

# Título y avidéz de los anticuerpos antigliadina en la enfermedad celíaca

M.C. Molina, G. Salinas y A. Nieto

Cátedra de Inmunología, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

## Titer and avidity of anti-gliadin antibodies in coeliac disease

Anti-gliadin antibodies have already been described in sera from coeliac disease patients. Coeliac diagnosis is currently being performed by biopsy and correlation of this data with anti-gliadin titers has been studied by several authors in order to substitute the invasive technique.

Another immunochemical parameter, avidity of anti-gliadin antibodies, is evaluated in this paper to improve coeliac disease immune diagnosis.

Antibody titer was assayed by ELISA. A simplified technique to evaluate avidity was performed using 100 µg/m gliadin to inhibit antibody reaction in ELISA. Avidity was assessed according to the inhibition percentage observed (fig. 4). Avidity and titer of anti-gliadin antibodies were assayed in 48 coeliac patients sera (12 extracted in the first biopsy and 36 during gluten-free treatment), 22 healthy donors sera and 7 sera from patients parasitized with *Giardia lamblia*.

A 92 % of all coeliac patients sera exhibited avidited values higher than healthy donors and *G. lamblia* infected patients (fig. 5) and 77 % of them exhibited higher titers than the corresponding titer threshold value (figs. 1 and 3). Nonetheless antibody titer is more consistent than avidity with the evolution of clinical symptoms observed during gluten-free treatment (figs. 2 and 3).

All sera extracted from coeliac during first biopsy exhibited higher titer than corresponding threshold except for one serum from cirrotic coeliac patient (fig. 1). All these sera, including the latter, exhibited avidity values higher than threshold (fig. 5).

Cross-reactivity with proteins from other cereals of several sera exhibiting low anti-gliadin titer and extracted from coeliac patients during gluten-free treatment were analyzed. This assay was performed to test the possibility that antibodies in those sera recognized those proteins (possible diet components) rather than gliadin. Results in table I indicate that gliadin was the antigen recognized by them.

Biopsy and evolution of clinical symptoms correlate with combined avidity and titer data better than with each of them alone.

These results suggest that better immune diagnosis of coeliac disease can be achieved by assaying both titer and avidity of anti-gliadin antibodies.

Se ha descrito la existencia de anticuerpos antigliadina en suero de pacientes celíacos. El diagnóstico de la enfermedad celíaca se lleva a cabo por biopsia y varios autores han estudiado la correlación entre estos datos y los títulos de anticuerpos antigliadina con el objeto de llegar a substituir la técnica invasiva.

En este trabajo se evalúa otro parámetro inmunoquímico, la avidéz de los anticuerpos antigliadina, para mejorar el inmunodiagnóstico de la enfermedad celíaca.

El título de anticuerpos se determinó por ELISA. Para evaluar la avidéz se llevó a cabo una técnica simplificada en la que se usó una solución de 100 µg/ml de gliadina para inhibir la reacción de los anticuerpos en ELISA. La avidéz se estimó de acuerdo con el porcentaje de inhibición observado (fig. 4).

Se ensayó la avidéz y el título de los anticuerpos antigliadina en 48 sueros de pacientes celíacos (12 extraídos en la primera biopsia y 36 durante la dieta libre de gluten), 22 sueros de donantes sanos y 7 sueros de pacientes parasitados con *Giardia lamblia*.

Un 92 % de todos los sueros de pacientes celíacos exhibió valores de avidéz mayores que los donantes sanos y los pacientes infectados con *G. lamblia* (fig. 5) y un 77 % de ellos exhibió títulos mayores que el correspondiente valor umbral para títulos (figs. 1 y 3). Sin embargo, el título de anticuerpos refleja mejor que su avidéz la evolución de los síntomas clínicos observada durante la dieta libre de gluten (figs. 2 y 3). Todos los sueros extraídos de pacientes celíacos durante la primera biopsia exhibieron títulos superiores al umbral correspondiente excepto un suero procedente de un paciente celíaco con cirrosis (fig. 1). Todos esos sueros, incluido el último, exhibieron valores de avidéz muy superiores al umbral (fig. 5).

