



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRÁN"**

**UTILIDAD DIAGNOSTICA DEL HLA-DQ2 Y HLA-DQ8
EN SUJETOS CON SINDROME DE ABSORCION
INTESTINAL DEFICIENTE Y SOSPECHA DE
ENFERMEDAD CELIACA**

**TESIS DE ESPECIALIDAD PARA OBTENER EL TITULO
UNIVERSITARIO DE ESPECIALISTA EN
GASTROENTEROLOGIA**

**PRESENTA
EDUARDO CERDA CONTRERAS**

**ASESOR DE TESIS
DR. LUIS F. USCANGA DOMINGUEZ**

MEXICO D. F., AGOSTO DEL 2008





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UTILIDAD DIAGNOSTICA DE HLA-DQ2 Y HLA-DQ8 EN SUJETOS CON
SINDROME DE ABSORCION INTESTINAL DEFICIENTE Y SOSPECHA DE
ENFERMEDAD CELIACA**

**Dr. Luis F. Uscanga Domínguez
Asesor de tesis
Director de Enseñanza
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición “Salvador Zubirán”**

**Dr. Miguel Ángel Valdovinos Díaz
Profesor titular del curso de especialización en Gastroenterología
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición “Salvador Zubirán”**

DEDICATORIA

A mis padres, Leticia y Eduardo, que siempre estuvieron a mi lado, apoyándome en todo momento, compartiendo logros y fracasos e impulsándome a seguir adelante...

A mis hermanos Fernando y Ricardo que motivaron mi andar en esta difícil carrera...

A Charlene que me dio la fuerza e inspiración necesaria para completar esta etapa y empezar una nueva a su lado...

AGRADECIMIENTOS

A mis amigos y maestros que me llenaron de enseñanzas, pero que sobre todo me enseñaron sobre la vida misma...

A mis pacientes, que me enseñaron que la verdadera medicina no se aprende en los libros, los que me mostraron la importancia de la humildad y de quienes aprendí a escuchar...

A mis compañeros y tutores, los doctores Andrés Duarte, Luis Uscanga, Julio Granados y la Dra. Florencia Vargas, que contribuyeron a la realización de este proyecto, y que sin ellos no hubiera sido posible lograrlo...

INDICE

	Página
Resumen.....	6
Antecedentes.....	7
Definición del problema y justificación.....	16
Hipótesis.....	16
Objetivos.....	17
Material y métodos.....	18
Análisis estadístico.....	21
Resultados.....	22
Discusión.....	24
Conclusiones.....	27
Bibliografía.....	28
Tablas.....	32

RESUMEN

Introducción. La enfermedad celíaca (EC) es una afección autoinmune que afecta primordialmente a la mucosa del intestino delgado y es ocasionada por la ingesta de gluten y proteínas relacionadas en personas genéticamente susceptibles. Estos enfermos expresan alelos específicos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), DQ2 o DQ8, siendo el genotipo DQA1*05/DQB1*02 (DQ2) el más frecuente. La prevalencia de estos alelos en población general es variable. En México, un estudio reciente en población abierta encontró HLA DQ2 en 16% y DQ8 en 24% de los individuos. Desconocemos su expresión en los enfermos con EC en México y por tanto su utilidad diagnóstica.

Objetivo. Determinar la utilidad de la tipificación de los alelos HLA DQ2 y HLA DQ8 en población mexicana con diagnóstico de EC así como su prevalencia.

Material y Métodos. Se estudiaron 49 pacientes consecutivos de ascendencia mexicana con diarrea crónica. Treinta y ocho fueron mujeres (78%). La edad media fue de 53 ± 14.5 años y el IMC de 21 ± 4.6 . Se clasificaron en dos grupos dependiendo de la presencia o no de EC. El diagnóstico de EC se estableció en base a criterios histológicos y a la presencia de anticuerpos anti-transglutaminasa, anti-endomisio y/o anti-gliadina. En todos los casos se determinaron alelos HLA clase II por PCR-SSOP (no se determinó DQ8, sólo DQ3, el cual incluye a DQ7, 8 y 9). Tanto los médicos que clasificaron el diagnóstico de los enfermos como los que tipificaron el HLA estuvieron cegados a los resultados.

Resultados. El diagnóstico de EC se estableció en 30 enfermos (61%), 23 fueron mujeres (77%) con edad media de 54.2 ± 15.5 años y un IMC de 20.8 ± 5 . Veinticuatro (80%) expresaron el alelo DQ3, mientras que sólo 15 (50%) el DQ2. Once tuvieron ambos (37%) y 2 ninguno. De los 19 enfermos sin EC, 15 fueron mujeres (79%), la edad media fue de 50.7 ± 12.5 y el IMC de 21.2 ± 4.1 . Los diagnósticos de éstos fueron en su mayoría sobrepoblación bacteriana. En 5 no se pudo establecer un diagnóstico de certeza, pero se descartó EC en base a la negatividad de los anticuerpos y a la pobre o nula respuesta al tratamiento con dieta libre de gluten. Doce tuvieron el alelo DQ2 (63.2%) y 7 el DQ3 (36.8%). No se encontraron diferencias entre los grupos con respecto a la presencia del alelo DQ2 (50% vs 63%, $p=0.37$), pero si con el DQ3 (80% vs 37%, $p=0.002$). La RM para el DQ2 fue de 0.58 (IC 95% 0.18-1.89) y para DQ3 (DQ7/DQ8) 6.9 (IC 95% 1.9-25). La sensibilidad y especificidad para DQ3 fue de 80% y 63%, respectivamente. La asociación con DQ3 persistió al comparar la presencia del haplotipo DR4/DQ3 (60% vs 26.3%, $p=0.021$) con una RM de 4.2 (IC 95% 1.2-14.7). El tener ambos alelos mostró diferencia significativa a favor de EC (37% vs 5%, $p=0.013$) con una RM de 10.4 (IC 95% 1.2-89). La sensibilidad, especificidad y VPP para diagnóstico de EC con esta combinación fue de 37%, 95% y 92% respectivamente.

