeno HLA-DQ2 es útil como marcador de formas latentes o potenciales de la enfermedad.

Su detección se realiza con técnicas de Biología Molecular.

3. Inmunofenotipaje de los i-LIE

En la EC está descrita una elevación de los i-LIE fundamentalmente a expensas de células T CD3+ TCR $\gamma\delta$ +, que se acompaña de una disminución de células NK-like^{29,30}. Esta alteración persiste sistemáticamente a pesar del estadio clínico de la enfermedad, del grado de atrofia mucosa y de las condiciones de la dieta. Por lo tanto, nos permite identificar pacientes con EC cuando la biopsia se realice en un momento de dieta libre de gluten y no exista atrofia vellositaria³⁰.

El estudio de los marcadores de superficie de los i-LIE (fenotipaje) se realiza a partir de muestras obtenidas por biopsia y mediante citometría de flujo.

Utilidad diagnóstica de los marcadores inmunológicos

1. Pacientes con EC: forma típica, atípica o mono-sintomática, silente, latente y potencial

Las formas típicas de EC aparecen en el niño entre el 1.^{er}-3.^{er} año de vida y en el adulto en la 3.^a y 4.^a década, con predominio en ambos casos de sintomatología digestiva y afectación nutricional⁴⁹. Además existen formas pauci o mono-sintomáticas, también denominadas atípicas, cada vez más diagnosticadas. Estas formas atípicas pueden dar como únicos síntomas: talla baja⁵⁰, infertilidad o abortos repetidos, retraso de pubertad, manifestaciones articulares^{51,52}, ane-

mia refractaria al tratamiento, osteoporosis, hipertransaminasemia⁵³ o epilepsia refractaria al tratamiento⁵⁴.

En las formas clínicas sintomáticas típicas o atípicas, los AGA-IgA, EMA y ATGt en general son positivos y poseen el HLA-DQ2 (DQA1* 05, DQB1*02).

Además de estas formas clínicas sintomáticas, la eficacia de los marcadores inmunológicos de EC ha puesto en evidencia la existencia de formas ocultas de EC, que ha dado lugar a la representación gráfica propuesta por Logan en 1991 o Iceberg de la EC (Tabla I).

Las formas sintomáticas (tanto típicas como atípicas) serían sólo la parte visible del iceberg, apareciendo formas nuevas: EC silente, EC latente y EC potencial⁸.

Tabla I. Utilización conjunta de los marcadores serológicos, genéticos e histológicos para el diagnóstico de las distintas formas clínicas de la EC, con la representación gráfica del Iceberg de Logan

	Clínica	Anticuerpos	Biopsia	HLA-DQ2
Sintomática	Típica o atípica	(+)	AVS o AVT	(+)
Silente	Asintomático Paucisintomático	(+)	AVS o AVT	(+)
Latente	Asintomático	(+) AVS previa	Mucosa normal	(+)
Potencial	Asintomático	EMA (+)	Mucosa normal ↑ iLIE-TCR γδ	(+)

EMA: anticuerpo antiendomisio; AVS: atrofia vellositaria subtotal; AVT: atrofia vellositaria total; iLIE-TCR: linfocitos intraepiteliales con receptor linfocito T.

EC silente se define por la ausencia de manifestaciones clínicas a pesar de la existencia de una lesión vellositaria característica de EC. El motivo que ha indicado la biopsia intestinal es generalmente la presencia de uno o varios marcadores inmunes de EC detectados en un despistaje familiar o poblacional, o por padecer una enfermedad de reconocida asociación con la EC⁵⁵. Estos enfermos suelen expresar los genes de susceptibilidad HLA-DQ2

EC latente se aplica en aquellos individuos que llevando una dieta con gluten presentan una biopsia intestinal normal, pero que en otro momento han presentado una atrofia subtotal de vellosidades con las características histológicas propias de la EC. Clínicamente pueden ser sintomáticos o asintomáticos. Es frecuente detectar anticuerpos positivos aunque su presencia no es constante. Aunque la biopsia es normal, si se fenotipan, los i-LIE presentan las alteraciones características de la EC. Estos pacientes son HLA-DQ2 (+)^{2,56,57}.

