

Insuficiencias metodológicas lastran el diagnóstico de la enfermedad celiaca

Methodological shortage hampers the diagnostic of celiac disease

Gissel García Menéndez^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-9851-2041>

Mabel. Andrade Ruiseco² <https://orcid.org/0000-0003-4714-1030>

Mayerly Valbuena Rodríguez² <https://orcid.org/0000-0003-3504-118X>

Beatriz Alfonso Gonzalez² <https://orcid.org/0000-0002-4718-6784>

Bisleydis Hernández Acea¹ <https://orcid.org/0000-0003-4064-4276>

Elena Kokuina¹ <https://orcid.org/0000-0002-3651-7445>

Luis Fonte Galindo³ <https://orcid.org/0000-0002-4980-4435>

¹Hospital Clínicoquirúrgico “Hermanos Ameijeiras”, Departamento Genética Molecular. La Habana, Cuba.

²Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”, Departamento Medios Diagnósticos. La Habana, Cuba.

³Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, Departamento de Parasitología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: gisselgarcia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La enfermedad celiaca es el resultado de una sensibilidad permanente al gluten. Puede conducir principalmente a trastornos intestinales. Cuatro criterios son utilizados para el diagnóstico de esta enfermedad: clínicos, histológicos, serológicos y moleculares. La insuficiente utilización de estos criterios conduce a falsos diagnósticos de dicha enfermedad.

Objetivo: Demostrar la existencia de falsos diagnósticos de enfermedad celiaca cuando no se utilizan las herramientas necesarias para ello.

Métodos: Se estudiaron 46 niños que fueron remitidos al Servicio de Genética Molecular del Hospital “Hermanos Ameijeiras” con diagnóstico de enfermedad celiaca basado en criterios clínicos e histopatológicos. Para completar los procedimientos diagnósticos, a cada paciente se le determinó anticuerpos antitransglutaminasa previa ingesta de gluten, y los alelos HLA DQ2 y HLA DQ8. Se consideraron pacientes con enfermedad celiaca aquellos casos que cumplieron los cuatro criterios.

Resultados: De los 46 pacientes, trece (28,3 %) fueron negativos a los alelos HLA DQ2/HLA DQ8, lo que niega estén padeciendo de enfermedad celiaca; ocho (17,39 %) fueron positivos a los alelos HLA y negativos a la presencia de anticuerpos, lo que también niega la enfermedad. Es decir, 21 (45,7 %) eran falsos diagnósticos de enfermedad celiaca. Los 25 (54,3 %) restantes, además de los criterios con que fueron remitidos, cumplieron los serológicos (positividad a anticuerpos antitransglutaminasa) y moleculares (positividad para moléculas HLA DQ2/HLADQ8).

Conclusiones: Para un diagnóstico de certeza de enfermedad celiaca es necesario, además de las herramientas clínicas e histopatológicas utilizadas en la red de hospitales pediátricos del país, el uso de procedimientos serológicos y moleculares.

Palabras clave: enfermedad celíaca; anticuerpos antitransglutaminasa tisular; HLA-DQ; diagnóstico.

ABSTRACT

Introduction: Celiac disease is caused by a permanent sensitivity to gluten, which results mainly in functional disorders of the small intestine. To successfully diagnose celiac disease, it is necessary to properly convey four criteria: clinic, histological, serological and molecular. The insufficient utilization of them in the medical practice could conduce to false diagnosis of celiac disease.

Objective: To demonstrate the occurrence of mistaken diagnoses of celiac disease when the four criteria are not properly addressed.

Methods: Forty-six children were diagnosed with celiac disease based on clinical and histopathological criteria and remitted to the “Hermanos Ameijeiras” Hospital’s Molecular Genetics service. In order to complete the serological and molecular diagnosis procedure, there were detected antitransglutaminase antibodies after gluten ingestion, and HLA DQ2/HLA DQ8 alleles in every child. Individuals who met the four criteria were considered celiac disease patients.

Results: The analysis of 46 patients showed that 13 (28.3%) were negative to the presence of both alleles HLA DQ2/HLA DQ8, and hence negative for celiac disease diagnosis. Eight patients (17.39%) were HLA DQ2/HLA DQ8 positive and antitransglutaminase antibodies negative, so they were considered as negative for diagnosis of celiac disease. According to our results, 21 patients (45.7%) were mistakenly diagnosed. The remaining 25 patients (54.3%) were positive for all diagnosis criteria.