Conclusiones. La prevalencia de HLA DQ2 y DQ8 (DQ3) en pacientes mexicanos con EC es superior a la encontrada en población general, siendo más frecuente la expresión del alelo DQ3 (interpretado como DQ8), comportándose nuestra población como otras de América Latina. Esto sugiere un origen étnico común y preservado que obliga, al menos en nuestro país, a que la genotipificación para EC con fines diagnósticos en

enfermos con diarrea crónica incluya ambos alelos. La mayor asociación se presenta con la combinación DQ2/DQ8.

UTILIDAD DIAGNOSTICA DE HLA-DQ2 Y HLA-DQ8 EN SUJETOS CON SINDROME DE ABSORCION INTESTINAL DEFICIENTE Y SOSPECHA DE ENFERMEDAD CELIACA

ANTECEDENTES

La enfermedad celíaca (EC), también conocida como enteropatía sensible al gluten, esprue celíaco o esprue no tropical, es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por daño a la mucosa intestinal y absorción deficiente de nutrientes debido a la ingestión de gluten de la dieta en individuos genéticamente susceptibles (1, 2). Actualmente se le considera la condición inflamatoria crónica más común.

Su incidencia se ha incrementado en forma notoria en los últimos años como consecuencia de la introducción clínica de pruebas serológicas con alta exactitud (1993) y mejores criterios para el diagnóstico de la lesión intestinal (1999). Estos avances han llevado a la identificación de enfermos con formas poco sintomáticas o atípicas (antes de 1993 los casos diagnosticados por diarrea fueron 73%). Actualmente sólo 43% la presentan) (11). Estudios recientes han demostrado que entre 0.5 y 1% de la población norteamericana y europea padece EC; mientras que en Latinoamérica, estudios realizados en Brasil y Argentina han observado una prevalencia de 1:183 individuos y 1:167 (4, 5). En México se han llevado a cabo dos estudios de seroprevalencia. El primero, que incluyó 350 universitarios de la Ciudad de México encontró 0.72% (6), mientras que el segundo, con una población de 1009 donadores de sangre mostró 2.6% (7). En cualquiera de los casos parece ser que la EC, previamente considerada una

afección infrecuente en nuestro país, tiene una prevalencia similar a la descrita en poblaciones norteamericana y europea.

La patogenia de la EC tiene componentes genéticos, ambientales e inmunológicos. Genéticamente se considera una enfermedad poligénica, con participación principal del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA por sus siglas en inglés, antígeno leucocitario humano), así como de otros genes no pertenecientes al HLA, todavía no bien identificados (22). La susceptibilidad genética fue inicialmente sospechada por la alta prevalencia en familiares (5-15%), concordancia en gemelos monocigóticos (~75%) y en individuos HLA-idénticos (~30%) (Jardi 2006, 2). Inclusive, se estima que el HLA constituye el determinante más importante responsable de la mitad del efecto genético (20). El HLA de clase II está compuesto por los genes HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP y se sabe que la variante HLA-DQ2 (codificado por los alelos DQA1*05 y DQB1*02) se encuentra presente en 95% de los sujetos con EC, mientras que la mayoría de los negativos para este marcador expresan HLA-DQ8 (Codificado por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302) (21, 22). Como se verá a continuación, es necesaria (aunque no suficiente) la presencia de estos alelos para el desarrollo de enfermedad celíaca y podrían en consecuencia tener una implicación diagnóstica y como método de escrutinio. Se refiere que la presencia de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 no es suficiente para el desarrollo de la enfermedad, dado que estos marcadores se encuentran presentes en 25-35% de la población general, mientras que la prevalencia de la enfermedad celíaca no rebasa 5% en ninguna población (23). En México se conocen algunos datos sobre la frecuencia de estos alelos en la población general. Barquera y cols. describieron la frecuencia de las moléculas HLA clase I y II en 381 individuos no relacionados siendo de 16% para el HLA-DQB1*02 (DQ2) y 24% para el HLA DRB1*0302 (DQ8) (8).

Los factores ambientales e inmunológicos consisten en la activación del sistema inmune adaptativo e innato (vía HLA) mediante péptidos derivados del gluten. El endosperma de los granos de trigo contiene entre otras sustancias gliadina y glutenina que dan lugar a la proteína conocida como gluten, el factor ambiental desencadenante de esta enfermedad. Sustancias similares como hordeína en la cebada, secalina en el centeno y probablemente avenina en la avena son también capaces de activar al sistema inmunológico (21). A grandes rasgos, el mecanismo por el cuál se logra la activación del sistema adquirido implica el paso de péptidos derivados del gluten (i.e. α -gliadina 33-mer) hacia la lámina propia del intestino delgado, sea por vía intercelular o transcelular, donde éstos se ponen en contacto con la transglutaminasa 2 o transglutaminasa tisular y posteriormente son tomados por células presentadoras de antígenos, para ser presentados a linfocitos CD4 mediante heterodímeros de HLA-DQ2 o HLA-DQ8. La transglutaminasa tisular juega un papel muy importante en la respuesta inmunológica, dado que al deaminar los residuos de glutamina del gluten permite una mayor afinidad del HLA por éste. La estimulación de las células CD4 deriva en una respuesta Th1, mediada por interferón- γ con activación de linfocitos citotóxicos, macrófagos y células del estroma que dañan la mucosa de manera directa o mediante la liberación de enzimas como metaloproteinasas de la matriz, llevando a pérdida de las vellosidades e hiperplasia epitelial de las criptas. Paralelamente las células CD4 estimulan a los linfocitos B para formar anticuerpos (IgA e IgG) contra el gluten y la transglutaminasa tisular (21, 22). Como una vía alterna ocurre la activación del sistema innato por otros péptidos derivados del gluten (i.e. α -gliadina p31-p49) que estimulan la expresión de interleucina-15, proteínas de choque de calor (*heat shock proteins*), del gen

de cadena relacionado al HLA clase I y moléculas E por los enterocitos, que llevan a activación de los linfocitos intraepiteliales (incluyendo células NK) y dañan la mucosa.