EC potencial se aplica a un grupo de pacientes que en ningún momento han presentado atrofia vellositaria característica, pero en quienes, sin embargo, se detectan otras alteraciones, principalmente inmunológicas, propias de los pacientes celíacos, como son: un marcador (EMA)

positivo, aumento de i-LIE y especialmente de la población que expresa TCR $\gamma\delta$, o un patrón de AGA a nivel de la mucosa de intestino delgado característico de EC⁵⁷. Para el diagnóstico de estos enfermos será de ayuda la presencia de HLA-DQ2.

2. Pacientes con enfermedades asociadas a la EC

En los niños afectados de Síndrome de Down se ha encontrado una prevalencia de EC entre el 2,5-6%, muy superior al de la población general. La sensibilidad de los AGA-IgA en este grupo de pacientes es superior a la de los EMA, con una alta especificidad de ambos⁵⁸.

Los pacientes con Diabetes mellitus tipo I presentan mayor riesgo de padecer EC que la población general, con una prevalencia que oscila entre el 2,5-5%. En estos pacientes los AGA-IgA tienen una alta sensibilidad diagnóstica, pero una baja especificidad, especialmente al inicio de la enfermedad diabética y en relación con la disfunción inmunológica que presentan⁵⁹. Los EMA tienen una elevada especificidad aunque también pueden obtenerse resultados falsos positivos en las fases de debut de la diabetes⁶⁰. Hay que tener en cuenta que la EC puede debutar a cualquier edad de la vida y en cualquier momento evolutivo

de la diabetes; por ello, una única determinación negativa de uno o varios marcadores no excluye definitivamente el riesgo de EC. Se recomienda incluir la determinación de marcadores serológicos de EC en el control clínico/analítico rutinario de estos pacientes⁹.

Otros procesos se asocian con la EC, como el Déficit selectivo de IgA, Tiroiditis autoinmune, Síndrome de Sjögren, Dermatitis herpetiforme, etc³.

3. Familiares en primer grado de pacientes con EC

La prevalencia de EC en los familiares en primer grado de los pacientes celíacos oscila, según las series, entre 5-13%, siendo la prevalencia mayor en los gemelos univitelinos y en los familiares que comparten los alelos de riesgo (HLA-DQ2). La prevalencia de uno o varios marcadores serológicos positivos en este grupo no siempre se relaciona con la existencia de una enteropatía, pero sí con la posibilidad de formas latentes y potenciales^{61, 62}.

4. Marcadores inmunes serológicos en la monitorización dietética

Período de Dieta Exenta de Gluten (DEG)

Tras el cese del consumo de gluten se

pone en marcha un proceso regenerativo de la mucosa intestinal y se normaliza la respuesta inmunológica, lo que se traduce en una disminución progresiva de los marcadores inmunes.

Los AGA-IgA desaparecen entre los 3 y los 6 meses de DEG. La velocidad de desaparición de estos anticuerpos es variable, no dependiendo del nivel de respuesta inicial ni de la edad del paciente^{36,39}. Las transgresiones dietéticas se asocian a una nueva elevación de los niveles de AGA-IgA, y el no cumplimiento sistemático de la misma a unos niveles permanentemente elevados³⁶.

Los EMA tardan más tiempo en normalizarse que los AGA-IgA, probablemente porque su elevación está en relación con la integridad de la mucosa intestinal. Desaparecen antes de los 12 meses del tratamiento dietético, aunque pueden encontrarse títulos positivos tras 12 meses de cumplimiento dietético, que podría indicar una persistencia del proceso inflamatorio intestinal^{38, 39}.

Los ATGt se negativizan antes que los EMA, aunque se necesitan series más largas de estudio.

El acceso a los marcadores serológicos permite al pediatra de Atención Primaria el seguimiento del correcto cumplimiento de la dieta, así como la detección de transgresiones dietéticas, que

pueden ser frecuentes en niños pequeños y en adolescentes.