Conclusions: In order to successfully diagnose of celiac disease, in addition to clinical and histopathological tools used in the network of pediatrics hospitals in the country, it is necessary to include the serological and molecular method.

Keywords: celiac disease; antitransglutaminase antibodies, HLA DQ; diagnosis.

Recibido: 02/07/2019

Aceptado: 26/07/ 2019

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celiaca (EC) es el resultado de una sensibilidad permanente al gluten, que puede conducir a trastornos de funcionamiento del intestino delgado y a afectaciones de otros órganos. Esta entidad, que solo tiene lugar en individuos que portan las moléculas HLA DQ2 o HLA DQ8, se caracteriza por la presencia de elevados títulos de autoanticuerpos antitransglutaminasa (antiTGt), el desarrollo de una enteropatía inflamatoria con varios grados de severidad y la eventual ocurrencia de manifestaciones extraintestinales.^(1,2,3)

La EC es cosmopolita, con una prevalencia aproximada de 1 % en niños. De forma similar a lo que se ha registrado en Europa, la prevalencia en Latinoamérica es de 0,75 al 1 %, con mayor incidencia en países como Brasil, Uruguay y Argentina y se incrementa en individuos que poseen un familiar de primer grado con EC.^(4,5)

Al diagnóstico de EC se arriba con criterios de cuatro tipos: clínicos (manifestaciones digestivas de diverso tipo tras ingestión de gluten),^(6,7) histopatológicos (basados en la clasificación de March modificada),^(8,9) las pruebas serológicas (determinación de anticuerpos antitransglutaminasa tisular (Acs antiTGt))⁽¹⁰⁾ y los marcadores genéticos (HLA DQ2/HLA DQ8).⁽¹¹⁾

En el diagnóstico de EC en la red de salud cubana regularmente se emplean los dos primeros. Los dos restantes solo están disponibles en unidades asistenciales más especializadas. La no disponibilidad de todas las herramientas necesarias para el acertado diagnóstico de EC puede conducir a falsos diagnósticos de esta entidad.

Por las razones antes expuestas, es la intención de este trabajo demostrar la existencia de falsos diagnósticos de EC cuando se utilizan insuficientemente las herramientas necesarias para ello.

MÉTODOS

Diseño general del estudio

Se realizó un estudio de corte transversal y de fines descriptivos a niños provenientes de la Consulta Externa de Gastroenterología del Hospital Pediátrico Universitario "William Soler" (enero 2017-septiembre 2018), con manifestaciones clínicas sugestivas de EC y criterios histopatológicos de esta. Para obtener información adicional sobre aspectos clínicos y exámenes complementarios realizados se revisaron las correspondientes historias clínicas. Para completar el diagnóstico de EC se le practicaron, en el Servicio de Genética Molecular del Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras", los exámenes serológicos (determinación de anticuerpos antitransglutaminasa) y moleculares (determinación de las moléculas HLA DQ2-DQ8) necesarios.⁽¹²⁾ Se excluyeron del estudio los participantes cuyos padres no firmaron el correspondiente consentimiento informado y los que, por diversas causas, no completaron todas las pruebas diagnósticas.

Muestras biológicas

Para la realización del estudio se obtuvieron de cada paciente muestras de suero y sangre total con EDTA como anticoagulante. La primera para la determinación de Acs anti TGt, y la segunda para la extracción del ADN genómico y a partir de este ADN, realizar el estudio molecular.

Determinación de anticuerpos IgA antitransglutaminasa (AntiTGt)

Los anticuerpos IgA anti-TGt se determinaron mediante el método colorimétrico de inmunodifusión (Heber Fast) Line siguiendo las normas del fabricante.⁽¹³⁾

Determinación de las moléculas HLA DQ2-DQ8

Para la determinación de los alelos HLA DQ asociados a EC se extrajo el ADN a partir de sangre total colectada en tubo con EDTA como anticoagulante. El ADN se aisló por método automatizado (MagNaPure LC 2.0, Roche, Alemania). La determinación de las moléculas HLA se llevó a cabo mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (PCR-TR) con el empleo del estuche comercial GENVINSET HLA CELIAC en un termociclador Cobas z 480, Alemania

Los resultados se analizaron mediante procedimientos estadísticos descriptivos (frecuencia y porcentaje), empleando para ello el paquete estadístico SPSS V20.

