

TESTE VECHI ȘI NOI ÎN BOALA CELIACĂ LA COPIL

GABRIEL SAMASCA¹, ALEXANDRU PÎRVAN², DORIN FARCAU³,
DORU DEJICA¹

¹Catedra de Imunologie și Alergologie Clinică

²Catedra Pediatrie II

³Catedra Pediatrie III

UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Rezumat

Descoperirea capacității transglutaminazei tisulare de a cataliza reacția de deamidare a gliadinei, cu formarea peptidelor gliadinice, a marcat un nou pas în evoluția testelor serologice în boala celiacă. Utilizarea peptidelor gliadinice deamidate în reacțiile imunoenzimatică a crescut performanțele anticorpilor antigliadină.

Cuvinte cheie: peptide gliadinice deamidate, nou test serologic, boala celiacă.

NEW AND OLD TESTS IN CHILD'S CELIAC DISEASE

Abstract

Discovery of tissue transglutaminase ability to catalyze deamidation reaction of gliadin, with formation of gliadin peptides, marked a new step in the development of serological tests in celiac disease. Use of deamidated gliadin peptides in immunoenzymatic reactions increased performance of antigliadin antibody.

Keywords: deamidated gliadin peptides, new serological test, celiac disease.

1. ANTICORPII ANTIGLIADINĂ

Istoric

În ultimul deceniu boala celiacă a fost consemnată ca o afecțiune des întâlnită și cu variate moduri de prezentare și ca atare frecvent nedignificată. Feighery și colab. [1] subliniau faptul că pentru un diagnostic eficient al bolii celiace sunt necesare o combinație de criterii clinice, histologice și serologice, iar folosirea exclusivă a unuia din criteriile enunțate va duce la eșecul unui diagnostic corect la o proporție semnificativă de pacienți.

Anticorpii antigliadină (AGA) au reprezentat primul test serologic imunoenzimatic pentru boala celiacă. Calitățile testului, respectiv a izotipului IgA, au fost remarcate în boala celiacă netratată; la un grup de 27 copii sub 14 ani, Vitoria și colab. [2] obțineau o sensibilitate 96%, specificitate 97%, valoare predictivă pozitivă 96% și valoare predictivă negativă 97%.

Creșterea numărului de cereri pentru investigarea bolii celiace a dus la căutarea de strategii cost-eficientă. Bowron și colab. [3], investigând calitățile AGA IgA comparativ cu anticorpii antiendomysium IgA (EMA IgA),

au obținut următoarele rezultate: sensibilitate 84% respectiv 88%, specificitate 88% respectiv 97%, valoare predictivă pozitivă 24% respectiv 65% și valoare predictivă negativă 99% respectiv 99%. Concluzia autorilor a fost că AGA IgA era un test adecvat de primă linie pentru a exclude boala celiacă, dar necesita confirmare cu EMA IgA. Astfel, AGA IgA și EMA IgA erau considerați markeri utili în screeningul și monitorizarea bolii celiace [4], fiind utilizați pe scară largă multă vreme, deși specificitatea și sensibilitatea lor erau sub nivelul optim [5].

Descoperirea transglutaminazei tisulare ca auto-antigen recunoscut pentru EMA, introducerea acesteia ca test imunoenzimatic de diagnostic în boala celiacă a marcat un pas înapoi al AGA [6], anticorpii antitransglutaminază tisulară IgA (TTG IgA) dovedindu-se comparativ cu AGA IgA un indicator fiabil pentru urmărirea și diagnosticul bolii celiace [7,8].

La adulți, studiile ulterioare au arătat că AGA IgA nu mai era o parte esențială a strategiei de diagnostic pentru boala celiacă [9]. Cu toate acestea, în țările în curs de dezvoltare, având în vedere sensibilitatea și specificitatea similare a AGA IgA și a TTG IgA și rezultatele fals negative ale TTG IgA în deficitul de IgA, unele studii [10] recomandau ca potrivit pentru screening-ul bolii celiace determinarea AGA IgA și AGA IgG, urmate de EMA

Articol intrat la redacție în data de: 12.07.2010

Acceptat în data de: 14.09.2010

Adresa pentru corespondență: Gabriel.Samasca@umfcluj.ro

IgA.