Se analizó la reactividad cruzada con proteínas de otros cereales en varios sueros de bajo título extraídos de pacientes celíacos durante la dieta libre de gluten. Esto se hizo para estudiar la posibilidad de que los anticuerpos de esos sueros reconocieran esas proteínas (posibles componentes de la dieta) más que la gliadina. Los resultados de la tabla I indican que fue la gliadina el antígeno reconocido por esos sueros. Los resultados de las biopsias y los síntomas clínicos son reflejados mejor por los datos combinados de título y avidéz que por cada uno de ellos por separado.

Estos resultados sugieren que se puede hacer un mejor inmunodiagnóstico de la enfermedad celíaca ensayando título y avidéz de los anticuerpos antigliadina conjuntamente.

Correspondencia y solicitud de separatas: A. Nieto.  
Cátedra de Inmunología, Facultad de Química,  
Gral. Flores 2124. C.P. 11800, Montevideo, Uruguay.

Este trabajo ha sido financiado con fondos de la Agencia Sueca para Investigación y Cooperación (SAREC), de la Fundación Internacional para la Ciencia (IFS; Grant B/1038-2), de la Comunidad Económica Europea (Grant CII.0120.U [h]) y del Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PNUD, Project URU/84/002).

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) se define como intolerancia permanente a la fracción prolamina del gluten de trigo, cebada, centeno y avena, dando como resultado

una atrofia total de las vellosidades intestinales, y un cuadro clínico de síndrome malabsortivo, distensión abdominal, diarrea, irritabilidad, falta de desarrollo ponderal y falta de crecimiento. Cuando se retira el gluten de la dieta, tiene lugar la remisión de este cuadro clínico (evolución clínica favorable); dicho cuadro clínico reaparece si el gluten se introduce de nuevo en la dieta<sup>1,2</sup>.

Los mecanismos de toxicidad del gluten sobre la mucosa yeyunal no son aún bien conocidos, siendo la hipótesis más aceptada que las alteraciones en las células epiteliales podrían deberse a mecanismos inmunológicos, como la citotoxicidad dependiente de anticuerpos y/o la deposición de complejos inmunes<sup>1,3,4</sup>.

El método más aceptado de diagnóstico de la EC es la biopsia de intestino delgado (BID)<sup>5</sup>. Se trata de un método invasivo y que no permite el seguimiento de la enfermedad durante el tratamiento. Durante las fases activas de la EC se han detectado anticuerpos antigliadina altamente específicos<sup>3,5,7</sup>, cuyo título disminuye al suprimir la proteína de la dieta. La detección de dichos anticuerpos (Ac) permitiría reducir el número de BID, así como el seguimiento del paciente una vez instaurada la dieta libre de gluten (DLG).

En el presente trabajo se pretende mejorar tanto el diagnóstico como el seguimiento de la EC una vez instaurada la DLG, mediante el estudio de otro parámetro inmunológico además del título de anticuerpos antigliadina.

Los fallos en el cumplimiento de la DLG podrían provocar, por su efecto de inmunización de recuerdo, un proceso de maduración de la avidéz de los anticuerpos antigliadina dependiendo de la dosis de gluten. Por otro lado, en el curso de la DLG, la posible ingestión de otros cereales con proteínas que exhiban reacción cruzada con la gliadina podría determinar que los anticuerpos así inducidos pudieran distinguirse de aquéllos inducidos por la gliadina por exhibir una avidéz menor contra la gliadina; ello podría usarse también en el seguimiento de la DLG para evaluar su cumplimiento por el paciente. Asimismo se esperaría que en los sueros en que existieran complejos inmunes circulantes específicos los títulos de anticuerpos antigliadina detectables por ELISA bajarían, pero no su afinidad, por lo que sería útil la evaluación de este último parámetro. Por esas razones, en este trabajo se estudiará la evolución tanto del título como de la avidéz de los anticuerpos antigliadina en los pacientes en tratamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Antígenos

Los antígenos utilizados fueron: gliadina cruda (Sigma, EE.UU.), caseína (Galen, Uruguay) y proteínas extraídas de los granos de avena, cebada, centeno, maíz y arroz. La solución de gliadina se preparó disolviendo esta proteína en la mínima cantidad de etanol 70 % y llevando a la concentración deseada con PBS. Las proteínas de los cereales fueron extraídas de la siguiente manera: se molió el grano y se tamizó (malla 0,14) la harina extrayéndose la proteína deseada con

etanol 70 % (100 mg harina/ml de etanol 70 %) por agitación en vórtex durante 10 minutos. Una vez clarificada por centrifugación, la solución se diluyó con PBS hasta obtener la concentración deseada. La solución de caseína se preparó disolviendo 100 mg en 1 ml de etanol 70 %, agitando el vórtex durante 10 minutos, centrifugando y llevando a la concentración deseada con PBS. En estos casos la concentración de proteína fue determinada por DO 280 utilizando en todos los casos el coeficiente de absorptividad de la gliadina ( $E_{280} 1 \text{ mg/ml ETOH } 70 \% = 0,84$ ).