Consideraciones éticas

El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación en Salud y el Consejo Científico del Hospital Pediátrico "William Soler". Se tuvieron en cuenta las regulaciones internacionales para investigaciones en los seres humanos con fines diagnósticos y terapéuticos, establecido en la Declaración de Helsinki, Fortaleza, Brasil, 2013.⁽¹⁴⁾ El consentimiento informado se obtuvo de cada padre o tutor del paciente.

RESULTADOS

Participaron en el estudio 46 (90,2 %) niños de las 51 que constituían el universo de los infantes durante el periodo en el que se realizó la pesquisa (se excluyeron 5 menores, 3 porque sus respectivos padres no manifestaron su anuencia, 2 porque por diversas causas no se les pudo completar los procedimientos diagnósticos necesarios).

Como puede observarse en la figura, 30 (65,2 %) pacientes fueron positivos a anticuerpos antiTGt y 16 (34,8 %) negativos a estos. La determinación de los marcadores genéticos HLA DQ2/HLADQ8 evidenció que de los 46 (28,3 %) pacientes, 13 fueron negativos a los alelos HLA DQ2/HLA DQ8, lo que niega que estén padeciendo de EC; ocho (17,39 %) fueron positivos a los alelos HLA y negativos a la presencia de anticuerpos, lo que también niega la enfermedad. Es decir, 21(45,7 %) eran falso diagnóstico de EC. Los 25 (54,3 %) pacientes restantes cumplieron, además de los criterios con que fueron remitidos (clínicos e histopatológicos), los criterios serológicos y moleculares que formaron parte de este estudio (Fig.).