La copii calitățile AGA IgA s-au dovedit apropiate de TTG IgA, lucru dovedit de studiile lui Hashemi și colab. [11], care pe un lot de 104 copii cu deficit statural au detectat TTG IgA la 36 și AGA IgA la 35 dintre acești pacienți. Aceeași autori arătau că 31 pacienți cu TTG IgA pozitiv și 28 pacienți cu AGA IgA pozitivi au arătat anomalii histologice compatibile cu boala celiacă. Prin urmare, Lagerqvist și colab. [12] recomandă combinația TTG IgA și AGA IgA pentru identificarea optimă a bolii celiace netratate la copii mai mici de 18 luni.

În această perioadă se remarcă și un studiu multicentric [13], bazat pe metode imunocromatografice vizuale, prin care se obținea o sensibilitate de 63.1% și o specificitate de 95.2% pentru AGA, autorii concluzionând că metoda este extrem de eficientă ca screening al bolii celiace, prin combinarea unui acurateți înalte de diagnostic cu simplitatea și rapiditatea metodei vizuale.

Astăzi, performanțele testului ELISA au fost îmbunătățite prin utilizarea peptidelor gliadinice deamidate (DGP). Tonutti și colab. [14], comparând calitățile DGP IgA cu AGA IgA, obțineau o sensibilitate superioară a noului test (59,1% comparativ cu 32,2%) și o specificitate apropiată a celor două teste (96,9% respectiv 93,8%).

În monitorizarea terapiei fără gluten testul a dovedit performanțe slabe. Sugai și colab. [15], pe un lot de 82 adulți cu boală celiacă la un an de terapie fără gluten, a obținut următoarea proporție de teste pozitive: TTG IgA 61,2%, DGP IgA 55%, AGA IgA 28,7% și EMA IgA 26,6%. Acest fapt a fost confirmat și de Caristo și colab. [16], care arătau că atunci când un copil ingeră o cantitate normală de gluten testul rămâne negativ.

Rolul diagnostic

AGA se produc ca răspuns la prezența gliadinei din grâu. În făina de grâu aceasta este găsită în trei genoame diferite: AA, BB și DD. Aceste genoame pot conduce la diferențe ușoare între gliadine, având ca rezultat producerea de anticorpi diferiți de către organismul uman. Unii anticorpi pot detecta proteinele din unele tipuri de cereale din clasa *Triticeae*, în timp ce alții reacționează sporadic doar la unele tipuri de grâne. Acești anticorpi au valoare diagnostică ca test de screening în formele silențioase la persoanele aparent sănătoase. AGA IgA se găsesc la 80% din pacienții cu boală celiacă [17], dar pot apare și la pacienții care nu au enteropatie. AGA IgG se găsesc în mai mare proporție la pacienții cu valori scăzute ale imunoglobulinei IgA [18,19].

Deși aceste teste au fost utilizate mai mult de 20 de ani, conștientizarea faptului că AGA apar și la persoanele care nu au avut boală celiacă a dus la scăderea interesului pentru aceștia [20], drept pentru care metoda nu mai este recomandată ca test de diagnostic în boala celiacă.

Performanțele testului în timp (tabel I).

Tabel I. Performanțele testului AGA IgA.

An	Studii	Sensibilitate	Specificitate
1998	<i>Feighery și colab.¹</i>	69%	71%
1999	<i>Vitoria și colab.²</i>	96%	97%
2000	<i>Bowron și colab.³</i>	84%	88%
2001	<i>Bardella și colab.⁴</i>	95%	97,3%
2002	<i>Wolters și colab.⁵</i>	83%	86%
2003	<i>Johnston și colab.⁶</i>	76%	79%
2004	<i>Baudon și colab.⁷</i>	60%	99,1%
2005	<i>Fernández și colab.⁸</i>	85%	97%
2006	<i>Reeves și colab.⁹</i>	44,2	86,4%
2007	<i>Bahia și colab.¹⁰</i>	81,1%	95,2%
2008	<i>Hashemi și colab.¹¹</i>	80%	88,4%
2009	<i>Tonutti și colab.¹²</i>	32,2%	93,8%
2010	<i>Sugai și colab.¹³</i>	35,3%	76,1%

Concluzii

Avantajele utilizării AGA includ următoarele: trusele ELISA sunt relativ ieftine și cu o metodă ușor de efectuat; sunt de preferat pentru diagnosticul copiilor sub 2 ani, deoarece devin pozitivi mai precoce ca EMA. AGA sunt prezenți în hipogamaglobulinemia comună variabilă și în deficitul selectiv de IgA, în care EMA lipsesc. Printre dezavantajele utilizării AGA putem include sensibilitatea scăzută.