Actualmente se reconocen varios fenotipos de EC (NIH 2005):

- 1) **EC Clásica:** presentan síntomas gastrointestinales y secuelas de absorción intestinal deficiente, representa aproximadamente el 50% de los casos. El diagnóstico se establece con estudios serológicos positivos y atrofia de las vellosidades en la biopsia. Existe mejoría clínica con la dieta libre de gluten.
- 2) **EC con síntomas atípicos:** síntomas gastrointestinales ausentes o mínimos, con manifestaciones extraintestinales predominantes, entre los que destacan alteraciones neuropsiquiátricas, osteoporosis y anemia por deficiencia de hierro. El diagnóstico y respuesta al gluten son similares a la forma clásica. Probablemente sea la forma de presentación más común en la actualidad.
- 3) **EC silenciosa:** individuos asintomáticos pero con serología positiva y atrofia de vellosidades por biopsia. Suele ser diagnosticada al estudiar personas de alto riesgo por ejemplo, familiares directos de sujetos con EC.
- 4) **EC latente:** aquellos con serología positiva pero sin atrofia de las vellosidades. Tienen riesgo de desarrollar síntomas o cambios histológicos durante su evolución.
- 5) **EC refractaria:** Persistencia de síntomas e inflamación intestinal a pesar de la dieta libre de gluten. Esta forma de presentación es poco frecuente pero constituye un reto diagnóstico y terapéutico.

La EC da lugar a absorción intestinal deficiente total, con grados variables de afección dependiendo de lo extenso del compromiso intestinal, siendo característicamente mayor en los segmentos proximales. Es frecuente la deficiencia de hierro y folatos, y menos

común la de B₁₂, dado que el íleon terminal no suele verse afectado en esta enfermedad. Las manifestaciones clínicas clásicas del EC son: astenia, adinamia, diarrea, absorción deficiente, distensión abdominal y pérdida de peso; aunque cabe señalar que hasta 30% de los pacientes presentan sobrepeso. Algunos sólo manifiestan datos sugerentes de reflujo gastroesofágico o dispepsia (8%), síndrome de intestino irritable (por lo menos 5% tienen criterios de Roma II) y en un porcentaje creciente sólo se identifican manifestaciones extraintestinales como anemia ferropénica (8%), osteoporosis (7%), trastornos neurológicos (neuropatía periférica sensitiva, ataxia cerebelosa, convulsiones), infertilidad, abortos recurrentes, estatura baja, defectos en el esmalte dental, ansiedad, depresión e incluso trastornos psicóticos. La elevación de transaminasas se encuentra hasta en 47% de los enfermos, con niveles de ALT mayores a AST, que suelen normalizarse después de excluir el gluten de la dieta. Además, en 30% de los pacientes, la EC se asocia con otras enfermedades autoinmunes como dermatitis herpetiforme (hasta 80% de estos sujetos cursa con EC), diabetes mellitus tipo 1 (5%), enfermedad tiroidea autoinmune, hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjögren, colitis microscópica (10%) y deficiencia de IgA (10%); así como con síndromes genéticos como Turner, Down y Williams (18, 19). En todos estos casos se recomienda la búsqueda de EC, así como en familiares de primer grado dada la alta prevalencia. También se ha observado alta frecuencia de algunas neoplasias con esta enfermedad, especialmente el linfoma de células T asociado a enteropatía (2, 3, 11).

Las alteraciones histológicas de la mucosa intestinal en la EC no tratada se caracterizan por aplanamiento de la mucosa con reducción en la altura de las vellosidades e hiperplasia de las criptas, así como infiltración de la lámina propia por linfocitos y

células plasmáticas. Un hallazgo característico presente inclusive en ausencia de síntomas gastrointestinales es el incremento en el número de linfocitos intraepiteliales. Habrá que considerar que las causas de aplanamiento de las vellosidades y de aparición de linfocitos intraepiteliales son múltiples y forman parte del diagnóstico diferencial, tales como: daño postinfeccioso, sobrepoblación bacteriana, alergia nutricional, colitis microscópica con enteropatía y esprue tropical (2, 12, 23, 24).

Se sugiere utilizar los criterios modificados de Marsh (1999) para clasificar los cambios histológicos observados en la EC (12):

- **Tipo 0 (preinfiltrativa):** Se caracteriza por mucosa normal pero existe serología positiva para anticuerpos anti-gliadina. Está presente hasta en 5% de pacientes con dermatitis herpetiforme.
- **Tipo I (infiltrativa):** Mucosa normal, pero con incremento de linfocitos intraepiteliales. Aunque el punto de corte es un tanto arbitrario, se considera cuando existen más de 30-40 linfocitos intraepiteliales por cada 100 enterocitos.
- **Tipo II (hiperplásica):** Además de la linfocitosis intraepitelial existe hiperplasia de las criptas con incremento en el número de mitosis, y radio altura-vellosidad/profundidad-cripta inferior a lo normal (3 a 5).
- **Tipo III (destruktiva):** Comprende la lesión característica de atrofia de las vellosidades. Se divide en los siguientes subtipos: A) atrofia parcial con radio altura-vellosidad/profundidad-cripta inferior a 1; B) atrofia subtotal, sólo observándose vellosidades aisladas; C) atrofia total, similar a la mucosa colónica.
- **Tipo IV (hipoplásica):** Es la etapa terminal de la enfermedad con aplanamiento y atrofia de la mucosa como consecuencia de daño irreversible por inflamación

crónica. Existen depósitos de colágena en la mucosa y submucosa. Se asocia a EC refractaria y al desarrollo ulterior de linfoma de células T asociado a enteropatía.

