

## ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DE LA TEMÁTICA

### *¿Qué es la Enfermedad Celíaca?*

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enteropatía que se caracteriza por alteraciones en la mucosa intestinal asociadas a una intolerancia permanente al gluten presente en el trigo, específicamente, a la gliadina: la fracción proteica del mismo. Este estado de intolerancia permanente se extiende también a las proteínas homólogas de la gliadina presentes en otros cereales, como la hordeína (cebada), la secalina (centeno) y (probablemente, aun cuando se discute mucho, y se pone en duda) la avenina (avena). Aunque la EC fue descrita por primera vez en 1888 por el Dr. Samuel Gee,<sup>33-34</sup> no fue hasta el año 1950 en que se identificó al trigo, y los productos derivados de éste, como los responsables del daño en los pacientes celíacos.<sup>35</sup> Las investigaciones posteriores permitieron concluir que lo que resultaba perjudicial para dichos pacientes es el gluten, y no el almidón o las albúminas.<sup>36</sup>

### *Formas de presentación de la Enfermedad Celíaca*

Existe una gran heterogeneidad en la forma de presentación de la EC, como se aprecia en la Tabla 1. La forma clásica de la entidad remite a un enfermo que se presenta con esteatorrea y signos propios de un síndrome de mala absorción intestinal. No obstante, hoy se reconoce un amplio espectro de presentación de la EC, donde se incluyen formas silentes, latentes y potenciales de la enfermedad.<sup>6-7</sup> Así, la forma clásicamente descrita de la EC se correspondería con una de las formas sintomáticas del espectro celíaco.

### *Sintomatología de la Enfermedad Celíaca*

La sintomatología clínica clásica de la EC se expone en la Tabla 2. La EC aparece fundamentalmente en niños menores de 3 años que presentan un aspecto poco saludable, y aquejan náuseas, vómitos, diarreas, distensión abdominal, pérdida de peso (a expensas de la masa muscular), fallo del crecimiento, laxitud, e irritabilidad. Después de los tres años de edad son frecuentes en el niño celíaco las deposiciones pastosas, la baja talla, la anemia ferropénica resistente al tratamiento medicamentoso, y las alteraciones del carácter.<sup>37</sup>

En cambio, la EC suele ser asintomática en los adolescentes, y los adultos de la 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> décadas de vida. Los síntomas más frecuentes son la fatiga, los dolores abdominales, el meteorismo, la anemia ferropénica (tildada como refractaria), y el estreñimiento. Estas personas son frecuentemente diagnosticadas con un síndrome de intestino irritable. La osteomalacia, la osteopenia y la osteoporosis son habituales, incluso en ausencia de mala absorción intestinal, con el consiguiente incremento del riesgo de fracturas.<sup>8</sup>

La EC puede aparecer también como una forma atípica, donde predomina la sintomatología no digestiva, y que podría presentarse a cualquier edad. En dependencia de ello, se puede observar retraso del crecimiento y desarrollo, retraso de la pubertad (que en la edad adulta, especialmente en la mujer, tendría su equivalente en infertilidad o abortos de repetición);

alteraciones del metabolismo calcio-fósforo, resultantes en osteopenia y osteoporosis y manifestaciones articulares; anemia por déficit de hierro que no responde al tratamiento prescrito; lesiones en la boca (como la hipoplasia dentaria y las aftas a repetición); y alteraciones neurológicas (epilepsias/ataxias) y siquiátricas (trastornos de la conducta y depresión); entre otras.<sup>38</sup> En algunos países estas formas atípicas de la EC pueden superar en frecuencia a la tenida como clásica.<sup>8,39</sup>

Tabla 1. Formas clínicas de presentación de la Enfermedad Celíaca.

Sintomática	Clásica	Esteatorrea, acompañada de manifestaciones del síndrome de mala absorción
	Atípica	Cuadros oligo- y mono-sintomáticos, con síntomas digestivos inespecíficos y/o manifestaciones extraintestinales
Silente	Definida por la ausencia de manifestaciones clínicas a pesar de la existencia de una lesión vellositaria característica de EC. El motivo que ha indicado la biopsia intestinal es generalmente la presencia de uno o varios marcadores inmunes de EC detectados en un despistaje familiar o poblacional, o por padecer una enfermedad de reconocida asociación con la enfermedad celíaca.	
Latente	Personas con biopsia intestinal normal en estudios previos y que tienen la presencia de uno o varios marcadores inmunes de EC detectados en un despistaje familiar o poblacional. Estos personas desarrollarán la EC con posterioridad.	
Potencial	Familiares de primer grado con linfocitosis intraepitelial intestinal que desaparece al suprimir el gluten de la dieta	

La EC puede presentarse muchas veces de manera asintomática, o latente.<sup>6-7</sup> En la actualidad se piensa que estas formas sin síntomas de la EC pueden ser muy frecuentes, e incluso superar a las sintomáticas.<sup>8</sup>

### ***Asociación de la Enfermedad Celíaca con otras enfermedades***

La EC se presenta con mayor frecuencia asociada a otras enfermedades, y puede manifestarse de forma simultánea con la entidad en cuestión, e incluso después de que la misma ha sido diagnosticada. Los pacientes que padecen tales entidades concurrentes son incluidos dentro de grupos de riesgo de la EC, ya que la asociación entre ambas afecciones se produce con una frecuencia superior a la esperada.