Período de provocación

Tras introducir el gluten en la dieta, lo primero que se detecta son AGA-IgA de forma precoz (en 15 días), independientemente o no de la aparición de manifestaciones clínicas. En la mayoría de los casos su presencia en sangre precede a la recaída histológica de la mucosa. Es por tanto el mejor test de seguimiento³⁶.

En adolescentes que realizan transgresiones tras un período prolongado de DEG, la normalidad de los AGA-IgA no excluye el diagnóstico de EC. Tampoco los EMA parecen ser de ayuda en este grupo de pacientes⁶³.

En la infancia, durante el período de provocación, los EMA se positivizan más tardíamente que los AGA, en un 50-60% de los casos, tras 3-6 meses de provocación con gluten³⁹.

Protocolos diagnósticos

La sospecha de EC compete a un gran número de profesionales tanto en Atención Primaria como en Atención Hospitalaria. En la mayoría de los laboratorios de inmunología se realizan las pruebas necesarias (serológicas y genéticas) para el diagnóstico inmunológico de dicha entidad.

Para agilizar el diagnóstico, optimizar recursos y evitar hacer varias extracciones al paciente, y tras la experiencia acumulada de años de diagnóstico inmunológico de EC, se elaboraron en el Laboratorio de Inmunología unos protocolos para diagnóstico de EC para el Área de Salud de Badajoz⁶⁴ que se consensuaron con las secciones de Digestivo y Gastroenterología Infantil del Hospital Infanta Cristina de Badajoz, y que fueron presentados a los médicos de Atención Primaria y Atención Hospitalaria:

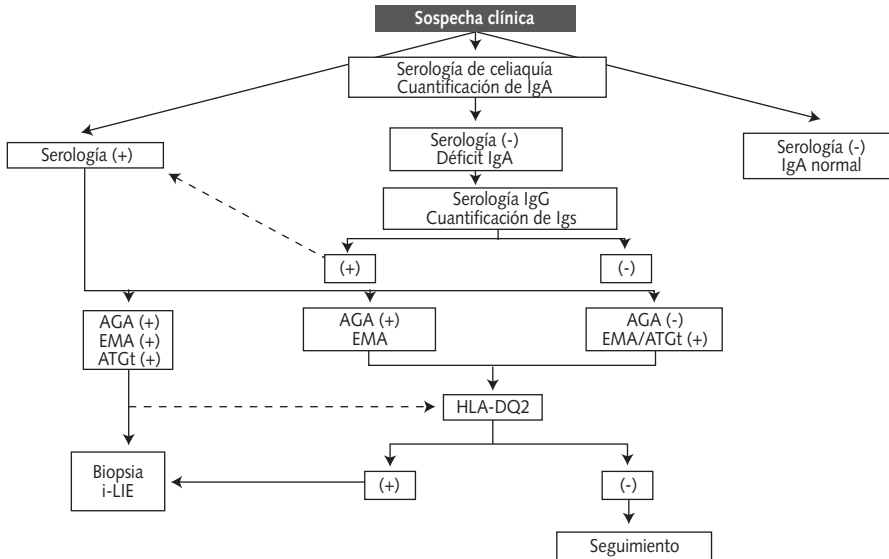
1. Protocolo en caso de sospecha clínica (Figura 3)

En estos casos se determinarán como despistaje inicial:

- AGA IgA, EMA IgA y ATGt IgA. La determinación conjunta de los tres autoanticuerpos evitaría la pérdida de casos, ya que la combinación de los tres marcadores tiene un valor predictivo negativo cercano al 100%, y valores de especificidad y sensibilidad muy altos³.
- Cuantificación de IgA, para detectar aquellos falsos negativos debidos a Déficit selectivo de IgA.

Dependiendo de los resultados de estas determinaciones se procederá a seguir el algoritmo analítico, que se hará de forma sistemática bajo la supervisión

Figura 3. Protocolo diagnóstico ante la sospecha de enfermedad celíaca.



AGA: anticuerpos antigliadina; **EMA:** anticuerpos antiendomiso; **ATGt:** anticuerpos antitransglutaminasa; **i-LIE:** linfocitos intraepiteliales.

del inmunólogo y sin necesidad de una nueva muestra.