El diagnóstico de la EC requiere que el médico tenga presente el espectro clínico de la enfermedad, especialmente si se toma en cuenta la alta prevalencia de formas atípicas. No existe una sola prueba que permita establecer el diagnóstico y deben tomarse en cuenta, además de las manifestaciones, tanto la serología como el estudio histopatológico. Estos tres parámetros permitirán clasificar a la EC de acuerdo a los tipos previamente descritos (clásica, con síntomas atípicos, silenciosa, latente). Pero incluso con esta evaluación no es infrecuente que exista duda sobre el diagnóstico y se justifique un ensayo terapéutico con una dieta libre de gluten.

Los estudios serológicos iniciales se basaban en la medición de anticuerpos dirigidos contra la gliadina (fracción proteica del gluten). Actualmente esta prueba no se considera apropiada, ya que aunque con buena sensibilidad, su especificidad es limitada, por lo que se utilizan otras con mayor sensibilidad y especificidad que identifican anticuerpos IgA contra el endomisio o la transglutaminasa tisular (TGt, autoantígeno específico de los anticuerpos contra el endomisio), mientras el paciente se encuentra con dieta sin restricción de gluten. Un estudio reciente demostró que los anticuerpos anti-endomisio tipo IgA tienen sensibilidad y especificidad de 90-96% y 100%, respectivamente, en adultos. En el caso de los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular tipo IgA, las cifras correspondientes son 90-98 y 95-99%. Sin embargo, hay que considerar que los pacientes con tipos I y II de Marsh, la sensibilidad llega a ser menor a 90% para ambos anticuerpos, además de que después de aproximadamente 3-6 meses de

apego a la dieta la prueba puede resultar negativa. Por otra parte, como ya se mencionó, 2-10% de los enfermos presentan deficiencia de IgA y deben medirse los anticuerpos tipo IgG, que aunque tienen baja sensibilidad, conservan especificidad de hasta 98% (13).

Las características operacionales imperfectas de los anticuerpos para el diagnóstico de EC, así como la falta de especificidad de los hallazgos histopatológicos, han creado la necesidad de contar con otros marcadores. En consecuencia, la expresión prácticamente indispensable de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 ha abierto la posibilidad de contar con otra herramienta de diagnóstico para que si estos marcadores no están presentes, pueda descartarse el diagnóstico en aquellos casos equívocos. En un estudio reciente realizado en niños con diagnóstico histopatológico de EC, pudo observarse que en 36 casos con anticuerpos anti-endomisio y anti-TGt positivos todos expresaron HLA-DQ2 o HLA-DQ8; mientras que en 35 sin estos anticuerpos el 56% tuvo positividad para HLA-DQ2 o HLA-DQ8. Además, en 15 no se detectó alguno de estos alelos y pudieron recibir una dieta con gluten sin recidiva de manifestaciones clínicas. Esto sugiere que en pacientes con diagnóstico histopatológico y anticuerpos anti-endomisio no es necesaria la confirmación genética, mientras que en los pacientes que no expresen HLA-DQ2 o HLA-DQ8 puede excluirse el diagnóstico de EC con un valor predictivo negativo de 100% (9). Debido a la variabilidad en la expresión de estos alelos en diversas poblaciones, estos hallazgos con alta utilidad en la práctica clínica requieren confirmación en la población mexicana.

Otra utilidad demostrada del diagnóstico genético en EC deriva del escrutinio de familiares directos con la intención de evaluar el riesgo de padecer la enfermedad ante

la presencia de alguno de los alelos implicados. Esto fue demostrado recientemente en otro estudio finlandés, en el cuál se incluyeron 245 familiares en primer grado de enfermos con EC de 54 familias. Los autores pudieron descartar EC en ~20% de familiares que carecieron de alguno de los siguientes alelos: HLA-DQA1*0501, DQB1*0201 y DRB1*04 (este último está relacionado con DQB1*0302), estimando que en una población menos seleccionada el escrutinio pudiese ser más útil. Esto evitaría en personas sin expresión de los alelos estudiados la realización de estudios invasores (endoscopia), especialmente en ausencia de anticuerpos anti-endomisio, dado que todos los pacientes sin HLA-DQ2 y HLA-DQ8 fueron negativos para este anticuerpo. Además, determinaría la necesidad de realizar más estudios en aquéllos familiares con alguno de los alelos positivos, más aún, en presencia de anticuerpos anti-endomisio (10). Estos hallazgos deben confirmarse en la población mexicana.

Definición del problema y justificación

La EC constituye una enfermedad que ofrece un reto diagnóstico. Además el tratamiento (exclusión total del gluten en la dieta) tiene implicaciones sociales y económicas importantes. La evaluación de los marcadores genéticos HLA-DQ2 y HLA-DQ8 podría tener una utilidad en la práctica clínica tanto para confirmar el diagnóstico en casos equívocos, exclusión del mismo en personas con diarrea crónica, como para la confirmación o exclusión de riesgo en familiares de enfermos con EC. Determinar la utilidad de estos marcadores permitiría conocer la frecuencia de estos alelos en la población mexicana (que se estima sea de aproximadamente 40%), documentar su prevalencia en individuos con EC y establecerla en personas con diarrea crónica sin EC.

Hipótesis

La frecuencia de HLA DQ2 y HLA DQ8 en pacientes mexicanos con EC es mayor que la encontrada en población sana y en personas con diarrea crónica de otra etiología. En consecuencia, la determinación de estos antígenos podría constituir una herramienta útil para el diagnóstico diferencial de esta enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar la utilidad de la tipificación de los alelos HLA DQ2 y HLA DQ8 en población mexicana con diagnóstico de EC.

Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de los alelos HLA DQ2 y HLA DQ8 en población mexicana con diagnóstico confirmado de EC.
- Determinar la especificidad, sensibilidad, VPN y VPP para DQ2 y DQ8 en sujetos con EC.

Objetivos secundarios

- Establecer la prevalencia de esos mismos alelos en otras patologías que cursan con absorción intestinal deficiente.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio

El presente es un estudio observacional exploratorio de tipo transversal, comparativo y cegado para la evaluación de una prueba diagnóstica. El proyecto fue aprobado por el comité de ética y estudios en humanos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Enfermos

Se incluyeron 60 enfermos con diarrea crónica y absorción intestinal deficiente que acudieron de manera consecutiva a la consulta externa de la clínica de páncreas. Se estableció el diagnóstico de absorción intestinal deficiente en bases clínicas y se confirmó mediante la cuantificación en suero de beta-carotenos (anormal por debajo de 60 mg/dL) y/o d-Xilosa en orina de 5 horas (anormal debajo de 5 g/Vol). En cada caso se revisaron datos clínicos, exámenes de laboratorio y gabinete, estudios histológicos y la respuesta al tratamiento médico. Los enfermos fueron clasificados en dos grupos: A) Enfermedad Celiaca: sujetos con cuadro clínico compatible, serología positiva (anticuerpos anti-transglutaminasa tisular, anticuerpos anti-endomisio y/o anticuerpos anti-gliadina) y hallazgos histológicos sugerentes y, B) no celiacos: pacientes con diarrea crónica, serología negativa y cambios histológicos variables. En este grupo el diagnóstico definitivo se estableció en bases clínicas, bioquímicas y la respuesta al tratamiento médico.

Los investigadores estuvieron cegados al resultado de la determinación de HLA al momento de efectuar la clasificación de los enfermos.

Tipificación de los alelos de los genes HLA

Las muestras sanguíneas se colocaron en tubos con 10 U/ml de heparina líquida libre de conservadores. La extracción del DNA se realizó en linfocitos de sangre periférica con técnicas estándar. La tipificación de antígenos HLA tipo II, DR y DQ, se hizo por medio de PCR-SSOP (Polymerase Chain Reaction—Sequence-Specific Oligonucleotide Probe).

La determinación de los HLA se realizó en el departamento de Inmunología, los investigadores desconocieron en todo momento el diagnóstico definitivo de los pacientes. No se clasificó al DQ3 en sus componentes 7, 8 y 9.

Cálculo del tamaño de muestra

Dado que se trata de un proyecto exploratorio respecto a una enfermedad que se estima tiene una prevalencia aproximada del 1% en nuestra población, no es necesario contar con un número mínimo de sujetos de estudio, sin embargo, realizamos un estimado del tamaño de muestra en base a los siguientes datos:

La prevalencia de HLA DQ2 en pacientes con enfermedad celiaca es mayor a 90% y en población general varía entre 16% (México) y 30% (Europa). Basados en esto, se hizo un cálculo de tamaño de muestra para una alfa de 0.5% y un poder del 80%, utilizándose la fórmula para comparar 2 proporciones, siendo las probabilidades P1 20% (controles) y P2 90% (enfermos), con lo que se obtuvo un número de sujetos por grupo de 6.

Criterios de inclusión, exclusión y definiciones operacionales

Criterios de inclusión

1. Edad entre 18 y 70 años
2. De ascendencia mexicana (al menos 2 generaciones)
3. Diarrea crónica
4. Biopsia de intestino delgado en cualquier momento de la enfermedad
5. Aceptación y firma del consentimiento informado

Criterios de exclusión

- Imposibilidad para clasificar a los enfermos por contar con datos incompletos en el expediente

Criterios de eliminación

- No hay

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete SPSS versión 13. Los resultados se presentan como medidas de tendencia central y dispersión para datos dimensionales y como frecuencias para datos categóricos.

Se realizaron tablas de 2x2 para comparar las frecuencias de los diferentes alelos HLA en pacientes con y sin enfermedad celiaca, así como para otras variables categóricas. Se utilizó la prueba de χ^2 o la prueba exacta de Fisher para el análisis estadístico y se calcularon las razones de momios. Así mismo se obtuvieron los valores de sensibilidad, especificidad, VVP y VPN de los diferentes alelos junto con sus intervalos de confianza.

Para comparar variables dimensionales de distribución normal se utilizó la prueba t de Student para muestras independientes y para las de distribución no normal se utilizó estadística no paramétrica (prueba de Mann-Whitney).

RESULTADOS

De los 60 pacientes estudiados se incluyeron en el análisis final 49 debido a que en 11 no fue posible establecer un diagnóstico de certeza. Treinta y ocho fueron mujeres (78%). La edad media fue de 53 ± 14.5 años y el IMC de 21 ± 4.6 . En 27 (61%) de 44 casos se logró establecer el diagnóstico de absorción intestinal deficiente. Se encontró HLA-DQ2 en 27 enfermos (55%), 5 de los cuales (20%) fueron homocigotos y HLA-DQ3 (DQ7 y DQ8) en 31 de ellos (63%). Cuarenta y seis (94%) sujetos presentaron al menos uno de estos alelos. Las características basales, incluyendo comorbilidades y diagnóstico definitivo se muestran en la tabla 1.

Grupo A

Se estableció el diagnóstico de EC 30 pacientes (61%), 23 fueron mujeres (77%). La edad media fue 54.2 ± 15.5 años y el IMC de 20.8 ± 5 . Veinticuatro (80%) expresaron el alelo DQ3, mientras que sólo en 15 (50%) se encontró el alelo DQ2. Once expresaron ambos (37%) y dos ninguno. El 72% de los individuos presentó datos de absorción intestinal deficiente. Los parámetros clínicos, bioquímicos y de gabinete se muestran en la tabla 2.