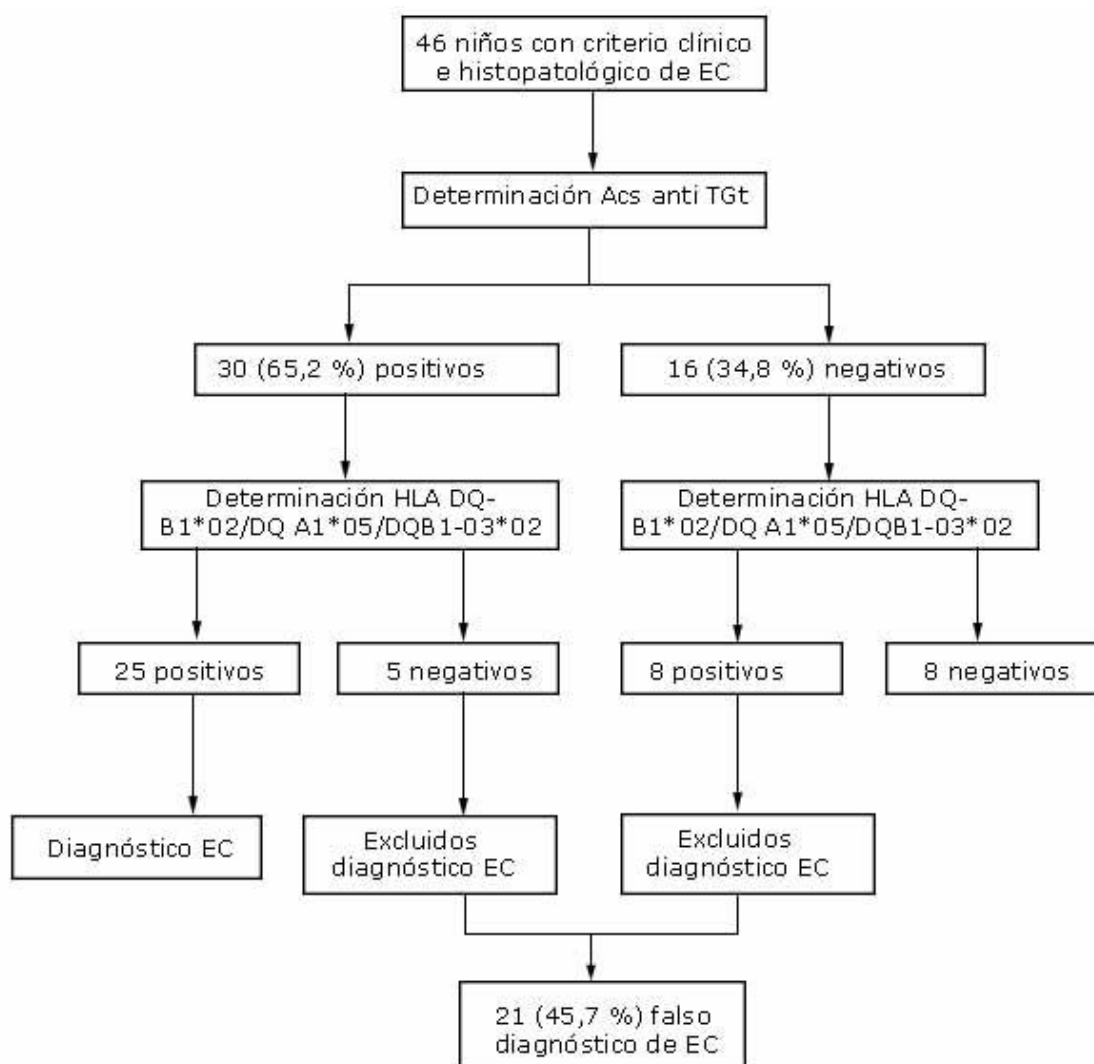


Fig. - Resultados de exámenes adicionales (serológicos y moleculares) y algoritmo diagnóstico empleado en el estudio de 46 niños, previamente considerados pacientes de EC con la sola utilización de criterios clínicos e histopatológicos.

DISCUSIÓN

El estudio histológico de la mucosa intestinal ha sido considerado durante mucho tiempo la regla de oro para el diagnóstico de EC;⁽¹⁵⁾ sin embargo, ha sido demostrado en diversos estudios, que el diagnóstico por biopsias está sujeto a un grado significativo de variabilidad.^(16,17,18)

El diagnóstico serológico (determinación de IgA antiTGt) confirmó la positividad en 30 de los 46 pacientes (65,3 %). Este criterio es considerado, según las guías más recientes de la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición (ESPGAn)⁽¹²⁾ y las Guías

Clínicas del Colegio Americano de Gastroenterología,⁽⁵⁾ como la prueba principal para el diagnóstico de EC en niños mayores de 2 años de edad.

En nuestro estudio empleamos el método colorimétrico Herber Fast Line, Cuba, ensayo inmuno-cromatográfico de evaluación visual.^(5,13) Estos ensayos tienen como ventaja su fácil realización, rapidez en la obtención del resultado y bajo costo.^(10,13)

La determinación molecular permitió excluir al 45,7 % (n= 21) de los casos del diagnóstico presuntivo de EC. Se plantea que la gran mayoría de los pacientes con EC (90-95 %), portan el heterodímero HLA DQ2 (DQA1*05 y DQB1*02, mientras que el resto de los pacientes (5-10 %) portan el HLA DQ8 (DQB1*0302). El impacto clínico más importante es cuando el resultado es negativo, ya que la ausencia de HLA-DQ2-DQA1*05-DQB1*02 y HLA-DQ8-DQB1*0302 excluye completamente el diagnóstico de EC (valor predictivo negativo 100 %).⁽¹⁹⁾

Es interesante que en 58,7 % (n= 27) de la muestra se detectó la infección duodenal por *G. lamblia*. La presencia de este protozoo en la mucosa intestinal puede interferir en el diagnóstico de dos maneras: Dar lugar a cuadros histológicos que remeden los producidos por EC y, con ello, conducir a un falso diagnóstico de esta entidad⁽²⁰⁾ y por otra parte, la presencia del parásito puede provocar la inducción de los Acs antiTGt de manera inespecífica,⁽¹²⁾ lo que explicaría los 5 casos positivos a la serología en ausencia de HLA-DQ2-DQA1*05-DQB1*02 y HLA-DQ8-DQB1*0302.