### Sueros

Los sueros fueron obtenidos de los Departamentos de Gastroenterología A y B del Hospital Pereira Rossell, del Banco Nacional de Sangre y Laboratorio Central de Asignaciones Familiares (Montevideo, Uruguay) y pertenecían a pacientes con edades comprendidas entre 6 meses y 17 años a los que se diagnosticó EC y en cuya primera BID se observó atrofia vellositaria severa (AVS), a pacientes parasitados con *Giardia lamblia*, que no son celíacos, y a donantes de sangre sanos. Estos sueros se dividieron en 4 grupos: a) 12 sueros de pacientes con AVS, extraídos el día de realización de la primera BID; b) 36 sueros de pacientes con AVS extraídos una vez instaurada la DLG; c) 7 sueros de pacientes parasitados con *G. lamblia*, y d) 22 sueros de donantes sanos.

### Determinación del título de anticuerpos antigliadina

La titulación se realizó por ELISA mediante placas de microtitulación (CEB, Francia) que se sensibilizaron incubando una solución (100 µl/pocillo) de concentración saturante de antígeno (70 µg/ml)<sup>8</sup> durante 12 horas en cámara húmeda a temperatura ambiente. Posteriormente se bloqueó con 200 µl/pocillo de PBS-1 % seroalbúmina bovina (SAB) (Sigma, EE.UU.), incubando durante una hora a temperatura ambiente en cámara húmeda. Se realizaron tres lavados con PBS-0,05 % Tween 20 (PBS-T) durante 3 minutos y un lavado con PBS (5 min). Posteriormente, se incubaron 100 µl de las muestras diluidas en PBS-T con 1 % SAB (PBS-T-SAB), durante 3 horas, a temperatura ambiente, en cámara húmeda. Se lavó como se describió previamente y se agregaron 100 µl/pocillo de dilución apropiada en PBS-T-SAB de antiinmunoglobulinas humanas totales conjugadas a peroxidasa (Sigma, EE.UU.). Se incubó durante 12 horas en cámara húmeda a 4 °C.

Se repitieron los lavados y se reveló con 200 µl/pocillo de solución de sustrato MBTH, DMAB<sup>9</sup>. La reacción se detuvo por adición de 25 µl/pocillo de solución de ácido sulfúrico 2 M y luego se leyó la DO a 600 nm en un Titertek Multiskan Plus (Flow, Finlandia).

### Solución de anticuerpos antigliadina de referencia

Para la determinación del título de Ac antigliadina se utilizó como referencia una mezcla de sueros de pacientes con AVS, extraídos el día de la primera BID, cuyo título se fijó arbitrariamente en 1.600.000 U/ml.

### Determinación del índice de avidéz (Iav)

El Iav se determinó por ELISA, inhibiendo la reacción anticuerpo-antígeno en fase sólida con diferentes concentraciones de antígeno (1,6 mg/ml a 0,095 µg/ml) en solución.

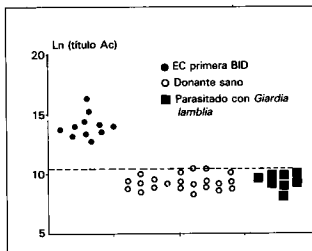


Fig. 1. Títulos de anticuerpos (Ac) antigliadina en sueros de enfermedad celiaca (EC) extraídos en la primera biopsia de intestino delgado (BID).

Para ello se incubaron en cada pocillo 50 µl de soluciones de distintas concentraciones de antígeno y se añadieron 50 µl de una dilución del suero cuya concentración fuera el doble de la que genera una DO 1,0 en ELISA. El resto del procedimiento es igual a la determinación del título de Ac por ELISA.