Para la correcta realización del protocolo es necesario que de cada paciente se obtenga una muestra de suero y una muestra de sangre total para la realización del tipaje HLA –DQ2 si procediera.

2. Protocolo en caso de familiares de primer grado o de enfermedad asociada (Figura 4)

2.1. Enfermedades asociadas

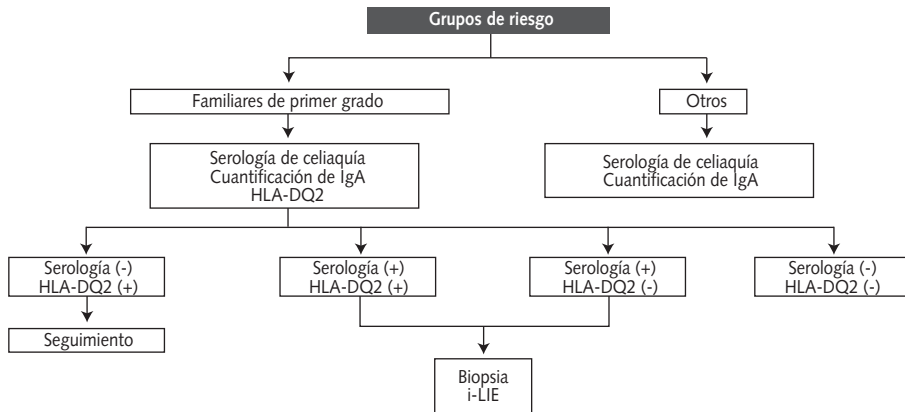
Se seguirá el mismo protocolo de despistaje que para la sospecha clínica, te-

niendo en cuenta que conviene hacer controles periódicos de estos pacientes aunque una primera determinación sea negativa.

2.2. Familiares de primer grado

En estos casos, al despistaje inicial de autoanticuerpos y cuantificación de IgA hay que añadir la determinación de HLA-DQ2 (DQA1* 05, DQB1*02), ya que aquellos familiares que posean este marcador de susceptibilidad, aunque los anticuerpos sean negativos, deben controlarse periódicamente por el elevado riesgo de padecer la enfermedad.

Figura 4. Protocolo diagnóstico en grupos de riesgo. i-LIE: linfocitos intraepiteliales.



i-LIE: linfocitos intraepiteliales.

3. Protocolo de seguimiento

Tanto para el seguimiento del período de dieta libre de gluten como de la fase de provocación, se utilizarán los niveles séricos de AGA-IgA, EMA y ATGt. Los primeros son los que antes se alteran ante cualquier modificación de la dieta. Los EMA y ATGt nos van a dar idea del grado de lesión intestinal que todavía presente el enfermo.

Evaluación previa del cumplimiento de protocolos diagnósticos en Pediatría de Atención Primaria

Desde la implantación de este protocolo diagnóstico en Pediatría de Atención Primaria en el Área de Salud de Badajoz (abril de 2002), se han evaluado

por sospecha clínica y siguiendo el protocolo completo a 139 pacientes (Tabla II). De ellos, 130 tenían IgA en valores normales y en 9 casos se detectaron déficits selectivos de IgA, por lo que se procedió a realizar la serología IgG (AGA-IgG y EMA IgG). De todos los casos de sospecha, 122 no mostraron ningún anticuerpo positivo; por tanto, no se les realizó el tipaje HLA. En los 17 casos con marcadores positivos, se hizo el tipaje HLA con la muestra que se tenía guardada; 11 poseían el antígeno HLA-DQ2 (DQA1*05-DQB1*02). Con toda esta información, el pediatra de Atención Primaria decidió en cada caso remitirlo o no a la consulta de Gastroenterología Infantil para confirmar el diagnósti-

Tabla II. Primeros resultados del seguimiento del protocolo de sospecha de EC en Atención Primaria