Entre las enfermedades concurrentes con la EC se mencionan la Diabetes mellitus dependiente de insulina, el Síndrome de Down, y el autismo; así como otras enfermedades dermatológicas, neurosiquiátricas y autoinmunes.

**Diabetes mellitus dependiente de insulina:** Entre el 1.8% y el 16.4% de los pacientes diabéticos insulino-dependientes son también celíacos.<sup>40</sup> Esto se ha tratado de explicar en virtud del hecho de que ambas entidades comparten genes de susceptibilidad como son los alelos HLA B8, DR3 y DQ B1\*02.<sup>41-42</sup> Por lo general, cuando ambas enfermedades coexisten, la EC cursa de forma silente, y usualmente se diagnostica primero la diabetes. Además, la EC puede acelerar la progresión de la diabetes, y producir un mal control glucémico. Cuando estos pacientes son tratados con una dieta libre de gluten (DLG), mejora el control de la diabetes y disminuyen los requerimientos insulínicos.<sup>43-44</sup>

Tabla 2. Manifestaciones clínicas de la Enfermedad celíaca según la edad de presentación.

Niños	Adolescentes <sup>¶</sup>	Adultos
Síntomas		
Deposiciones blandas	Dolor abdominal	Dispepsia
Anorexia	Cefaleas	Deposiciones pastosas crónicas
Vómitos	Artralgias	Dolor abdominal
Dolores abdominales	Retraso menstrual	Síndrome intestino irritable
Irritabilidad	Irregularidades menstruales	Dolores óseos
Apatía	Estreñimiento	Infertilidad
Introversión	Deposiciones blandas	Abortos recurrentes
Tristeza		Parestesias
		Tetania
		Ansiedad
		Depresión
		Epilepsia
		Ataxia
Signos		
Distensión abdominal	Aftas orales	Desnutrición, con o sin pérdida de peso
Desnutrición	Hipoplasia del esmalte	Edemas periféricos
Hipotrofia muscular	Distensión abdominal	Baja talla
Retraso pondo-estatural	Debilidad muscular	Neuropatía periférica
Dislexia	Baja talla	Miopatía proximal
Autismo	Artritis	Anemia ferropénica
Hiperactividad	Osteopenia	Hipertransaminemia
Raquitismo	Queratosis folicular	Hipoesplenismo
Hematomas	Anemia por déficit de hierro	
Anemias mixtas		

<sup>¶</sup> Los adolescentes son generalmente asintomáticos. Para más detalles: Consulte el texto del presente acápite.

**Síndrome de Down:** La prevalencia de la EC en los pacientes con síndrome de Down oscila entre el 12% y el 13%. La prevalencia de la enfermedad suele ser del 8% si se recurre a los análisis serológicos; y del 5.5% cuando el hallazgo inmunológico se confirma mediante la biopsia de la mucosa yeyunal.<sup>45-46</sup>

**Dermatitis herpetiforme:** Algunos especialistas consideran la dermatitis herpetiforme (DH) como una variante de la EC, en lugar de una enfermedad asociada a ésta, debido a que alrededor del 75% de los pacientes con DH exhiben alteraciones de la mucosa intestinal indistinguibles de la EC.<sup>47</sup> Igualmente, también se pueden encontrar alteraciones en la mucosa yeyunal después de biopsia en el 25% restante.<sup>48</sup> La DH se trata con una DLG, combinada con medicamentos como el DAPSONE® para el control del *rash*.<sup>48</sup>

**Déficit selectivo de IgA:** Entre el 2.6 y el 10% de los enfermos celíacos tiene una deficiencia de IgA, dato relevante desde el punto de vista analítico, ya que la coexistencia con este déficit determinará la presencia de falsos negativos serológicos debido al diseño de la mayoría de los sistemas de diagnóstico que existen actualmente en el mercado.<sup>49</sup>

**Enfermedades hepáticas:** Un 40% de los pacientes diagnosticados de EC, y no tratados, se observa aumento de las transaminasas hepáticas. La hipertransaminasemia es un hallazgo

frecuente en los pacientes celíacos pediátricos, y en muchos de ellos puede ser la única manifestación de la EC. Por eso, en los primeros pasos del diagnóstico de enfermedades hepáticas en un paciente pediátrico deben incluirse los marcadores serológicos de EC.<sup>50</sup>

**Otras enfermedades autoinmunes:** Estas afecciones se diagnostican por lo general primero que la EC, y ésta puede cursar de forma silente. La tiroiditis autoinmune es la enfermedad autoinmune órgano-específica más común, y usualmente es el resultado de una disfunción (hiperfunción/hipofunción/ambas) de la glándula tiroidea.<sup>51</sup> Los anticuerpos propios de la EC se presentan en el 1.5 – 6.7% de estos pacientes. La prevalencia de EC en los pacientes con tiroiditis autoinmune (después del diagnóstico serológico combinado con biopsia yeyunal) es del 3.0% (CI 95%: 2.3 – 3.8%).<sup>51-53</sup>