Grupo B

Este grupo consistió de 19 sujetos en los cuales no se encontraron datos que sustentaran el diagnóstico de EC, 15 fueron mujeres (79%), la edad media fue de 50.7 ± 12.5 y el IMC de 21.2 ± 4.1 . Los diagnósticos de estos enfermos se muestran en la tabla 1. Doce tuvieron el alelo DQ2 (63.2%) y siete el DQ3 (36.8%), sólo un paciente (5%) presentó

ambos alelos. Se demostró absorción intestinal deficiente sólo en 40% de los sujetos. El resto de los parámetros evaluados se muestran en la tabla 2.

Comparación entre grupos

No se encontraron diferencias estadísticas respecto a la presencia del alelo DQ2 (50% vs 63%, $p=0.37$), pero si con el DQ3 (80% vs 37%, $p=0.002$). La RM para el DQ2 fue por tanto no significativa (0.58, IC 95% 0.18-1.89) y para el DQ3 (DQ7/DQ8) fue de 6.9 (IC 95% 1.9-25). La sensibilidad y especificidad para DQ2 fue de 50% y 37%, y para DQ3 de 80% y 63% respectivamente. La asociación con el alelo DQ3 persistió al comparar la presencia del haplotipo DR4/DQ3 (virtualmente DQ8 todos), siendo su frecuencia en el grupo A de 60% y en el grupo B de 26.3% ($p=0.021$) con una RM de 4.2 (IC 95% 1.2-14.7). La presencia de ambos alelos (DQ2 y DQ3) también mostró diferencia significativa a favor de EC (37% vs 5%, $p=0.013$) con una RM de 10.4 (IC 95% 1.2-89) (tabla 2). La sensibilidad, especificidad y VPP para diagnóstico de EC con esta combinación fue de 37%, 95% y 92% respectivamente. El resto de los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para los HLA se muestran en la tabla 3.

Los resultados del análisis del resto de variables estudiadas se muestran en la tabla 2.

Los únicos que mostraron significancia fueron la presencia de absorción intestinal deficiente ($p=0.036$, RM 3.9, IC 95% 1.1-14.7) y los niveles de albúmina ($p=0.022$).

DISCUSIÓN

La EC es una patología inflamatoria crónica presente en el 1% de la población general. Se caracteriza por daño a la mucosa intestinal inducido por gluten y proteínas relacionadas en individuos con una predisposición genética bien conocida. Dicha predisposición se debe a la presencia de dos alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (HLA) clase II, específicamente, DQ2 (DQA1*0501) y DQ8 (DQB1*0302), los cuales se encuentran en más del 95% de estos enfermos. En múltiples estudios, sobre todo en Europa, el marcador genético que predomina es el HLA DQ2 (90-95%). Sin embargo, por lo menos en tres estudios recientes se ha descrito predominio del HLA DQ8 en grupos de Norte y Sudamérica (15, 16 y 17).

Johnson y cols. estudiaron una cohorte de enfermos celíacos de la ciudad de Nueva York y los compararon con otra cohorte de París. De los 44 pacientes de NY, 59% eran portadores del HLA DQ2 (vs 79% de la cohorte de París) y 41% presentaban DQ8 (comparado con 21% de los franceses). Es importante señalar que la mayoría de sus enfermos eran de ascendencia europea. No hubo diferencias entre grupos étnicos (17).

En Chile, Pérez-Bravo, Araya y cols. evaluaron a 62 niños con EC, encontrando una frecuencia para el HLA DQ2 de 48% vs 16% en controles sanos, y para DQ8 de 43% vs 24%, siendo la combinación de ambos alelos lo que otorgaba el mayor riesgo. El aumento en la frecuencia de DQ8 lo atribuyen en parte a la alta prevalencia del alelo DR4 observada en grupos amerindios de este país (Mapuches), el cual se encuentra en

desequilibrio genético con DQ8, es decir, con una asociación haplotípica mayor a la esperada, conocida como haplotipo extendido (15, 16).

En México no existían estudios que evaluaran la genética de estos enfermos, por lo que estos datos ofrecen información muy relevante en este campo. Únicamente se conocen algunos datos sobre la prevalencia de estos alelos en la población general. Barquera y cols. describieron la frecuencia de las moléculas HLA clase I y II en 381 individuos no relacionados siendo de 16% para el DQ2 y 24% para el DQ8 (8). Si bien, no pudimos contar con la determinación de HLA de alta resolución que nos subdividiera el alelo DQ3 en sus tres componentes DQ7, 8 y 9 (los cuales representan en el estudio de Barquera 45%, 52% y 3% respectivamente), por si mismo, el DQ3 mostró asociación significativa con la presencia de EC en individuos con diarrea crónica, encontrándose con un riesgo de 7 veces el de los controles no celíacos, con una sensibilidad del 80%, lo que significa que su ausencia hace poco probable que la EC sea la causa de los síntomas en este grupo de enfermos. Dado que no se ha reportado relación de los alelos DQ7 y DQ9 con EC, además de que DQ8 representa la mayor parte de DQ3, lo más probable es que esta asociación dependa completamente de DQ8. Esta inferencia se ve reforzada por el hecho de que la asociación persistió con el haplotipo DR4/DQ3, recordando que por el fenómeno de desequilibrio genético, en su mayoría este DQ3 debe ser DQ8.

Otro hallazgo interesante fue la asociación entre DQ2 y DQ3, la cual mostró un riesgo de 10 veces el de la población general, que si bien tiene un intervalo muy amplio, debido en parte a su baja sensibilidad y al tamaño de muestra, su importancia radica en su alta especificidad (95%) y VPP (92%), lo que significa que aunque poco frecuente, el

que un paciente con diarrea crónica porte los dos alelos, prácticamente confirma la presencia de EC.

