

DETECCIÓ DE PÈPTIDS IMMUNOGÈNICS DEL GLUTEN EN FEMTA I/O ORINA PER AL SEGUIMENT DE L'ADHERÈNCIA A LA DIETA SENSE GLUTEN

La malaltia celíaca és una alteració crònica d'origen autoimmunitari caracteritzada per una intolerància permanent a les proteïnes del gluten (barreja de proteïnes present en cereals com el blat, l'ordi, el sègol i certes varietats de civada) (1, 2). Apareix en persones genèticament predisposades i afecta tant a nens com a adults. Té una prevalença mitjana en la població d'1:133, essent més freqüent en nens, on la prevalença augmenta a 1:71 (1, 2 i 3).

La malaltia celíaca afecta l'intestí prim, provocant l'atròfia de les vellositats intestinals, el que interfereix en l'absorció de nutrients com ara proteïnes, greixos, hidrats de carboni, sals minerals i vitamines. No només afecta l'intestí, sinó que és una malaltia sistèmica que pot causar lesions a la pell, a les articulacions, al cervell i a altres òrgans.

Actualment, l'eliminació de gluten de la dieta és l'única manera de controlar la celiaquia (4). En la majoria dels pacients, l'evitació estricta del gluten provoca una remissió simptomàtica, serològica i histològica. Tot i que la majoria dels pacients tractats que compleixen la dieta sense gluten (DSG) són asimptomàtics, fins al 40% dels pacients en DSG segueixen presentant símptomes (5). En aquest context, la persistència del consum de gluten o l'exposició accidental a l'antigen es considera el principal factor responsable (6, 7, 8). Per altra banda, en els pacients asimptomàtics en DSG que presenten una normalització de la serologia, no sempre se'ls fa una valoració de la correcta adherència a la dieta i la majoria de les guies clíniques no reforcen la necessitat de controlar-ne el correcte compliment.

L'estricta adherència a la DSG és essencial tant per reduir els símptomes de la malaltia com per evitar deficiències nutricionals, reduir el risc de complicacions associades a la malaltia i millorar la qualitat de vida dels pacients. No obstant, d'acord amb diferents estudis, la transgressió de la dieta, ja sigui voluntària o involuntàriament, és freqüent entre els pacients celíacs (32,6-55,4%), sobretot en adults (9).

Actualment no hi ha un mètode directe per monitoritzar l'adherència a la DSG, i les avaluacions es basen en la presència de símptomes, qüestionaris dietètics i/o en els resultats de les proves serològiques (10, 11, 12). L'ús dels anticossos anti-transglutaminasa tissular o anti-gliadina desaminada (IgA o IgG) com a marcadors de seguiment de la DSG és un mètode indirecte i poc efectiu ja que no són sensibles a les transgressions puntuals de la dieta i poden tardar mesos o fins i tot més d'un any en observar-se una reducció dels nivells dels mateixos, essent difícil la predicció de la

Catlab Informa

recuperació en base a les proves serològiques. A més, els nivells d'aquests marcadors serològics sovint no tenen relació amb l'estat de les vellositats intestinals (13, 14, 15).

Recentment s'han desenvolupat assaigs quantitatius (ELISA) i proves qualitatives d'immunocromatografia per a mostres d'orina i femta que determinen el consum de gluten mitjançant l'avaluació de l'excreció de pèptids immunogènics del gluten (GIP) (14, 16). Els GIP són fragments de les proteïnes del gluten que són resistents a la digestió gastrointestinal i participen en la reacció autoimmunitària que es dona en el pacient celíac. La resistència d'aquests pèptids del gluten a la digestió gastrointestinal assegura que una part significativa dels GIP ingerits siguin excretats a través de la femta i l'orina. La recuperació de quantitats mesurables de GIP en mostres de femta i/o orina constitueix una evidència específica del consum de gluten, proporcionant un marcador precís, directe i molt útil per al control de la DSG a curt i llarg termini (17).

Aquest marcador és d'especial utilitat en el control de la DSG en pacients celíacs, però també en aquells pacients amb sensibilitat al gluten no celíaca, amb al·lèrgia al gluten o en el control de la DSG en trastorns relacionats amb el gluten com l'esofagitis eosinofílica o la duodenitis limfocítica, entre altres patologies.

A més a més, la detecció de GIP és una eina per al correcte diagnòstic de la celiaquia refractària, i en altres casos complexos de diagnòstic de malaltia celíaca quan és necessari un seguiment clínic de la dieta.