La enfermedad de Addison es la causa más común de insuficiencia adrenocortical primaria, y comparte mucha de los síntomas clínicos con la EC, por lo que puede enmascararla. Por eso, la EC debe buscarse activamente en estos pacientes. Hay estudios que informan de una prevalencia de EC cercana al 5.4% en este subgrupo de riesgo.<sup>54</sup>

La cardiomiopatía primaria asociada a la EC es una condición seria y potencialmente letal, pero puede ser completamente reversible si se hace un diagnóstico temprano y se establece precozmente el tratamiento con una DLG.<sup>55</sup>

**Complicaciones neuropsiquiátricas:** La EC suele presentarse también de forma concurrente con varias afecciones neuropsiquiátricas, como la epilepsia, la atrofia cerebral, las calcificaciones cerebrales, la esquizofrenia y el autismo.<sup>56-59</sup> Existen informes sobre el efecto beneficioso de la DLG en el control de los ataques epilépticos y la disminución de las dosis de la medicamentación anti-epiléptica, pero sin efecto sobre la resolución de los ataques.<sup>60</sup>

La esquizofrenia afecta aproximadamente al 1% de la población mundial, y es considerada entre las 10 causas de incapacidad a ese nivel. Dado el alto costo social de esta enfermedad, se hace imperativo contar con opciones de tratamiento. Según estudios muy recientes, una DLG puede reducir los síntomas de esta enfermedad en un determinado número de pacientes.<sup>57-58</sup>

El autismo es un desorden del desarrollo mental que ocurre en las edades tempranas, con una incidencia en la población infantil de aproximadamente 1 por cada 1000 individuos. El autismo se caracteriza por problemas en la interacción y la comunicación social, con una ausencia del habla en aproximadamente el 50% de los casos.<sup>59</sup> Algunos estudios informan una mejoría en la conducta de los niños autistas cuando siguen una DLG.<sup>61-62</sup>

**Giardiasis:** La giardiasis no es una entidad asociada a la EC, pero en los países tropicales donde la incidencia de esta parasitosis es alta, debe valorarse la coexistencia de la misma con la EC.<sup>19</sup>

### ***Complicaciones de la Enfermedad Celíaca***

En 1967 se describió por primera vez la asociación entre la EC y la ulceración del intestino delgado.<sup>63</sup> Posteriormente la EC ha sido asociada con una mayor incidencia de linfoma intestinal cuando no es diagnosticada y tratada tempranamente.<sup>64-65</sup> Se conoce que alrededor del 8-13% de los pacientes con EC desarrollan algún tipo de cáncer.<sup>66-67</sup> Son frecuentes los adenocarcinomas del tracto gastrointestinal en el enfermo celíaco no diagnosticado, o diagnosticado pero no tratado. El riesgo relativo de un enfermo celíaco de desarrollar un cáncer de esófago está aumentado 12 veces respecto del resto de la población; y los tumores malignos de faringe y boca son 10 veces más frecuentes.<sup>67</sup> Sin embargo, lo más frecuente es el desarrollo de linfomas intestinales de células T (del tipo linfoma No-Hodgkins).<sup>64</sup> El riesgo de padecer dichos linfomas

en los pacientes con EC y DH que no se adhieren a la DLG es de 50 – 60 veces superior que el resto de la población general.<sup>65,68</sup> Existen numerosos trabajos que documentan que la DLG reduce la probabilidad de desarrollo de tumoraciones malignas a cifras normales, y por lo tanto, es importante su cumplimiento.<sup>9-10</sup>

Una pérdida de masa ósea que puede provocar problemas graves de osteoporosis ha sido descrita en asociación con la EC, aunque se ha demostrado que los pacientes que siguen la DLG desde la niñez no muestran aumento del riesgo de osteoporosis sintomática.<sup>69</sup> (Scotta y otros, 1997). Asimismo, se han descrito problemas de infertilidad en la mujer diagnosticada como celíaca.<sup>70</sup> (Ozgör y otros, 2009).

Otros problemas derivados de/causados por carencias nutricionales, especialmente los que se refieren al *status* de los depósitos de hierro, también han sido mencionados en los trabajos consultados. Éstos se deben a la mala absorción intestinal causada por el daño de la mucosa intestinal, y mejoran con la retirada del gluten de la dieta.

### ***Epidemiología de la Enfermedad Celíaca***

La incidencia general de la EC se estima entre 1:100 – 1:300 individuos. La prevalencia de la EC, estimada en los europeos y sus descendientes, es del 1%.<sup>71-73</sup> La EC es 2 veces más frecuente en las mujeres.<sup>74</sup>

En un estudio multicéntrico realizado por la ESPGAN European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (en español: *Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición*) se encontró una prevalencia promedio de EC de 1:100 niños, con cifras que oscilaron desde 1:285 a 1:33 en Suecia;<sup>75-77</sup> y entre 1:99 y 1:66 en Finlandia.<sup>73</sup> Los estudios más extensos se han realizado en Italia, y la prevalencia de EC encontrada ha sido de 1:210 (en una muestra de 17,210 estudiantes).<sup>78</sup> En España, la prevalencia de la enfermedad se sitúa probablemente alrededor de 1:300.<sup>79</sup>

Existen informes de la presencia de la EC en poblaciones de África del Norte,<sup>80</sup> Irán,<sup>81</sup> y la India;<sup>82</sup> lo cual indica la amplia diseminación de la enfermedad, y contradice la afirmación de que solo la padece la población caucásica.