A pesar del predominio de DQ3 sobre DQ2 (80 vs 50%), este último se observa muy por arriba de lo encontrado en población general aparentemente sana (50 vs 16%), lo que junto con el hecho de que en la cohorte total, sólo dos sujetos no presentaron ninguno de los dos alelos, nos indica que el comportamiento genético de la EC en nuestra población es variable y sugiere que la genotipificación con enfoque diagnóstico debe incluir ambos alelos. Sin embargo, a este respecto hay que mencionar, que en el total de la cohorte, 46 individuos (94%) presentaron al menos uno de los dos alelos, lo que podría indicar que quizá intervengan en la génesis de diarrea crónica sin que se relacione con EC manifiesta.

Estos resultados por tanto son consistentes con los reportados en la literatura, y apoyan la presencia de desequilibrio genético en población latinoamericana, probablemente en relación a un origen étnico preservado al menos parcialmente.

Otros hallazgos interesantes para comentar sobre este estudio es que en general los pacientes con EC eran mujeres, la mayoría con datos francos de absorción intestinal deficiente y desnutrición, incluso se observó asociación diagnóstica con los niveles de albúmina y beta-carotenos. Hubo marcada disminución en la densidad ósea de los enfermos con EC (95% de ellos), sobre todo con osteoporosis, que aunque no hizo diferencia entre los grupos, si mostró la gran susceptibilidad de estos enfermos a la resorción ósea. No se demostró asociación con enfermedades autoinmunes ni ferropenia, tampoco se reportaron antecedentes familiares de EC, en parte dado por la

falta de escrutinio a este nivel, conociéndose que hasta 10% de los familiares tienen EC y que sólo la mitad presentarían síntomas.

Estos resultados, que en principio podrían parecer limitados debido a que son aplicables sólo a pacientes con diarrea crónica, son en realidad el punto fuerte de nuestro estudio, ya que en este escenario clínico, recordando que el 50% de los enfermos celíacos se manifiestan con diarrea crónica, el reto radica en diferenciarlos de los no celíacos.

Finalmente, no podemos descartar que algunos de los sujetos que catalogamos como no celíacos DQ2 positivos, sean en realidad falsos negativos para serología, que constituyó el principal criterio de clasificación. Esto podría ser dado por el hecho de que algunos pacientes sólo tenían determinación de anticuerpos antiendomiosio de primera generación. De la misma forma, los dos enfermos catalogados como celíacos, podrían ser falsos positivos de la serología o especulando, podrían representar individuos con otra asociación genética.

CONCLUSIONES.

La prevalencia de HLA DQ2 y DQ8 (DQ3) en pacientes mexicanos con EC es superior a la encontrada en población general, siendo más frecuente la expresión del alelo DQ3 (interpretado como DQ8), comportándose nuestra población como otras de América Latina. Esto sugiere un origen étnico común y preservado que obliga, al menos en nuestro país, a que la genotipificación para EC con fines diagnósticos en enfermos con diarrea crónica incluya ambos alelos. La mayor asociación se presenta con la combinación DQ2/DQ8.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S10-8.
2. Chand N, Mihas AA. Celiac disease. Current concepts in diagnosis and treatment. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40:3-14.
3. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Celiac Disease, June 28-30, 2004. Introduction. *Gastroenterology* 2005;128:S1-9.
4. Gomez JC, Selvaggio G, Viola M, et al. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2700-4.
5. Pratesi R, Gandolfi L, Garcia SG, et al. Prevalence of celiac disease: unexplained age-related variation in the same population. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:747-50.
6. Valcarce-Leon JC, Santiago-Lomeli M, Schmulson M, et al. Seroprevalence of IgA antibodies to tissue transglutaminase in a university-based population study in Mexico City. *Am J Gastroenterol* 2005;100(Suppl 7):S96.

7. Remes-Troche JM, Ramírez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, et al. Celiac disease could be a frequent disease in Mexico: prevalence of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:697-700.
8. Barquera R, Zúñiga J, Granados et al. HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Mol Immunol.* 2008 Feb;45(4):1171-8.
9. Kapitany A, Toth L, Tumpek J, et al. Diagnostic significance of HLA-DQ typing in patients with previous celiac disease diagnosis based on histology alone. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:1395-402.
10. Karinen H, Karkkainen P, Pihlajamaki J, et al. HLA genotyping is useful in the evaluation of the risk for celiac disease in the 1st-degree relatives of patients with celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:1299-304.
11. Green PH. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology* 2005;128:S74-8.
12. Dewar DH, Ciclitira PJ. Clinical features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S19-24.
13. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005;128:S25-32.

14. Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, Murray JA et al. Predictors of Family Risk for Celiac Disease: A Population-Based Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Jun (in press).
15. Araya M, Mondragón A, Pérez-Bravo F et al. Celiac disease in a Chilean population carrying Amerindian traits. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000 Oct;31(4):381-6
16. Pérez-Bravo F, Araya M, Mondragón A et al. Genetic differences in HLA-DQA1* and DQB1* allelic distributions between celiac and control children in Santiago, Chile. *Hum Immunol*. 1999 Mar;60(3):262-7.
17. Johnson TC, Diamond B, Fasano A et al. Relationship of HLA-DQ8 and severity of celiac disease: comparison of New York and Parisian cohorts. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004 Oct;2(10):888-94.
18. Remes-Troche JM, Rios-Vaca A, Ramírez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, Andrade-Zarate V, Rodríguez-Vallejo F, López-Maldonado F, Gomez-Perez FJ, Uscanga LF. High prevalence of celiac disease in Mexican Mestizo adults with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Gastroenterol*. 2008 May-Jun;42(5):460-5.
19. Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe SE, Brown AR, Procaccini NJ, Wonderly BA, Hartley P, Moreci J, Bennett N, Horvath K, Burk M, Fasano A. Detection of Celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. *Am J Gastroenterol*. 2007 Jul;102(7):1454-60.