El lav se definió como la inversa de la concentración de antígeno que inhibe el 50 % de la reacción en ELISA.

$$I_{av} = 1/(Ag)_{50}$$

## RESULTADOS

### Título de Ac antigliadina

Se titularon por ELISA 22 sueros de donantes sanos; siete procedentes de pacientes con *G. lamblia* y 12 sueros de EC extraídos al día de la primera BID, en la que exhibieron AVS. A partir de estos datos se estableció un umbral de 35.000 U/ml por encima del cual un suero es considerado positivo. Con este umbral, tomando como referencia el diagnóstico por BID, no se observan falsos positivos, pero sí un falso negativo, en las muestras analizadas hasta el momento (fig. 1).

Los títulos de los 12 sueros de EC extraídos el día de la primera BID, en la que exhibieron AVS, oscilaron entre 29.000 y 14.000.000 U/ml (fig. 1). El seguimiento de siete de tales pacientes se realizó una vez instaurada la DLG y en cinco de ellos, que mostraron evolución clínica favorable, se observó disminución del título de Ac antigliadina (fig. 2), que incluso alcanzaron valores negativos; mientras que en los 2 pacientes que no evidenciaban esa evolución el título no disminuyó.

Simultáneamente se analizaron 26 sueros extraídos de pacientes con diferentes tiempos de DLG a los cuales no se les pudo realizar seguimiento completo por carecer de muestras seriadas (fig. 3). Diecinueve de estos sueros fueron extraídos posteriormente al año de

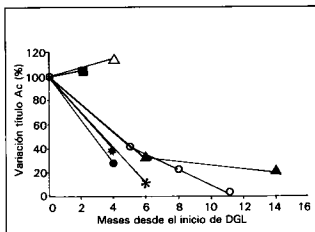


Fig. 2. Seguimiento del título de anticuerpos (Ac) antigliadina durante la dieta libre de gluten (DLG). Para cada paciente se definió como 100 % el título de su suero el día de la primera BID. Los 5 pacientes cuyo título descendió durante la DLG evidenciaron una evolución clínica favorable.

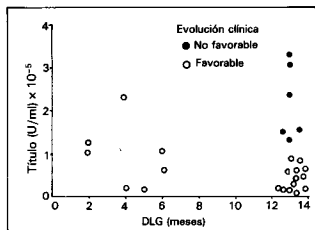


Fig. 3. Título de anticuerpos antigliadina en sueros de enfermedad celiaca con distinta evolución clínica durante la dieta libre de gluten (DLG).

iniciada la DLG. Del análisis de los títulos de estos sueros se definió un umbral de 100.000 U/ml que permite clasificarlos de acuerdo a la evolución clínica. El título de seis del total de 19 sueros fue superior a ese umbral y esos 6 pacientes no presentaban evolución clínica favorable, a diferencia de los 13 restantes.

### Evaluación de la avidez por ELISA de inhibición

El perfil de inhibición de los sueros de donantes sanos y de los parasitados con *G. lamblia* muestra que la reacción con gliadina en fase sólida de los Ac de tales sueros no es inhibible con soluciones de gliadina de concentraciones entre 0,095 µg/ml y 2,5 mg/ml (fig. 4). Al inhibir los Ac de los sueros con una solución

TABLA I Reacción cruzada con otras proteínas alimentarias

Ag fase sólida/ag en solución*	Porcentaje inhibido	n**
Gliadina/gliadina	20-40	6
Avena/avena	16-44	6
Cebada/cebada	14-50	6
Centeno/centeno	21-75	6
Arroz/arroz	0-20	4
Caseína/caseína	0-12	4
Zeína/zeína	0	4
Gliadina/avena	0-15	3
Gliadina/cebada	0-10	3
Gliadina/centeno	0-20	3

\* 100 µg/ml. \*\* Se analizaron por separado todos o algunos (n) de un grupo de 6 sueros de enfermedad celíaca con perfiles de inhibición anómalos.

de 100 µg/ml de gliadina, se observó en todos los casos una inhibición inferior al 23 % (fig. 5). En cambio, con igual concentración de gliadina se observó una inhibición superior al 23 % en todos los sueros de EC extraídos el día de la primera BID y en el 92 % del total de sueros de EC (primeras BID y DLG) (fig. 5).