La prevalencia de personas con formas no reconocidas, atípicas, de la EC sería también importante. En la Comunidad Económica Europea se ha llegado a señalar que habría más de un millón de ciudadanos que sufrirían de una intolerancia al gluten, sintomática o silente.<sup>83</sup>

En la actualidad, la posibilidad de utilizar sistemas sencillos de diagnóstico en la pesquisa de la EC permite el diagnóstico de las formas subclínicas y latentes de la enfermedad.<sup>16</sup> Los estimados basados en estudios seroepidemiológicos sugieren que por cada caso diagnosticado de EC pueden existir entre tres y siete casos sin diagnosticar, y que entre el 1 – 3% de la población general de Europa y Estados Unidos estarán afectadas por la enfermedad en algún momento de sus vidas.<sup>84</sup> Este incremento de la prevalencia de la EC puede deberse a una mayor sospecha clínica y el uso de sistemas serológicos de detección cada vez más sensibles y específicos.<sup>16</sup>

### ***Bases inmunológicas de la patogenia de la Enfermedad Celíaca***

La EC es el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales, y se expresa en individuos genéticamente susceptibles mediante una respuesta inmune inadecuada frente a péptidos derivados de las prolaminas del trigo, la cebada, el centeno y, probablemente, también de la avena. Es conocido que los linfocitos T CD4+ de la lámina propia de la mucosa intestinal

constituyen un elemento central de la inmunopatogenia de la EC, ya que reconocen péptidos de gliadina modificados por la enzima transglutaminasa tisular (TGt), presentes en el contexto de las moléculas de antígenos leucocitarios humanos (HLA), específicamente las del tipo HLA-DQ2/DQ8; y liberan citocinas y otros mediadores de inflamación que, en su conjunto, determinan los cambios histológicos característicos.<sup>1,85-87</sup>

Tradicionalmente, se ha considerado la EC como el resultado de una respuesta inmune adaptativa alterada frente a péptidos tóxicos como los presentes en la región 56-88 de las  $\alpha$ -gliadinas.<sup>88-90</sup> Sin embargo, la inmunidad innata parece jugar un rol crítico en el desencadenamiento de las señales inflamatorias iniciales.<sup>91-92</sup> Por lo tanto, el gluten podría activar dos tipos diferentes de respuesta inmune que se desarrollarían de forma secuencial, o en paralelo.

La EC tiene una base genética conocida, y presenta una de las asociaciones más fuertes con genes situados en la región del sistema HLA de clase II, los que podrían contribuir al 40% de la predisposición genética.<sup>93</sup> Más del 95% de los pacientes con EC presentan los alelos de riesgo DQB1\*02 y DQA1\*0501, o DQB1\*0302 y DQA1\*03.<sup>3,87</sup> Los casos DQ2- o DQ8-negativos suelen tener al menos uno de los alelos de riesgo DQA1\*0501 o DQB1\*02 por separado. Son muy raros los casos en los que ambos alelos están ausentes.<sup>94</sup>

No obstante lo dicho anteriormente, la concordancia de EC en los gemelos monocigotos es del 75%, mientras que sólo entre el 1-2% de los individuos portadores de HLA-DQ2/DQ8 desarrolla la enfermedad. Estos hallazgos sugieren que otros factores serían los responsables de la activación (o cronificación) de la respuesta inmune local frente a las prolaminas tóxicas en los individuos genéticamente predispuestos.<sup>95</sup> Se han descrito varias zonas “calientes” en el genoma,<sup>96</sup> además de otros genes candidatos fuera del HLA, pero sin llegar a ningún resultado concluyente. Se postula que diferentes combinaciones de las variantes de genes implicadas en la respuesta inmune podrían determinar el curso y/o la expresión de la EC en cada paciente.<sup>1,93</sup>

En los últimos años se han realizado ensayos *ex vivo* donde se han cultivado secciones de mucosa yeyunal obtenidos después de biopsias en presencia de diferentes fragmentos de prolaminas. Si bien tales ensayos son difíciles de realizar por cuestiones éticas y experimentales, han aportado información sumamente valiosa sobre la composición aminoacídica de tales péptidos “tóxicos”.<sup>97-99</sup> En este sentido, las alteraciones histológicas observadas, y los marcadores de activación de células T identificados, en los cortes tejido mucosal incubados con diferentes fracciones, han permitido el hallazgo de péptidos derivados de la digestión de gliadinas por las enzimas tripsina y pepsina en estos fragmentos tóxicos.<sup>36,100-101</sup>

Mediante ensayos *in vitro* empleando líneas de células T establecidas de la mucosa intestinal de pacientes celíacos, se ha obtenido un conocimiento más exacto de las secuencias inductoras de estimulación T que pueden ser potencialmente tóxicas,<sup>102-104</sup> siendo una de las más estudiadas el péptido 33 *mer*, 56-88  $\alpha$ -gliadinas.<sup>88</sup>