	N	Serología (-)	Serología (+)	HLA-DQ2 (DQA1*05-DQB1*02)	Biopsia (+) Alteración de i-LIE
IgA Normal	130	117	13	9	5
Déficit	9	5	4	2	1
Total	139	122	17	11	6

i-LIE: linfocitos intraepiteliales

co por biopsia intestinal. Hasta el momento, de los pacientes con marcadores serológicos y HLA-DQ2 positivos, se han remitido 7 a la consulta de Gastroenterología Infantil, donde directamente se les citó para la biopsia intestinal, en vista de la historia clínica y los resultados remitidos desde Atención Primaria. En 6 casos la biopsia fue patológica y el fenotipaje de los i-LIE característico de la EC, en el caso restante la biopsia fue normal. De esta forma el diagnóstico probable

de EC se estableció en Atención Primaria y con una sola extracción sanguínea, y la confirmación mediante la biopsia se agilizó de forma importante.

La aplicación de este protocolo ha permitido también el diagnóstico de 9 casos de Déficit selectivos de IgA. Los pacientes mayores de 4 años fueron remitidos a la Sección de Inmunología para completar el estudio inmunológico.

Desde Atención Primaria se han realizado estudios familiares en 5 ocasiones.

Bibliografía

1. Valverde F, Camps T, Kirchslager E, Roldán B, Hernández MA, Mendieta E. Enfermedad Celíaca en Atención Primaria. Un diagnóstico a tener en cuenta. *Rev Pediatr Aten Primaria* 1999; 2: 81-92.
2. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin

antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996; 412: 29-35.

3. Ciclitira PJ. AGA technical review on celiac sprue. *Gastroenterology* 2001; 120: 1526-1540.

4. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120: 636-651.

5. Meuwise GW. Diagnostic criteria in celiac disease. *Acta Paediatr Scand* 1970; 59: 461.
6. Walker-Smith JA, Guandolini S, Schmitz J. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. Report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-911.
7. Green PHR, Jabri B. Celiac disease. *Lancet* 2003; 362: 383-391.
8. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and Immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("Celiac Sprue"). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354.
9. Sollid ML, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: Genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993; 105: 910-922.
10. Molberg O, McAdam SN, Körner R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognised by gut-derived T cells in celiac Disease. *Nat Med* 1998; 4: 713-717.
11. Tighe MR, Hall MA, Ashkenazi A, Siegler E, Lanchbury JSS, Ciclitira PJ. Coeliac disease among Ashkenazi Jews from Israel. A study of the HLA-class II alleles and their associations with disease susceptibility. *Hum Immunol* 1993; 38: 270-276.
12. González-Roiz C, Pereira LF, Vargas ML, Doblare E, Pedrera JD, López-Rodríguez MJ. La enfermedad celíaca no está asociada con HLA-DQ8 en la población pediátrica de la provincia de Cáceres. *Inmunología* 2001; 20 Supl 1: 50.
13. Liu J, Juo SH, Holopainen P, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 51-59.
14. Naluai AT, Nilsson S, Gudjonsdottir AH, et al. Genome-wide linkage analysis of Scandinavian affected sib-pairs supports presence of susceptibility loci for celiac disease on chromosomes 5 and 11. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 938-944.
15. Cornell H, Wieser H, Belitz HD. Characterization of the gliadin-derived peptides which are biologically active in celiac disease. *Clin Chim Acta* 1992; 213: 37-50.
16. Wieser H. The precipitating factor in celiac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995; 9: 191-207.
17. Field JM, Shewry PR, Mifflin BJ. The purification and characterization of homologous high molecular weight storage proteins from grains of wheat, rye and barley. *Theor Appl Genet* 1982; 62: 329-336.
18. Janatuinen EK, Pikkarainen PH, Kempainen TA, et al. A comparison of diets with and without oats in adults with celiac disease. *N Engl J Med* 1995; 333: 1033-1037.
19. Hekkens WJM, Haex AJ, Willihager RGJ. Some aspects of gliadin fractionation and testing by histochemical methods. In: Booth CC, Dowling RH, editors. *Coeliac disease*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1970; 11-19.
20. De Vicenzi M, Luchetti R, Peruffo AD, Curioni A, Pogna NE, Gasbarrini G. In vitro assessment of acetic acid-soluble proteins (glutenin) in celiac disease. *J Biochem Toxicol* 1996; 11: 205-210.
21. Cammarota G, Cuoco L, Cianci R, Pandolfi F, Gasbarrini G. Onset of coeliac disease during treatment with interferon for chronic hepatitis C. *Lancet* 2000; 356: 1494-1495.
22. Nieuwenhuizen WF, Pieters RHH, Knipfels LMJ, Jansen MCJF, Koppelman SJ. Is Candida Albicans as trigger in the onset of celiac disease? *Lancet* 2003; 361: 2152-2154.
23. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 647-655.
24. Shuppan D. Current concepts of Celiac Disease Pathogenesis. *Gastroenterology* 2000; 119: 234-242.