2. ANTICORPII ANTIGLIADINĂ DEAMIDATĂ

Istoric

Mai recent în anul 2001, Aleanzi și colab. [21] constatau că anticorpii antigliadină de la pacienții cu boală celiacă recunosc peptidele gliadinice după reacția de deamidare, ca atare ei concluzionau că prin utilizarea acestor peptide gliadinice deamidate (DGP), încărcate cu epitopi ai limfocitelor B specifice în testele imunoenzimatică ar putea îmbunătăți calitățile diagnostice ale acestora. Studii ulterioare [22] au arătat că DGP are o acuratețe diagnostică în boala celiacă mai mare decât a anticorpilor antigliadină (AGA) și similară cu a anticorpilor antitransglutaminază tisulară (TTG).

Descoperirea rolului neașteptat al transglutaminazei tisulare (Tg) în patogeniza bolii celiace [23] privind catalizarea reacției de deamidare a gliadinei cu generarea de noi epitopi gliadinici și utilizarea acestora în testele ELISA a marcat un pas înainte în diagnosticul bolii celiace. Studiul INOVA [24] arată că rezultatele dozării DGP au o concordanță de 97% cu EMA și TTG. Din 56 de seruri negative pentru EMA și TTG dar pozitive pentru AGA, 54 (96%) au fost negative pentru DGP. Liu și colab. [25] ne arată că dozarea DGP poate fi mai utilă decât dozarea TTG, deoarece DGP pot precede apariția TTG în monitorizarea terapiei fără gluten și la unele populații, în special copii cu risc.

Majoritatea studiilor au fost concentrate pe adulți. Falini [26] apreciază că DGP cresc imunoreactivitatea AGA de la 25% la 50%. Rashtak [27] obține la cazurile pozitive o sensibilitate și specificitate a DGP IgA (74%, 95%) mai mare față de a anticorpilor antigliadină nativă

IgA (63%, 90%). Naiyer [28] compară sensibilitatea și specificitatea DGP la pacienții cu boală celiacă activă cu cea a unui lot martor, format din pacienți cu boală Crohn și hepatită cronică și observă că sensibilitatea rămâne la fel, dar specificitatea scade. Volta [29] compară noul test cu ceilalți markeri serologici ai bolii celiace și găsește o sensibilitate a metodei mai mică decât a TTG și EMA, dar obține o specificitate mai mare decât a TTG ($p < 0,001$). Astfel s-au eliminate deficiențele legate de sensibilitatea și specificitatea scăzută a anticorpilor antigliadină nativă.

La copii studiile au arătat că detecția DGP IgG este mai sensibilă și mai specifică decât detecția AGA IgG [30] și comparabilă cu TTG IgA [31]. În aceste condiții la pacienții cu deficit selectiv al imunoglobulinei A a fost propusă determinarea ambelor izotipuri imunoglobulinice IgA și IgG, respectiv dozarea DGP IgA+IgG [32].

Performanțele testului în timp (tabel II)

Tabel II. Performanțete testului DGP IgA.

An	Studii	Sensibilitate	Specificitate
2006	<i>Sugai și colab.</i> ³³	94,6%	99,1%
2007	<i>Kaukinen și colab.</i> ³⁴	91%	98%
2008	<i>Rashtak și colab.</i> ²⁷	74%	95%
2009	<i>Tonutti și colab.</i> ¹⁴	59,1%	96,9%
2010	<i>Volta și colab.</i> ³⁵	84,3%	79,8%

Concluzii

Avantajele utilizării DGP includ următoarele: detectează manifestările asociate bolii celiace la copii sub 3 ani și negativi pentru TTG; izotipul IgG mai specific decât IgA în DGP și specificitate mare pacienții cu deficit selectiv de IgA. Titrul răspunde mai rapid la terapia fără gluten.