Aunque la mayoría de los estudios se basan en el análisis de fragmentos derivados de gliadina, también se encuentran secuencias tóxicas en las gluteninas.<sup>105</sup> Además, Vader *et al.* mostraron que se puede observar una reactividad similar al comparar los índices de estimulación de diferentes líneas T frente a péptidos de gliadina, hordeínas (cebada) y sedalinas (centeno).<sup>106</sup> El análisis de secuencia de los fragmentos empleados mostró que comparten cierto grado de homología. La observación de que los péptidos de gliadina deamidados por la TGt presentaban una mayor capacidad de unión a la proteína HLA-DQ2, y estimulación superior de las líneas T, introdujo un cambio sustancial en la interpretación del rol de la TGt en la etio- y fisiopatogenia de la EC.<sup>99,107</sup>

La deamidación de glutaminas por la TGt no es al azar. Después del estudio de diferentes sustratos naturales y péptidos de síntesis, se establecieron ciertos requisitos de secuencia para la deamidación selectiva.<sup>108</sup> Por otro lado, los estudios de unión de péptidos a las moléculas HLA-DQ2 y DQ8 permitieron establecer las restricciones de anclaje y definir las secuencias de gliadina que tienen mayor afinidad de unión.<sup>107,109-110</sup> Considerando integralmente las restricciones de secuencia para la deamidación selectiva y las restricciones de anclaje de las moléculas HLA-DQ2/DQ8 fue entonces posible proponer algoritmos que predicen, en forma teórica, las secuencias potencialmente tóxicas.<sup>108</sup>

La estimulación *in vitro* de biopsias de intestino delgado de pacientes celíacos con fragmentos de gliadina obtenidos por digestión enzimática o después de síntesis, induce una respuesta de tipo Th1, en la que predomina el IFN $\gamma$ , cuyos niveles se normalizan en la fase de remisión.<sup>86,111-113</sup> Dado que el IFN $\gamma$  se produce en ausencia de IL-12, su síntesis dependería de otros factores, como el IFN $\alpha$ ,<sup>114</sup> y otras citocinas de la familia de la clase I del receptor IL-2R, como la IL-18, la IL-7, y la IL-15.<sup>115-117</sup>

La IL-10 tiene un importante rol regulador de la respuesta en la mucosa intestinal. En particular, se ha sugerido que la IL-10 podría inhibir las respuestas Th1 frente al gluten.<sup>118</sup> La mucosa intestinal produce IL-10, cuyo origen puede estar en los linfocitos T de la lámina propia,<sup>119</sup> o los linfocitos intraepiteliales (LIEs).<sup>111</sup> En contradicción con lo anterior, se encuentran estudios que concluyen que no se detecta expresión del ARNm de la IL-10 en el intestino de pacientes con EC.<sup>112</sup>

Otro factor regulador de interés es la proteína TGF $\beta$ , cuya expresión está disminuida en el intestino de pacientes con EC, cuando se compara con el de individuos sanos.<sup>120</sup> Un rol importante en todo este proceso desencadenado por las prolaminas del gluten lo tendrían las células dendríticas de la lámina propia, que participan en la modulación de la respuesta inmune y la diferenciación de las células T reguladoras.<sup>121</sup>

Resumiendo, la activación de linfocitos T reactivos al gluten, en el intestino delgado de pacientes celíacos, pone en marcha una respuesta inflamatoria dominada por citocinas de patrón Th1, en el que predomina el IFN $\gamma$  junto con otras citocinas proinflamatorias (como TNF $\alpha$ , IL-15 e IL-18); junto con un descenso proporcional de la expresión de las citocinas inmunoreguladoras (IL-10 y TGF $\beta$ ).<sup>122</sup> Este desequilibrio, además de incrementar el número de células del sistema inmune en la mucosa intestinal, y el grado de activación de las mismas, regula la actividad de los factores de crecimiento epitelial y las metaloproteinasas. Estas últimas son las encargadas de mantener y renovar la estructura de la mucosa intestinal, y en situaciones de inflamación, provocan la lesión intestinal que conduce eventualmente al síndrome de mal absorción.<sup>123-124</sup>

### ***El diagnóstico de la Enfermedad celíaca, según los criterios de expertos***

Históricamente, el diagnóstico de la EC se ha basado en la evaluación de las manifestaciones clínicas y su respuesta a la eliminación del gluten de la dieta.<sup>14,35,81,125</sup> En 1970, la ESPGAN *European Society of Pediatric Gastroenterology And Nutrition* (que traducido al español sería la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición) estableció criterios diagnósticos basados en la histología de la mucosa intestinal. Estos criterios permitían el diagnóstico diferencial de la EC respecto de otras enteropatías gastrointestinales que cursan con sintomatología similar.<sup>125</sup> Así, se aceptaron universalmente tres criterios diagnósticos: (1) Mucosa intestinal anormal, generalmente plana, en una biopsia realizada mientras el paciente sigue una dieta normal con gluten, (2) Respuesta clínica e histológica con desaparición de los

síntomas y el daño mucosal después de retirada del gluten de la dieta; y (3) Reparación de la lesión histológica con la reintroducción del gluten en la dieta (lo que los expertos dieron en llamar una “prueba de provocación”).