Se observaron perfiles sigmoides típicos (fig. 4) en los sueros extraídos el día de la primera BID y en aquellos extraídos durante la DLG cuyo título fue superior a 500.000 U/ml. Los lav de los Ac de estos sueros tuvieron valores entre 0,05 ml/µg y 0,02 ml/µg. Mientras que los sueros de EC con DLG cuyo título fue inferior a 500.000 U/ml mostraron inhibición parcial, pero con perfiles de inhibición atípicos. Los lav para estos Ac son inferiores a 0,001 ml/µg (la mayoría de estos lav son estimados, ya que no se llegó al 50 % de inhibición en esos casos).

Estos resultados sugirieron que en esos sueros podían existir Ac dirigidos contra proteínas de otros cereales, pero con reacción cruzada con gliadina. Sin embargo, la reacción de estos últimos sueros no fue inhibida cuando se usó gliadina en la fase sólida y, como inhibidores, soluciones de las prolaminas de avena, cebada y centeno en el rango de concentración entre 60 µg/ml-4 mg/ml. En cambio si se observó inhibición cuando las prolaminas de avena, cebada y centeno se adsorbieron a la fase sólida y se inhibió su reacción utilizando soluciones de prolaminas homólogas en el rango de concentración entre 60 µg/ml-4 mg/ml. No se observó inhibición de estos sueros cuando se adsorbió caseína, zeína o la prolamina extraída del arroz a la fase sólida y se inhibió su débil reacción con soluciones de las proteínas homólogas en el rango de concentración 60 µg/ml-4 mg/ml (tabla I).

DISCUSIÓN

Se seleccionaron pacientes parasitados con *G. lamblia*, debido a su incidencia en Uruguay y a la similitud de su cuadro clínico general con el de la EC. El citado parásito produce una atrofia vellositaria moderada que, en algunos casos, podría confundirse con el patrón de BID de la EC.

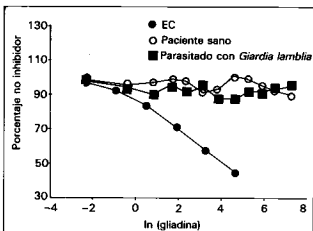


Fig. 4. Perfiles de inhibición de la reacción en ELISA de diferentes sueros, utilizando gliadina como inhibidor (In). EC: enfermedad celíaca.

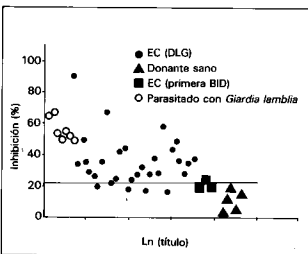


Fig. 5. Porcentajes de inhibición de la reacción en ELISA de los anticuerpos anti gliadina de diferentes sueros, utilizando una solución de 100 µg/ml de gliadina como inhibidor. EC: enfermedad celíaca; DLG: dieta libre de gluten; BID: biopsia de intestino delgado.

Los sueros de primera BID exhibieron títulos de 500.000 a 14.000.000 U/ml, excepto un falso negativo cuyo título fue 29.000 U/ml que correspondió a un paciente que también es cirrótico (fig. 1). La diferencia de título entre positivos y negativos sería notoriamente más amplia para el resto de los pacientes. En cambio, se observó que en los sueros estudiados la inhibición con 100 µg/ml de gliadina permite diferenciar mejor que por el título a los sueros negativos de los EC extraídos en la primera biopsia (fig. 5). Con este parámetro no se observó ningún falso positivo ni falso negativo pues todos los positivos exhibieron más del 23 % de inhibición. Una posible explicación del bajo título del suero falso negativo consiste en que existan complejos inmunes circulantes específicos. En ese caso

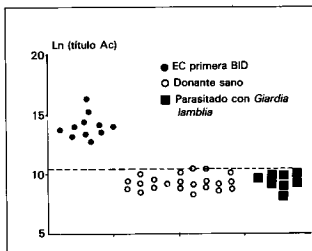


Fig. 1. Títulos de anticuerpos (Ac) antigliadina en sueros de enfermedad celíaca (EC) extraídos en la primera biopsia de intestino delgado (BID).

Para ello se incubaron en cada pocillo 50  $\mu$ l de soluciones de distintas concentraciones de antígeno y se añadieron 50  $\mu$ l de una dilución del suero cuya concentración fuera el doble de la que genera una DO 1,0 en ELISA. El resto del procedimiento es igual a la determinación del título de Ac por ELISA.