3. PERFORMANȚE CRONOLOGICE COMPARATIVE

• Sensibilitatea AGA IgA și DGP IgA

Urmărirea evoluției sensibilității testelor în timp ne arată o evoluție descrescătoare, cu o medie în jurul valorii de 70,8% a AGA IgA și în paralel tot o evoluție descrescătoare, cu o medie în jurul valorii de 80,6% a DGP IgA (Fig. I).

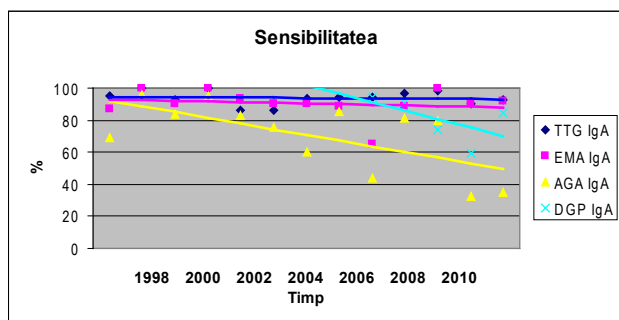


Fig. I. Evoluția valorilor sensibilității AGA IgA și DGP IgA.

• Specificitatea AGA IgA și DGP IgA

Urmărirea evoluției specificității testelor în timp ne arată o evoluție descrescătoare, cu o medie în jurul

valorii de 88,7% a AGA IgA și în paralel tot o evoluție descrescătoare, cu o medie în jurul valorii de 93,7% a DGP IgA (Fig. II).

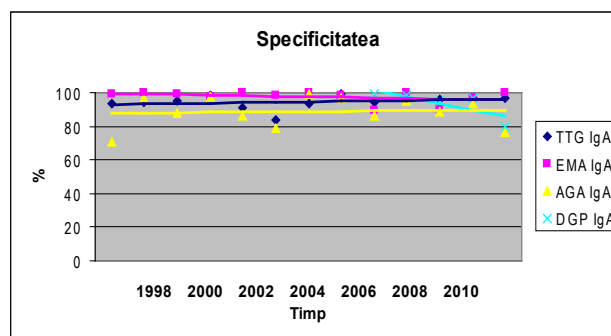


Fig. II. Evoluția valorilor specificității AGA IgA și DGP IgA.

Bibliografie

1. Feighery C, Weir DG, Whelan A et al. Diagnosis of gluten-sensitive enteropathy: is exclusive reliance on histology appropriate? Eur J Gastroenterol Hepatol 1998; 10:919-925.
2. Vitoria JC, Arrieta A, Arranz C et al. Antibodies to gliadin, endomysium, and tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1999; 29:571-574.
3. Bowron A, Moorghen M, Morgan JE et al. Cost-effective strategy for the serological investigation of coeliac disease. Ann Clin Biochem 2000; 37:467-470.
4. Bardella MT, Trovato C, Cesana BM et al. Serological markers for coeliac disease: is it time to change? Dig Liver Dis 2001; 33:426-431.
5. Wolters V, Vooijs-Moulaert AF, Burger H et al. Human tissue transglutaminase enzyme linked immunosorbent assay outperforms both the guinea pig based tissue transglutaminase assay and anti-endomysium antibodies when screening for coeliac disease. Eur J Pediatr 2002; 161:284-297.
6. Johnston SD, McMillan SA, Collins JS et al. A comparison of antibodies to tissue transglutaminase with conventional serological tests in the diagnosis of coeliac disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 2003; 15:1001-1004.
7. Baudon JJ, Johanet C, Absalon YB et al. Diagnosing celiac disease: a comparison of human tissue transglutaminase antibodies with antigliadin and antiendomysium antibodies. Arch Pediatr Adolesc Med 2004; 158:584-588.
8. Fernández ML, Vivas S, Ruiz de Morales JM et al. Usefulness of anti-transglutaminase antibodies in the diagnosis of celiac disease. Gastroenterol Hepatol 2005; 28:437-440.
9. Reeves GE, Squance ML, Duggan AE et al. Diagnostic accuracy of coeliac serological tests: a prospective study. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006; 18:493-501.
10. Bahia M, Penna FJ, Sampaio IB et al. Determining IgA and IgG antigliadin, IgA antitransglutaminase, and antiendomysial antibodies in monkey esophagus and in umbilical cord for diagnosis of celiac disease in developing countries. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2007; 45:551-558.
11. Hashemi J, Hajiani E, Shahbazin HB et al. Prevalence of celiac disease in Iranian children with idiopathic short stature. World J Gastroenterol 2008; 14:7376-7380.
12. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children

- younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47:428-435.
13. Baviera LC, Aliaga ED, Ortigosa L et al. Celiac disease screening by immunochromatographic visual assays: results of a multicenter study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 45:546-550.
14. Tonutti E, Visentini D, Picierno A et al. Diagnostic efficacy of the ELISA test for the detection of deamidated anti-gliadin peptide antibodies in the diagnosis and monitoring of celiac disease. *J Clin Lab Anal* 2009; 23:165-171.
15. Sugai E, Nachman F, Vázquez H et al. Dynamics of celiac disease-specific serology after initiation of a gluten-free diet and use in the assessment of compliance with treatment. *Dig Liver Dis* 2010; 42:352-358.
16. Caristo E, Tognato E, Di Dio G et al. Increasing prevalence of celiac children with negative serum antigliadin antibodies. *Minerva Pediatr* 2010; 62:119-123.
17. Volta U, Lenzi M, Lazzari R, et al. Antibodies to gliadin detected by immunofluorescence and a microELISA method: markers of active childhood and adult coeliac disease. *Gut* 1985; 26:667-671.
18. Tucker NT, Barghuthy FS, Prihoda TJ et al. Antigliadin antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay as a marker of childhood celiac disease. *J. Pediatr* 1988; 113:286-290.
19. Collin P, Mäki M, Keyriläinen O et al. Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:367-371.
20. Kaukinen K, Collin P, Laurila K et al. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42:1428-1433.
21. Aleanzi M, Demonte AM, Esper C et al. Celiac disease: antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides. *Clin Chem* 2001; 47: 2023-2028.
22. Schwartz E, Kahlenberg F, Sack U et al. Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clin Chem* 2004; 50:2370-2375.
23. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I et al. Unexpected role of surface transglutaminase type II in celiac disease. *Gastroenterology* 2005; 129:1400-1413.
24. Prince H. Evaluation of the INOVA diagnostics enzyme-linked immunosorbent assay kits for measuring serum immunoglobulin G (IgG) and IgA to deamidated gliadin peptides. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13:150-151.
25. Liu E, Li M, Emery L et al. Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 45: 293-300.
26. Falini ML, Elli L, Caramanico R et al. Immunoreactivity of antibodies against transglutaminase-deamidated gliadins in adult celiac disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53:2697-2701.
27. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA et al. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6:426-432.
28. Naiyer AJ, Hernandez L, Ciaccio EJ et al. Comparison of commercially available serologic kits for the detection of celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43:225-232.
29. Volta U, Granito A, Fiorini E. Usefulness of antibodies to deamidated gliadin peptides in celiac disease diagnosis and follow-up. *Dig Dis Sci* 2008; 53:1582-1588.
30. Prause C, Ritter M, Probst C et al. Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 49:52-58.
31. Vermeersch P, Geboes K, Mariën G et al. Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease. *Clin Chim Acta*. 2010; 411(13-14):931-935.
32. Aberg AK, Olcén P. Serologic screening for celiac disease in children: a comparison between established assays and tests with deamidated gliadin-derived peptides plus conjugates for both IgA and IgG antibodies. *APMIS* 2009; 117:808-813.
33. Sugai E, Vázquez H, Nachman F et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4:1112-1117.
34. Kaukinen K, Collin P, Laurila K et al. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. *Scand J Gastroenterol*. 2007; 42:1428-1433.
35. Volta U, Granito A, Parisi C et al. Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease: a prospective analysis. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44:186-190.