Sin embargo, en los últimos años estos criterios han sido revisados, así como la propia definición de la enfermedad, ya que cada vez son más frecuentes las formas oligosintomáticas y latentes de la misma. Además, los criterios establecidos en 1970 según los cuales se requerían los resultados de tres biopsias intestinales para la conclusión diagnóstica, resultaron agresivos y poco tolerados.<sup>125</sup> Así, numerosos miembros de la ESPGAN demostraron que con la primera biopsia intestinal se diagnosticaba correctamente el 95% de los pacientes.<sup>14</sup> Todo lo anteriormente señalado motivó que en 1990 la ESPGAN emitiera un nuevo sistema de diagnóstico con criterios diagnósticos menos rígidos,<sup>14</sup> a saber: (1) Atrofia de las vellosidades unida a hiperplasia de las criptas y una superficie epitelial anormal, todo ello acompañado de un aumento del infiltrado linfocitario, mientras que el paciente sigue con una dieta no restringida; y (2) Remisión clínica total al eliminar el gluten de la dieta\*.

El sistema revisado de criterios diagnósticos de la EC elaborado por la ESPGAN establece que solo es necesario realizar una segunda biopsia intestinal en aquellos pacientes en los que la respuesta clínica a la dieta es dudosa, o en aquellos que debutan como asintomáticos.<sup>15</sup>

En cuanto a la prueba de provocación con gluten, ésta solo se reservaría para situaciones especiales: Cuando existen dudas de cómo se hizo el diagnóstico de la enfermedad; Cuando hay sospechas de que otras afecciones de la edad infantil pueden enmascarar el diagnóstico; Si la primera biopsia se realizó antes de los dos años de edad†; y En los adolescentes que abandonan la dieta sin gluten.

En cualquier caso, debe ser siempre el especialista quien decida si conviene realizar un período de provocación. En caso afirmativo, éste debe realizarse bajo supervisión médica, siempre después de que el niño ha cumplido 6 años, como mínimo (y nunca antes de esta edad); y suministrando una dosis mínima diaria de 10 gramos de gluten (lo que equivaldría a 3 rebanadas de pan), y sin alterar los hábitos alimentarios corrientes. La biopsia yeyunal debe realizarse después de transcurridos entre 3 – 6 meses, aunque los marcadores serológicos ayudan a decidir el momento adecuado. Si la biopsia realizada no resultara alterada, debe seguirse al paciente durante los dos años siguientes. En ocasiones, se hace pertinente el seguimiento médico de por vida del paciente, especialmente si hay recurrencia de los síntomas, o si algunos de los marcadores serológicos permanecen elevados.<sup>127</sup>

### ***El diagnóstico de la Enfermedad celíaca mediante marcadores serológicos***

Se ha descrito que en el suero de pacientes celíacos se incrementan los niveles de anticuerpos frente a proteínas presentes en los cereales, comúnmente denominados como anticuerpos antigliadina (AAG); y el tejido conectivo, éstos nombrados como anticuerpos anti-reticulina (AAR) y antiendomiso (AAE). Este hecho hace posible que dichos anticuerpos puedan ser utilizados como marcadores serológicos de la EC.<sup>128</sup>

---

\* El diagnóstico de EC es más certero si a los criterios antes mencionados se le adiciona este tercero: “La aparición en el suero del enfermo de niveles altos de anticuerpos antigliadina (AAG), antiendomiso (AAE) o antireticulina (AAR); y de anticuerpos antitransglutaminasa (AATGt), coincidiendo con la toma de la biopsia; y la disminución o desaparición de éstos al seguir una DLG”.

† Se conoce que el 5-18% de los niños clasificados como celíacos en estas edades no lo son realmente.<sup>126</sup>



En el informe de la ESPGAN, publicado en 1990, sobre el diagnóstico de la EC, se le concedió un gran valor a los resultados obtenidos con los marcadores serológicos.<sup>14,16</sup> Estos marcadores han mostrado ser sensibles y específicos, y está bien documentado su valor como apoyo en el diagnóstico de la EC. El empleo de estos marcadores ha permitido la realización del diagnóstico sobre la base de una única biopsia intestinal, si bien no se aconseja que se usen de forma exclusiva.

Los marcadores serológicos también son muy útiles para el pesquijaje de la EC en los grupos de riesgo, tales como los familiares de primer grado, los pacientes con Diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), Síndrome de Down, y las otras entidades asociadas a esta afección que se han descrito previamente descrito.<sup>15-16</sup>

En la práctica clínica se pueden observar resultados falsos negativos en pacientes celíacos con déficit de IgA,<sup>129</sup> así como falsos positivos en casos de enfermedades gastrointestinales diferentes de la EC, tales como los síndromes post-gastroenteritis, la infección por *Giardia lamblia*, la enfermedad de Crohn, y las intolerancias a las proteínas alimentarias.<sup>130</sup> Además, son frecuentes los resultados falsos positivos entre los pacientes con otras afecciones autoinmunes que se asocian con la EC, probablemente debido a las peculiares características inmunológicas.<sup>131-132</sup>