20. Tollefsen S, Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, Ráki M, Kwok WW, Jung G, Lundin KE, Sollid LM. HLA-DQ2 and -DQ8 signatures of gluten T cell epitopes in celiac disease. *J Clin Invest*. 2006 Aug; 116(8):2226-36.
21. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Corazza GR. The immune recognition of gluten in coeliac disease. *Clin Exp Immunol*. 2005 Jun; 140(3):408-16.
22. Jabri B, Sollid LM. Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2006 Sep; 3(9):516-25.
23. Rodrigo L. Celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2006 Nov 7; 12(41):6585-93.
24. Remes-Troche JM, Adames K, Castillo-Rodal AI, Ramírez T, Barreto-Zuñiga R, López-Vidal Y, Uscanga LF. Intraepithelial gammadelta+ lymphocytes: a comparative study between celiac disease, small intestinal bacterial overgrowth, and irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol*. 2007 Aug; 41(7):671-6.

Tabla 1. Características basales de los pacientes (n=49)

Edad (años \pm DE)	53 \pm 14.5
Sexo	
▪ Femenino	38 (78%)
▪ Masculino	11 (22%)
IMC (media \pm DE)	21 \pm 4.6
Hb (mg/dl, media \pm DE)	12.6 (2.1)
Albúmina (mg/dl, media \pm DE)	3.4 \pm 0.76
Diagnóstico⁺	
▪ EC	30 (61%)
▪ SPB	10 (20%)
▪ Enteropatía AI	2 (4%)
▪ Colitis linfocítica	2 (4%)
▪ Insuficiencia pancreática	2 (4%)
▪ TB intestinal	1 (2%)
▪ SII	1 (2%)
▪ Sd Hermans	1 (2%)
▪ Sin diagnóstico	5 (10%)
HLA	
▪ DQ2	27 (55%)
▪ DQ3	31 (63%)
▪ DR4/DQ3*	23 (47%)
▪ DQ2 o DQ3	46 (94%)
▪ DQ2 o DR4/DQ3*	41 (84%)
Malabsorción	
▪ Hipocarotenemia	21/43 (49%)
▪ D-Xilosa baja	15/29 (52%)
▪ Deficiencia vit-D	7/10 (70%)
▪ Esteatorrea [±]	30/46 (65%)
▪ Cualquier dato	27/44 (61%)
Comorbilidad	
▪ Esteatosis [§]	9/30 (30%)
▪ Hipotiroidismo	8 (16%)
▪ Ospeopenia	14/27 (52%)
▪ Osteoporosis	10/27 (37%)
▪ Ferropenia	14/25 (56%)
▪ Hipoalbuminemia	20/45 (44%)
▪ Anemia < 11 g/dl	12/46 (26%)

+ Algunos pacientes tenían más de un diagnóstico

* Este haplotipo en más del 90% es DQ8

± Clínicamente

§ Por cualquier método de imagen

Tabla 2. Comparación de variables entre EC y No EC

Característica	Grupo A EC (n=30)	Grupo B No EC (n=19)	p	IC 95%
Demográficas				
Sexo femenino (%)	77	79	0.85	0.87 (0.2-3.5)
Edad (años ± DE)	54.2±15.5	50.7±12.5	0.44	
Bioquímicas				
IMC kg/m ²	20.8±5	21.2±4.1	0.83	
Albúmina	3.2±0.8	3.7±0.4	0.022	
Hemoglobina	12.4±1.9	12.9±2.3	0.38	
Carotenos (mg/dl)	41 (14-86)	79 (35-95)	0.056	
HLA				
DQ2 (%)	50	63.2	0.37	0.58 (0.18-1.9)
DQ3 (%)	80	37	0.002	6.9 (1.9-25)
DR4/DQ3(DQ8) (%)	60	26	0.021	4.2 (1.2-14.7)
DQ2 y DQ3 (%)	36.7	5.3	0.017	10.4 (1.2-89.1)
DQ2 o DQ3 (%)	93.3	94.7	0.9	0.78 (0.07-9.2)
Malabsorción				
Malabsorción (%)	72	40	0.036	3.9 (1.1-14.7)
Hipocarotenemia (%)	75	47	0.063	3.4 (0.9-12.9)
Esteatorrea (%)	67	62	0.78	1.2 (0.34-4.2)
Comorbilidades				
Hipotiroidismo (%)	15	29	0.4	0.4 (0.1-2)
Esteatosis (%)	32	27	0.9	1.2 (0.24-6.3)
Ferropenia (%)	47	75	0.23	0.3 (0.05-1.9)
Hipoalbuminemia	55	25	0.051	3.7 (0.99-14)
Anemia < 11 g/dl	27	25	0.9	1.1 (0.3-4.4)
D.M.O anormal (%)	95	75	0.2	6 (0.5-78)
▪ Osteoporosis	47.5	12.5		
▪ Osteopenia	47.5	62.5		

Tabla 3. Valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para los HLA

	DQ2 (IC 95%)	DQ3 (IC 95%)	DR4/DQ3 (IC 95%)	DQ2 y DQ3 (IC 95%)
Sensibilidad	50 (32-68)	80 (66-94)	60 (42-67)	37 (19-54)
Especificidad	37 (15-58)	63 (41-84)	74 (54-93)	95 (87-100)
VPP	55 (37-74)	77 (63-92)	78 (61-95)	92 (76-100)
VPN	32 (12-51)	67 (45-88)	54 (35-73)	49 (32-65)