El  $I_{50}$  se definió como la inversa de la concentración de antígeno que inhibe el 50 % de la reacción en ELISA.

$$I_{50} = 1/(Ag)_{50}$$

## RESULTADOS

### Título de Ac antigliadina

Se titularon por ELISA 22 sueros de donantes sanos; siete procedentes de pacientes con *G. lamblia* y 12 sueros de EC extraídos al día de la primera BID, en la que exhibieron AVS. A partir de estos datos se estableció un umbral de 35.000 U/ml por encima del cual un suero es considerado positivo. Con este umbral, tomando como referencia el diagnóstico por BID, no se observan falsos positivos, pero sí un falso negativo, en las muestras analizadas hasta el momento (fig. 1).

Los títulos de los 12 sueros de EC extraídos el día de la primera BID, en la que exhibieron AVS, oscilaron entre 29.000 y 14.000.000 U/ml (fig. 1). El seguimiento de siete de tales pacientes se realizó una vez instaurada la DLG y en cinco de ellos, que mostraron evolución clínica favorable, se observó disminución del título de Ac antigliadina (fig. 2), que incluso alcanzaron valores negativos; mientras que en los 2 pacientes que no evidenciaban esa evolución el título no disminuyó.

Simultáneamente se analizaron 26 sueros extraídos de pacientes con diferentes tiempos de DLG a los cuales no se les pudo realizar seguimiento completo por carecer de muestras seriadas (fig. 3). Diecinueve de estos sueros fueron extraídos posteriormente al año de

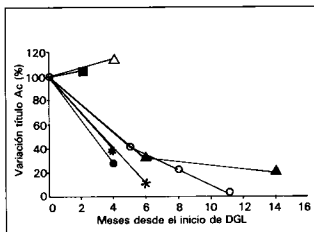


Fig. 2. Seguimiento del título de anticuerpos (Ac) antigliadina durante la dieta libre de gluten (DLG). Para cada paciente se definió como 100 % el título de su suero el día de la primera BID. Los 5 pacientes cuyo título descendió durante la DLG evidenciaron una evolución clínica favorable.

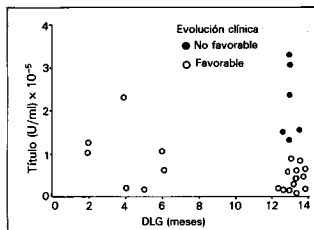


Fig. 3. Título de anticuerpos antigliadina en sueros de enfermedad celíaca con distinta evolución clínica durante la dieta libre de gluten (DLG).

iniciada la DLG. Del análisis de los títulos de estos sueros se definió un umbral de 100.000 U/ml que permite clasificarlos de acuerdo a la evolución clínica. El título de seis del total de 19 sueros fue superior a ese umbral y esos 6 pacientes no presentaban evolución clínica favorable, a diferencia de los 13 restantes.

### Evaluación de la avidéz por ELISA de inhibición

El perfil de inhibición de los sueros de donantes sanos y de los parasitados con *G. lamblia* muestra que la reacción con gliadina en fase sólida de los Ac de tales sueros no es inhibible con soluciones de gliadina de concentraciones entre 0,095  $\mu$ g/ml y 2,5 mg/ml (fig. 4). Al inhibir los Ac de los sueros con una solución

TABLA I Reacción cruzada con otras proteínas alimentarias

Ag fase sólida/ag en solución*	Porcentaje inhibido	n**
Gliadina/gliadina	20-40	6
Avena/avena	16-44	6
Cebada/cebada	14-50	6
Centeno/centeno	21-75	6
Arroz/arroz	0-20	4
Caseína/caseína	0-12	4
Zeína/zeína	0	4
Gliadina/avena	0-15	3
Gliadina/cebada	0-10	3
Gliadina/centeno	0-20	3

\* 100 µg/ml. \*\* Se analizan por separado todos o algunos (n) de un grupo de 6 sueros de enfermedad celíaca con perfiles de inhibición anómalos.

de 100 µg/ml de gliadina, se observó en todos los casos una inhibición inferior al 23 % (fig. 5). En cambio, con igual concentración de gliadina se observó una inhibición superior al 23 % en todos los sueros de EC extraídos el día de la primera BID y en el 92 % del total de sueros de EC (primeras BID y DLG) (fig. 5).