Los AAG y los AAE son los marcadores serológicos más empleados en el diagnóstico de la EC. Ambos desaparecen tras la instauración de una DLG, si bien siguen cinéticas diferentes. Los AAG de clase IgA desaparecen muy rápido, entre 2 - 6 meses después de la supresión del gluten de la dieta. Por ello, los AAG de clase IgA son más útiles en la evaluación de la adherencia del paciente a la DLG, y la verificación del control de los síntomas. Por el contrario, los AAG de clase IgG necesitan períodos muy superiores para su aclaramiento, entre 6 y 24 meses, aunque a veces no llegan a hacerlo completamente.<sup>133</sup> Los AAE persisten en la sangre durante más tiempo que los AAG clase IgA, pero no tanto como los AAG clase IgG. La velocidad de desaparición de los AAE es variable, y no depende del nivel de respuesta inicial, ni de la edad del paciente.<sup>134</sup>

### **Anticuerpos anti gliadina**

La formación de pequeñas cantidades de anticuerpos frente a proteínas y nutrientes ingeridos en la dieta es un proceso fisiológicamente normal. Sin embargo, en 1958, en el Hospital Infantil de Basilea, Berger demostró que la EC estaba asociada con el aumento en la concentración de AAG.<sup>135</sup>

Los AAG séricos son predominantemente de isotipos IgA e IgG, aunque los isotipos IgM se observan en menos proporción. A nivel intestinal predominan los AAG de las clases IgA e IgM, conformando el llamado patrón intestinal.<sup>136</sup> Los anticuerpos de clase IgM no son específicos de la EC, y no se relacionan con la sintomatología de la enfermedad. El estudio en suero de las diferentes subclases de los AAG IgA ha demostrado el predominio de los AAG IgA1 sobre los AAG IgA2, lo que indica que los AAG séricos no proceden de las mucosas, sino que tienen un origen sistémico.<sup>137</sup> Con respecto a los AAG IgG, algunos autores han encontrado anticuerpos de las cuatro subclases.<sup>138</sup>

Generalmente se acepta que los ensayos basados en la determinación de AAG de clase IgG son muy sensibles, pero poco específicos, para el diagnóstico de la EC, ya que dichos anticuerpos se incrementan en otras afecciones, e incluso se pueden observar elevados en sujetos aparentemente sanos que sirven como controles. Por su parte, los ensayos basados en la

determinación de los AAG IgA son mucho más específicos, pero menos sensibles.<sup>16,139</sup> Los niveles séricos de AAG IgA son muy utilizados en el diagnóstico serológico de la EC, y en muchos casos su determinación proporciona el mejor método para el pesquaje de la enfermedad.<sup>15-16</sup> Aún así, como la EC se asocia a una deficiencia selectiva de IgA en el 2-10% de los pacientes,<sup>49</sup> algunos autores recomiendan el ensayo conjunto de las clases IgA e IgG de los AAG.<sup>140</sup>

Se utilizan diversos métodos para la medición de los niveles séricos de AAG, aunque los más extendidos son los ensayos inmunoenzimáticos de tipo ELISA, que se basan en la formación de inmunocomplejos entre el antígeno y los AAG circulantes.<sup>15-16</sup>

También se han desarrollado micro-métodos que emplean tiras reactivas recubiertas con gliadina, y que sirven para clasificar los sueros como “Positivos” o “Negativos” según el color desarrollado. Estos micrométodos, aunque son inexactos, constituyen una buena alternativa como método rápido de pesquaje de la EC.<sup>141</sup> Un método semicuantitativo de evaluación visual desarrollado en el CIGB Centro de Ingeniería Genética de La Habana (Cuba), y que permite la detección de los AAG, demostró ser útil en el diagnóstico serológico de la EC.<sup>142</sup>

La determinación de los AAG ha sido durante mucho tiempo el ensayo más utilizado en la pesquisa de EC.<sup>17</sup> Se han publicado numerosos trabajos que analizan la sensibilidad y especificidad de este tipo de ensayos, y se han encontrado diferencias importantes entre diferentes pruebas antigliadina respecto de las características operacionales de las mismas.<sup>14-16,80</sup> Por ejemplo, en el caso de los AAG IgG, los estimados de sensibilidad fluctúan entre un 46 – 100%, mientras que los de especificidad lo hacen entre un 45 – 100%. Si se trata de los AAG IgA, la sensibilidad oscila entre el 31 – 100%, y la especificidad entre un 83 y 100%.<sup>23</sup>

Un hecho que impide el análisis comparativo de los resultados entre las distintas pruebas de AAG es que cada ensayo analiza poblaciones que difieren por el tamaño de la muestra, la edad, la prevalencia, y la forma en que define el sujeto-control. Como ejemplo de ello se tiene la variación que se observa al utilizar el mismo ensayo con niños o con adultos: la sensibilidad disminuye aproximadamente un 30% cuando se analiza la población adulta.<sup>143-144</sup>

Los AAG se correlacionan muy bien con la atrofia de la mucosa intestinal en los niños pequeños. Sin embargo, el valor predictivo de los AAG disminuye con la edad. Así, se ha demostrado que, en los pacientes celíacos que consumen gluten durante años, los niveles séricos de AAG disminuyen gradualmente, llegando incluso a desaparecer, aún cuando existen alteraciones de la mucosa intestinal.<sup>126</sup> Por otro lado, en la población aparentemente sana la positividad frente a AAG parece aumentar con la edad.<sup>23</sup>

