



Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



SESIÓN 5: DIAGNÓSTICO

Pruebas de provocación controladas en el diagnóstico diferencial de la enfermedad celíaca*

Luis Fernández-Salazar, Celia Escudero-Hernández, Guillermo González-Redondo, Violeta Ruipérez, José Antonio Garrote y Eduardo Arranz

Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España
Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España
IBGM, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Valladolid, España

La sobrecarga con gluten o prueba de provocación (PP) es un procedimiento que formaba parte de los criterios diagnósticos originarios de la enfermedad celíaca (EC) en los niños que habían mejorado con la dieta sin gluten (DSG). La reintroducción del gluten en la dieta inducía la reaparición de los síntomas o de la lesión histológica en la mucosa intestinal y así se confirmaba el diagnóstico. La aparición de las técnicas serológicas permitió que poco a poco se pudiese ir prescindiendo de este procedimiento, que en adultos nunca fue muy utilizado.

La EC se caracteriza por una serie de anomalías más o menos cuantificables como son los síntomas que refiere el paciente, la presencia en sangre o en la mucosa intestinal de anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-TGt) o antigliadina desaminada, el reclutamiento de linfocitos T procedentes de la mucosa intestinal y su paso a la sangre, o cambios en la estructura de la mucosa duodenal que van desde un infiltrado linfocitario intraepitelial (medible con inmunohistoquímica o citometría de flujo) hasta la atrofia de las vellosidades. La mayoría de estos cambios se resuelven o, por lo menos, se reducen con la DSG. La PP in vivo consiste en exponer al paciente celíaco de nuevo al gluten, bien sea mediante el reinicio de una dieta normal, con el consumo de una cantidad controlada de gluten diaria con un tipo determinado de pan, o de harina o de otras maneras. De esta forma se induce la reaparición de estas anomalías cuantificables con mayor o menor facilidad. La metodología de la PP se ha descrito empleando una cantidad de

gluten diaria y una duración de la prueba variables. Para evitar las molestias y la mala tolerancia se proponen PP cortas de incluso 3 días con técnicas que permitan detectar cambios precoces.

La PP puede hacerse también in vitro estimulando, con gliadina o péptidos inmunogénicos del gluten, cultivos de explantes o células mononucleares de la biopsia o de sangre periférica y comprobando la respuesta a este estímulo, bien sea al producirse una mayor expresión de anti-TGt, de receptores CD3, HLA-DR o, como veremos luego, mayor síntesis de citocinas como el interferón gamma.

Recientemente se ha descrito la sensibilidad al gluten (o al trigo) no celíaca (SGNC), pero hay muchos aspectos por dilucidar. Aunque se han publicado consensos y recomendaciones para el diagnóstico, la distinción entre esta sensibilidad y las formas menores de EC, o "EClite" (Marsh1, Marsh2, presencia de alelos DQ2), no está clara. Por ello, los criterios de inclusión de los pacientes con SGNC en estudios y sus resultados son diferentes. Tampoco está claro el papel que pueden tener en la SGNC otros componentes del trigo, diferentes del gluten, o los FODMAP, o los ATI. Y ni siquiera con ensayos doble ciego controlados con placebo se logra identificar a estos pacientes.

La SGNC, la popularidad de la DSG y la descripción de formas menores de EC han hecho que las PP se hagan de nuevo necesarias en la práctica clínica. Nos hemos propuesto estudiar la utilidad de las PP in vivo e in vitro en la práctica clínica. Para ello hemos seleccionado 9 pacientes celíacos activos en dieta con gluten, 6 pacientes celíacos en DSG con serología positiva al diagnóstico, 3 con serología negativa al diagnóstico, 7 pacientes con SGNC en DSG, y 5 controles en DCG. Hemos empleado PP in vitro en todos los

*Trabajo realizado gracias a la financiación de la Gerencia Regional de Salud de SACYL. Junta de Castilla y León SACYLGRS 1101/A/15.

pacientes. Se realizó un cultivo de linfocitos de sangre periférica de todos ellos sin estímulo (SE) o estimulando las células con gliadina (PTG) y péptido 33-mer. Después se identificaron las células productoras de interferón-gamma mediante la técnica de ELISpot. Esta técnica ha permitido comprobar que entre los pacientes que siguen una DSG, la ratio ELISpot PTG/SE permite distinguir a los pacientes con EC de los pacientes con SGNC (U de Mann Whitney, $p = 0,004$).

La interpretación de las pruebas de PP in vitro con ELISpot probablemente requiera tener presente la dieta del paciente. De hecho, en pacientes con EC la ratio PTG/basal es distinta en los pacientes al diagnóstico y en pacientes que ya siguen una DSG (U de Mann Whitney, $p = 0,01$), y aunque no hay diferencias estadísticamente significativas entre celíacos activos y personas sanas, ambos con dieta normal, sí las hay entre celíacos en DSG y personas sanas (U de Mann Whitney, $p = 0,01$). Un aspecto muy relevante a dilucidar es el comportamiento de estas técnicas en pacientes celíacos con serología negativa.

Hemos realizado PP in vivo a los pacientes con SGNC que seguían una DSG. La sobrecarga in vivo se hizo mediante la ingesta diaria a lo largo de 14 días de unos 16 g de gluten (4 rebanadas de pan). En los días 0 y 14, los pacientes respondieron a un cuestionario de calidad de vida gastrointestinal (GIQLI) de ansiedad de Goldberg y se tomaron biopsias de duodeno para anatomía patológica y linfograma con cito-

metría de flujo. Se extrajo sangre periférica para ELISpot en los días 0, 7 y 14. Las extracciones de los días 0 y 7 coincidieron con la sedación de la gastroscopia. El ELISpot se realizó después de cultivos SE, con GTP y 33-mer en las 3 ocasiones. Los pacientes fueron informados de la conveniencia de contactar telefónicamente o acudir a la consulta en caso de considerarlo necesario. Hubo un solo caso de interrupción temporal de la PP. En los 7 pacientes con diagnóstico de SGNC, tras los 14 días de sobrecarga, se comprobó, sin alcanzar la significación estadística, un empeoramiento de los síntomas gastrointestinales (Wilcoxon, $p = 0,058$) y un incremento del porcentaje de linfocitos NK (Wilcoxon, $p = 0,063$), pero no hubo diferencias en el cuestionario de ansiedad, en el linfograma o en el ELISpot (SE, con PTG y con 33-mer). Sí hemos encontrado una correlación positiva entre el riesgo genético de la EC y la ratio ELISpot PTG/SE del día 14 (Spearman 0,912, $p = 0,011$). Por otro lado, tras la sobrecarga, el porcentaje de linfocitos TCR $\gamma\delta$ es estadísticamente diferente en los pacientes con SGNC comparado con los pacientes celíacos activos al diagnóstico (U Mann Whitney, $p = 0,001$).

Las pruebas de provocación tienen, por tanto, utilidad en el diagnóstico de la EC y pueden tener un lugar en la caracterización de la SGNC. Las pruebas de provocación in vitro pueden no ser invasivas y tienen la ventaja de no necesitar cambiar la dieta.