Se concluye que el presente trabajo demostró que para un diagnóstico eficaz de EC son necesarios, además de las herramientas clínicas e histopatológicas utilizadas regularmente en nuestra red de salud, procedimientos serológicos y moleculares que complementen a aquellas.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Lic. *José Luis Caro* y Dr. *Francisco Vidal* del Banco de Sangre y Tejidos de Cataluña por la donación del estuche comercial GenVinSet para la determinación de los alelos HLA DQ. Agradecemos al Dr *Alexander Ortega Carballosa* del Departamento de Genética Molecular, Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras” por el transporte y apoyo para la realización de este diagnóstico en dicho centro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guandalini S, Assiri A. Celiac Disease: A Review. *Clin Rev Educat.* 2014;168(3).
2. Lindfors K, Ciacci C, Kurppa K, Lundin KEA, Makharia GK, Mearin ML, et al. Coeliac disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2019;5(1):3.
3. Tovoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G, Paterini P, Bolondi L. Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World J ClinCases.* 2015;3(3):275-84.
4. Catassi C. El mapa mundial de la enfermedad celíaca. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 2005;35(1):46-55.
5. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA; American College of G. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am Gastroenterol.* 2013;108(5):656-77.
6. Lau MS, Sanders DS. Optimizing the diagnosis of celiac disease *Curr Opin Gastroenterol.* 2017;33(3):173-80.
7. Méndez C, Carrasco M, Mora B, M. A. Caracterización de la enfermedad celiaca en niños atendidos en hospitales públicos chilenos. *Rev chilena Pediatr.* 2018;89(6):709-17.
8. Dhroove G, Saps M, Garcia-Bueno C, Leyva Jiménez A, Rodriguez-Reynosa LL, Velasco-Benítez CA. Prevalencia de trastornos gastrointestinales funcionales en escolares mexicanos. *Rev Gastroenterol México.* 2017;82(1):13-8.
9. Polanco I, Montoro M, Fernández F, Arranz E. Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celiaca. Gobierno de Canaria, España:Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS); 2018.
10. Screening of coeliac disease. *Lancet.* 2002;359(9310):945-6.
11. Selleski N, Almeida LM, Almeida FC, Gandolfi L, Pratesi R, Nóbrega YK. Simplifying Celiac Disease Predisposing HLA-DQ Alleles Determination by the Real Time PCR Method. *Arq Gastroenterol.* 2015;52(2):143-6.
12. Hill ID, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg E, Levy J, Reilly N, et al. NASPGHAN Clinical Report on the Diagnosis and Treatment of Gluten-related Disorders. *J Pediatric Gastroenterol Nutrit.* 2016;63(1):156-65.
13. Galván JA, Acevedo B, Novoa LI, Palenzuela D, Rubí JA, Torres E, et al. Desarrollo, validación y registro del sistema Hebreas Line® antitransglutaminasa. Contribución al diagnóstico de la enfermedad celiaca en Cuba. *Biotechnol Aplicada.* 2008;25(1):62-5.

14. Asociación Médica Mundial- Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres. Washington: AMA ;2019. Acceso: 07/05/2019. Disponible en: <http://repositorio.mederi.com.co/bitstream/handle/123456789/386/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf?sequence=1>
15. Husby S, Murray JA, Katzka DA. AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Monitoring of Celiac Disease 2014; Changing Utility of Serology and Histologic Measures: Expert Review. *Gastroenterol.* 2019;156(4):885-9.
16. Mubarak A, Nikkels P, Houwen R, Ten Kate F. Reproducibility of the histological diagnosis of celiac disease. *Scandinav J Gastroenterol.* 2011;46(9):1065-73.
17. Lebwohl B, Rubio-Tapia A, Assiri A, Newland C, Guandalini S. Diagnosis of celiac disease. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America.* 2012;22(4):661-77.
18. Zhu J, Mulder CJJ, Dieleman LA. Celiac Disease: Against the Grain in Gastroenterology. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology.* 2018;20(5):243-50.
19. Castillo NE, Theethira TG, Leffler DA. The present and the future in the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterol Report.* 2015;3(1):3-11.
20. Moscoso F, Quera R. Enfermedad Celiaca: Revision. *Rev Med Clin Condes.* 2015;26(5):612-27.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de ningún tipo.

Declaración de contribución autoral

Gissel García Menéndez: diseño general del estudio, realización de pruebas genéticas, análisis de resultados, redacción del primer borrador del manuscrito y de la versión final del documento.

Mabel Andrade Ruiseco: recogida de datos clínicos e histopatológicos. Determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa. Análisis de resultados. Revisión de la versión final del documento.

Mayerly Valbuena Rodríguez: recogida de datos clínicos e histopatológicos. Revisión de la versión final del documento.

Beatriz Alfonso González: Estudio histopatológico: Recogida de datos histopatológicos. Revisión de la versión final del documento.

Bisleydis Hernández Acea: recogida de datos. Procesamiento de muestras para extracción del ADN.

Elena Kokuina: determinación de anticuerpos antitransglutaminasa. Revisión de la versión final del documento.

Luis Fonte Galindo: diseño general del estudio, análisis de resultados, revisión y corrección del primer borrador del manuscrito, revisión de la versión final del documento.