Se observaron perfiles sigmoides típicos (fig. 4) en los sueros extraídos el día de la primera BID y en aquellos extraídos durante la DLG cuyo título fue superior a 500.000 U/ml. Los lav de estos sueros tuvieron valores entre 0,05 ml/µg y 0,02 ml/µg. Mientras que los sueros de EC con DLG cuyo título fue inferior a 500.000 U/ml mostraron inhibición parcial, pero con perfiles de inhibición atípicos. Los lav para estos Ac son inferiores a 0,001 ml/µg (la mayoría de estos lav son estimados, ya que no se llegó al 50 % de inhibición en esos casos).

Estos resultados sugirieron que en esos sueros podían existir Ac dirigidos contra proteínas de otros cereales, pero con reacción cruzada con gliadina. Sin embargo, la reacción de estos últimos sueros no fue inhibida cuando se usó gliadina en la fase sólida y, como inhibidores, soluciones de las prolaminas de avena, cebada y centeno en el rango de concentración entre 60 µg/ml-4 mg/ml. En cambio sí se observó inhibición cuando las prolaminas de avena, cebada y centeno se adsorbieron a la fase sólida y se inhibió su reacción utilizando soluciones de prolaminas homólogas en el rango de concentración entre 60 µg/ml-4 mg/ml. No se observó inhibición de estos sueros cuando se adsorbió caseína, zeína o la prolamina extraída del arroz a la fase sólida y se inhibió su débil reacción con soluciones de las proteínas homólogas en el rango de concentración 60 µg/ml-4 mg/ml (tabla I).

## DISCUSIÓN

Se seleccionaron pacientes parasitados con *G. lamblia*, debido a su incidencia en Uruguay y a la similitud de su cuadro clínico general con el de la EC. El citado parásito produce una atrofia vellositaria moderada que, en algunos casos, podría confundirse con el patrón de BID de la EC.

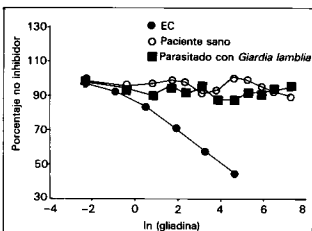


Fig. 4. Perfiles de inhibición de la reacción en ELISA de diferentes sueros, utilizando gliadina como inhibidor (ln). EC: enfermedad celíaca.

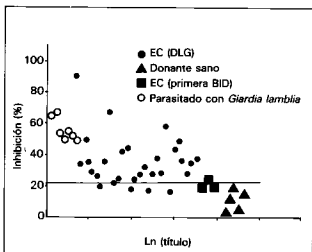


Fig. 5. Porcentajes de inhibición de la reacción en ELISA de los anticuerpos antigliadina de diferentes sueros, utilizando una solución de 100 µg/ml de gliadina como inhibidor. EC: enfermedad celíaca; DLG: dieta libre de gluten; BID: biopsia de intestino delgado.

Los sueros de primera BID exhibieron títulos de 500.000 a 14.000.000 U/ml, excepto un falso negativo cuyo título fue 29.000 U/ml que correspondió a un paciente que también es cirrótico (fig. 1). La diferencia de título entre positivos y negativos sería notoriamente más amplia para el resto de los pacientes. En cambio, se observó que en los sueros estudiados la inhibición con 100 µg/ml de gliadina permite diferenciar mejor que por el título a los sueros negativos de los EC extraídos en la primera biopsia (fig. 5). Con este parámetro no se observó ningún falso positivo ni falso negativo pues todos los positivos exhibieron más del 23 % de inhibición. Una posible explicación del bajo título del suero falso negativo consiste en que existan complejos inmunes circulantes específicos. En ese caso

se puede esperar que la afinidad estuviera menos afectada que el título.

Para el seguimiento de los EC, se estudió la evolución del título de Ac anti gliadina, así como la variación de su avidéz. El título de Ac disminuyó con el cumplimiento de la DLG, llegando hasta valores negativos (fig. 2). Esto es consistente con los datos de EC sometidos a más de un año de DLG cuyo título fue superior a 100.000 U/ml. Estos exhibieron una evolución clínica desfavorable y, de acuerdo con sus títulos, es posible que hayan transgredido la dieta (fig. 3).