A Catlab s'ha incorporat recentment la prova de detecció de GIP en femta mitjançant un test ràpid d'immunocromatografia. En concret, el test detecta els pèptids equivalents al 33-mer de l' α -gliadina, el pèptid més immunogènic del gluten, que produeixen reactivitat amb l'anticòs monoclonal anti-33-mer α -gliadina G12 que utilitza el test per a la seva detecció (18). Per a la realització del test, en primer lloc cal extreure el gluten de la mostra de femta, essent aquest un dels punts més crítics. Després d'aquesta etapa d'extracció, es procedeix a la detecció del GIP per immunocromatografia.

Per a la realització de la prova cal recollir com a mínim 1-2 g o mL (per a mostres líquides) de femta en un recipient net i sec, sense additius ni conservants químics afegits. S'ha d'impedir que la mostra es posi en contacte amb l'orina o l'aigua del vàter. Un cop recollida la mostra de femta, s'ha de transportar al laboratori en un termini de 8 hores. Si la mostra no es porta al laboratori en el termini indicat, s'han de congelar a -20°C fins a l'enviament.

El límit de detecció del test és de $0,15 \mu\text{g GIP/g}$ de mostra i la sensibilitat diagnòstica és del 97%. Aquesta prova és capaç de detectar específicament la presència en femta de la fracció tòxica, per als celíacs, de prolamines del blat (gliadina), del sègol (secalina), de l'ordi (hordeïna) (1), i també, de quantitats suficientment altes de civada (avenina). No

Catlab Informa

obstant, no s'observa positivitat quan els individus consumeixen arròs, blat de moro, blat sarraí, soja, mill, quinoa o amarant, de manera que la prova no presenta interferències amb aquests ingredients sense gluten i, per tant, segurs per als celíacs. Fins al moment no s'han registrat falsos positius, essent l'especificitat diagnòstica del test de 100%.

Mireia Fonolleda

Immunologia

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 - ext. 35035 / 628 16 85 00

mfonolleda@catlab.cat

www.catlab.cat

REFERÈNCIES

1. SHAN L., et al.; "Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue"; Science; 2002; 297: 2275-9.
 2. COMINO I., et al.; "Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity"; Gut; 2011; 60: 915-922.
 3. MARINÉ et al.; "The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults". Alimentary Pharmacology Therapeutics; 2011; 33:477-486.
 4. GREEN PH, et al.; "Celiac disease"; N Engl J Med; 2007; 357:1731–1743.
 5. LUDVIGSSON et al.; "Coeliac Disease Guidelines Development Group; British Society of Gastroenterology. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology"; Gut; 2014; 63:1210–1228.
 6. BAI JC et al.; "World Gastroenterology Organization Global Guidelines: Celiac Disease February 2017"; J Clin Gastroenterol.; 2017; 51:755–768.
 7. LEFFLER DA, et al.; "Etiologies and predictors of diagnosis in nonresponsive celiac disease"; Clin Gastroenterol Hepatol.; 2007; 5:445–450.
 8. RUBIO-TAPIA A, et al.; "American College of Gastroenterology clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease"; Am J Gastroenterol.; 2013; 108:656–76.
 9. SILVESTER J. A., et al.; "Long-term follow-up of individuals with celiac disease: an evaluation of current practice guidelines"; Canadian Journal of Gastroenterology; 2007; 21: 557-564.
-

Catlab Informa

10. MORENO ML, et al.; “Biomarkers to Monitor Gluten-Free Diet Compliance in Celiac Patients”; *Nutrients*; 2017; 9.
 11. MAHADEV S, et al.; “Factors associated with villus atrophy in symptomatic coeliac disease patients on a gluten-free diet”; *Aliment Pharmacol Ther.*; 2017; 45:1084–1093.
 12. LEBWOHL B, et al.; “Predictors of persistent villous atrophy in coeliac disease: a population-based study”; *Aliment Pharmacol Ther.* 2014; 39:488–495.
 13. WALKER M. M., et al.; “An update in the diagnosis of coeliac disease”; *Histopathology*; 2011; 59: 166-179.
 14. COMINO I., et al.; “Fecal Gluten Peptides Reveal Limitations of Serological Tests and Food Questionnaires for Monitoring Gluten-Free Diet in Celiac Disease Patients”; *Am. J. Gastroenterol*; 2016;111:1456–1465.
 15. SHARKEY et al.; “Optimization delivery of care in coeliac disease – comparison of the benefits of repeat biopsy and serological follow-up”; *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*
 16. MORENO ML, et al.; “Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing”; *Gut*; 2017; 66:250–257.
 17. MORÓN B, et al.; “Toward the Assessment of Food Toxicity for Celiac Patients: Characterization of Monoclonal Antibodies to a Main Immunogenic Gluten Peptide”; 2008; *PLoS ONE* 3:e2294.3.
 18. COMINO I., et al.; “Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces”; *The American journal of clinical nutrition*; 2012; 95: 670-677.
-