25. Halttunen T, Mäki M. Serum IgA from patients with celiac disease inhibits human T84 intestinal crypt epithelial cell differentiation. *Gastroenterology* 1999; 116: 566-572.
26. Shan L, Molberg O, Parrot I, et al. Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue. *Science* 2002; 297: 2275-2279.
27. Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, et al. The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology* 2002; 122: 1729-1737.
28. Gek-Kee S. Intraepithelial lymphocytes and the immune system. *Adv Immunol* 1995; 58: 297-343.
29. Arranz E, Kingstone K, Ferguson A. Intestinal antibody pattern of celiac disease: association with g/d T-cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes and others indices of potential celiac disease. *Gut* 1994; 35: 476-482.
30. Eiras P, Roldan E, Camarero C, Olivares F, Bootello A, Roy G. Flow cytometry description of a novel CD3-/CD7+ intraepithelial lymphocyte subset in human duodenal biopsias: potencial diagnostic value in coeliac disease. *Cytometry* 1998; 34: 95-102.
31. De Ritis G, Auricchio, Jones HV, Lew EJ, Bernadin JE, Kasarda DD. In vitro (organ culture) studies of the toxicity of specific Aa-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology* 1988; 84: 41-49.
32. Roberts AL, Lee L, Schwarz E, et al. NKG2D receptors induced by IL-15 costimulate CD28-negative effector CTL in the tissue in the microenvironment. *J Immunol* 2001; 167: 5527-5530.
33. Jabri B, De Serre NP, Cellier C, et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology* 2000; 118: 867-879.
34. Fehniger TA, Suzuki K, VanDeusen JB, Cooper MA, Freud AG, Caligiuri MA. Fatal leukemia in interleukin-15 transgenic mice. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 223-230.
35. Troncone R, Ferguson A. Anti-gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 12: 150-158.
36. Ribes-Koninckx C, Giliams JP, Polanco I, Peña AS. IgA Antigliadin Antibodies in Celiac and Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984; 3: 676-682.
37. Ascher H, Lanner A, Kristiansson B. A new laboratory kit for anti-gliadin IgA at diagnosis and follow-up of childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 10: 443.
38. Bürgin-Wolf A, Gaze H, Hadziselimovic F, et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66: 941-947.
39. Calabuig M, Torregrosa R, Polo P. Serological markers and celiac disease: a new diagnostic approach? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 10: 435-442.
40. Ribes-Koninckx C, Gurrea MD, Genotes I, Fuster R, Pereda A, Ferrer J. Evaluación de un nuevo método cuantitativo (Farmacia Cap System Gliadin IgA-IgG FEIA) para la determinación sérica de los AAG. *An Esp Ped* 1996; Supl 76: 55-56.
41. Grodzinsky E, Jansson G, Skogh T, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K. Anti-endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for coeliac disease in childhood: a clinical study to develop a practical routine. *Acta Paediatr* 1995; 84: 294-298.
42. Mäki M, Hällström O, Vesikari T, Visakorpi JK. Evolution of serum IgA-class reticulín antibody test for detection of childhood celiac disease. *J Pediatr* 1984; 105: 901-905.
43. Karpati S, Bürgin-Wolff A, Krieg T, et al. Binding to human jejunum of serum IgA anti-

body from children with coeliac disease. *Lancet* 1996; 336: 1335-1338.