Existe un 54 % de esos sueros cuyos títulos son positivos (mayor de 35.000 U/ml) pero inferiores a 100.000 U/ml, lo que sugiere la existencia de trazas de gliadina en la dieta que no llegan a producir síntomas clínicos. Los resultados obtenidos con las otras prolaminas sugieren que efectivamente el tóxico fue la gliadina. Asimismo, estos resultados indican que el inmunodiagnóstico ofrece mayor sensibilidad para seguir la evolución del EC comparado con la observación clínica.

Durante el seguimiento de los EC se observó disminución de avidéz en pacientes que presentaban evolución clínica favorable, lo que ocurrió paralelamente a la disminución del título. No obstante, en EC que no presentaban esa evolución (posible transgresión de la dieta) no se observó aumento de la avidéz, sugiriendo que los estímulos antigénicos repetidos no generaron una maduración de avidéz. Sin embargo, el 92 % de todos los sueros de EC (primera BID y durante DLG) exhibieron más del 23 % de inhibición con 100 µg/ml de gliadina, mientras que sólo el 77 % de esos sueros tuvieron títulos superiores a 35.000 U/ml.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, el título de Ac anti gliadina determinado por ELISA y el porcentaje de inhibición de su reacción mediante una solución de 100 µg/ml de gliadina correlacionan con los resultados de la BID y con la evolución de los síntomas clínicos observada.

El título de Ac sería el parámetro más apropiado para el seguimiento de la enfermedad, lo que permitiría detectar posibles transgresiones de la dieta.

En general, se puede concluir que existe paralelismo entre el estado clínico de los EC y los parámetros inmuoquímicos estudiados, verificándose la utilidad de

completar el diagnóstico con la determinación del porcentaje de inhibición obtenible con 100 µg/ml de gliadina como una evaluación simple de la avidéz.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a los Departamentos de Gastroenterología A y B del Hospital Pereira Rossell (Montevideo, Uruguay) por habernos proporcionado los sueros de EC y los datos clínicos de estos pacientes, así como el Servicio Nacional de Sangre (Montevideo) y al Departamento de Análisis Clínicos del Laboratorio Central de Asignaciones Familiares (Montevideo). Asimismo, agradecen la valoración crítica de la QF Cecilia Fernández.

#### Bibliografía

1. Cooke WT, Homles GK. Coeliac disease, inflammatory bowel disease, and food intolerance. En: Lessof M, ed. *Clinical Reactions to Food*. Londres, John Wiley and Sons, 1983; 181-205.
2. Freedman A, Giovani G, Gal E, Ellis J, Ciclitira P. Detection of wheat gliadin contamination of gluten-free foods by a monoclonal antibody dot immunobinding assay. *Clin Chim Acta* 1987; 166:323-328.
3. Menzel J. Radioimmunoassay for anti gliadin-antibodies using <sup>14</sup>C-labelled gliadin. *J Immunol Methods* 1977; 18:257-268.
4. Maury CPJ, Teppo AM. Demonstration of tissue 90 kD glycoprotein as antigen in circulating IgG immune complexes in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Lancet* 1984; 2:892-894.
5. Dinari G, Rosenbach Y, Marcus H, Nitzan M, Zahavi I. IgA anti gliadin antibodies in childhood coeliac disease. *Isr J Med Sci* 1988; 24:286-290.
6. Levenson S, Raleigh K, Dietler M, Kasarda D, Kagnoff M. Specificity of anti gliadin antibody in coeliac disease. *Gastroenterology* 1985; 89:1-5.
7. Troncone R, Pignata C, Farris E, Ciccimarra FA. Solid-phase radioimmunoassay for IgG gliadin antibodies using <sup>125</sup>I-labelled saphylococcal protein A. *J Immunol Methods* 1983; 63:163-170.
8. Nieto A, Gaya A, Moreno C, Vives J. Nuevo método para determinar la absorción de proteínas a las placas de poliestireno usadas en ELISA. *Inmunología* 1984; 3:25-28.
9. Ngo TT, Lenhoff H. A sensitive and versatile chromogenic assay for peroxidase and peroxidase-coupled reactions. *Analyt Biochem* 1980; 105:389-397.