44. Chorzelski TP, Beutner AE, Sulej J. IgA anti-endomysium antibody: a new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol*, 1984; 111: 395-402.

45. Kolho KL, Savilahti E. IgA Endomysium Antibodies on Human Umbilical Cord: An Excellent Diagnostic Tool for Celiac Disease in Childhood. *Paediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 563-567.

46. Chan KN, Phillips AD, Mirakian R, Walker-Smith JA. Endomysial Antibody Screening in Children. *J Pediatr* 1994; 18: 316-320.

47. Dieterich W, Ehnis T, Baur M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.

48. Ribes-Koninckx C, Llanes S, Calero V, et al. ¿Es la transglutaminasa la solución definitiva? En: Libro de resúmenes del VI Congreso de la Sección Española de Gastroenterología y Hepatología y Nutrición Pediátrica; 1999, 13-15 de mayo. Santander. p. 55.

49. Troncone R, Greco I, Auricchio S. Gluten sensitive enteropathy. *Clin Pediatr (Phila)* 1996; 43: 355-374.

50. Bonamico M, Sciré G, Mariani P, et al. Short stature as the primary manifestation of monosymptomatic coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992; 14: 12-16.

51. Ferguson R, Holmes GKT, Cooke WT. Coeliac disease, fertility and pregnancy. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 65-68.

52. Walters JRF, Banks LM, Butcher GP, Fowler CR. Detection of low bone mineral density by dual energy X-ray absorptiometry in unsuspected suboptimally treated coeliac disease. *Gut* 1995; 37: 220-224.

53. Volta U, De Franceschi L, Lari F, Molinaro N, Granito A, Bianchi FB. Antibody screening for

coeliac disease in patients with cryptogenic hypertransaminasemia. *Gut* 1997; 41: 71-72.

54. Ventura A, Bouquet F, Santorelli C, Barbie E, Torre G, Tommasini G. Coeliac disease, folic acid deficiency and epilepsy with cerebral calcifications. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80: 559-562.

55. De Lecea A, Ribes-Koninckx C, Polanco I, Ferrer Calvete J. Serological screening (antigliadin and antiendomysium antibodies) for non-overt coeliac disease in children of short stature. *Acta Paediatr* 1996; 412: 54-55.

56. Mäki M, Holm K, Collin P, Savilahti E. Increase in gd_T cell receptor bearing lymphocytes in normal small bowel mucosa in latent coeliac disease. *Gut* 1991; 21: 1412-1414.

57. Ferguson A, Arranz E, O'Magibú S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease-active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34: 150-151.

58. Zubillaga P, Vitoria JC, Arrieta A, Echaniz P, García-Masdevall MD. Down's Syndrome and Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 186-171.

59. Calero P, Ribes-Koninckx C, Albiach V, Carles C, Ferrer J. IgA Antigliadin Antibodies as a Screening Method for Nonovert Celiac Disease in Children with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23: 29-33.

60. Barrera G, Bonfanti R, Viscardi M, et al. Occurrence of Celiac disease after onset of type I diabetes a 6-years prospective longitudinal study. *Pediatrics* 2002; 109: 833-838.

61. Victoria JC, Arrieta A, Astigarraga Y, García-Masdevall D, Rodríguez-Soriano J. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19: 304.

62. Maki M, Holm K, Lipsanen V, et al. Serological markers and HLA genes among healthy

first-degree relatives of patients with coeliac disease. *Lancet* 1991; 338: 1350-1353.

63. Troncone R, Mayer M, Spagnuolo F, Maiuri L, Greco L. Endomysial antibodies as unreliable markers for slight transgressions in adolescents with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 69-72.

64. Vargas ML. Diagnóstico inmunológico de la Enfermedad Celíaca. *Foro Pediátrico* 2002; 8: 5-11 [fecha de consulta 31 de mayo de 2004]. Disponible en www.spapex.org/spapex/celiaca.htm