### **Anticuerpos frente a tejido conectivo: Anticuerpos antireticulina**

En 1971 se demostró por primera vez la presencia de anticuerpos dirigidos contra el tejido conectivo en individuos celíacos. Estos anticuerpos fueron encontrados tanto en el suero como en las secreciones intestinales de los pacientes. Los anticuerpos contra el tejido conectivo se detectaron inicialmente mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta en cortes de riñón de rata, y se denominaron anticuerpos antirreticulina (AAR).<sup>145</sup>

Resulta difícil determinar el valor diagnóstico de los AAR debido a la gran heterogeneidad de criterios ofrecidos en los diversos trabajos realizados al respecto.<sup>23</sup> En algunos de ellos se determinan los AAR de clase IgG, mientras que en otros se utiliza un suero polivalente de anti-inmunoglobulinas humanas.<sup>146</sup>

Recientemente se ha comenzado a otorgarle un mayor peso diagnóstico a los anticuerpos de clase IgA. También se debe tener en cuenta la edad de la población estudiada, puesto que los niños tienden a responder mejor ante los péptidos tóxicos, y con tasas más altas, cuando se les compara con los adultos.<sup>145</sup> De aquí se deduce que el valor diagnóstico de los AAR disminuye en la adultez.<sup>145</sup>

Los AAR tienen una inespecificidad relativa, pues pueden aparecer en muchas enfermedades distintas de la EC, como, por ejemplo, la enfermedad de Crohn,<sup>147</sup> la infección por *Giardia lamblia*,<sup>148</sup> y la DMT1;<sup>132</sup> así como en otras enfermedades que pueden estar asociadas (o no) con la EC.<sup>23</sup>

### **Anticuerpos frente a tejido conectivo: Anticuerpos antiendomiso**

En 1984 se describieron los anticuerpos antiendomiso (AAE) de clase IgA, y su presencia se relacionó con la dermatitis herpetiforme.<sup>149</sup> Trabajos posteriores encontraron AAE en pacientes con EC.<sup>150-151</sup> Se conoce que los AAE reaccionan con el endomiso: el tejido conjuntivo especializado que se sitúa entre las fibras del músculo liso cercano al epitelio intestinal, preferentemente en el esófago terminal; pero no lo hacen con la reticulina de otros órganos.<sup>152</sup>

Los AAE son preferentemente de clase IgA, y la imagen de positividad que producen se asemeja a una malla fina que envuelve los haces de miofibrillas de la musculatura del esófago.<sup>153</sup>

La detección de los AAE se realiza mediante inmunofluorescencia indirecta usando como sustrato secciones de esófago de primates, razón por la cual la determinación es costosa.<sup>23</sup> En los últimos años se ha considerado la posibilidad de sustituir el sustrato original por secciones de cordón umbilical humano con el objetivo de abaratar la técnica, y eliminar así uno de los principales inconvenientes en la extensión del uso de la misma.<sup>153</sup>

Los AAE son muy sensibles y específicos en el diagnóstico de la EC, y se resalta su elevada especificidad en el diagnóstico diferencial de enfermos celíacos activos respecto de otros pacientes con afecciones gastrointestinales diferentes de la EC, o enfermedades autoinmunes.<sup>15</sup> Sin embargo, se han descrito resultados falsos negativos de los AAE en niños menores de dos años. Los AAE son frecuentes entre los enfermos celíacos en los estadios latentes, y la aparición de estos anticuerpos parece estar relacionada con el daño tisular.<sup>154</sup> Además, los AAE no se consideran útiles para la detección de mínimas transgresiones dietéticas, y por lo tanto, no se recomiendan en el seguimiento de la EC.<sup>127</sup>

Numerosos trabajos se han llevado a cabo valorando el empleo de estos marcadores tisulares en el diagnóstico de la EC.<sup>15,23,153</sup> Aunque de indudable valor clínico, expresado por su alta sensibilidad y especificidad, los AAR presentan algunos inconvenientes que los hacen poco adecuados como primer eslabón en la búsqueda de pacientes con sospecha de EC en grupos numerosos.<sup>15,23,153</sup> La determinación de AAE resulta muy laboriosa, no es cuantitativa, no puede automatizarse, es cara, y no siempre está al alcance de todos los laboratorios. Además, como esta determinación está basada en la detección de anticuerpos de tipo IgA, no detecta individuos celíacos con deficiencia selectiva de IgA.<sup>15,49</sup>

### **Anticuerpos antitransglutaminasa**

La proteína transglutaminasa tisular (TGT) es una enzima calcio-dependiente que se libera en tejidos dañados y promueve la cicatrización de las heridas mediante la estabilización de la matriz extracelular a través de la promoción de enlaces cruzados entre la fibronectina y el colágeno. La

identificación de la TGt como el principal autoantígeno del endomisio frente al cual se dirigen los AAE fomentó la base para el desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico serológico de la EC.<sup>2</sup>

La detección de los AATGt ha demostrado ser altamente sensible y específica para el diagnóstico de la EC.<sup>20-22,32,155</sup> Por ello, se han desarrollado sistemas de diagnóstico tipo ELISA o por radioligando para la detección de AATGt, empleando para ello TGt extraída de hígado de cobayo, o TGt humana recombinante, clonada y expresada a partir del ARNm de distintos tejidos.<sup>156-157</sup> La sensibilidad y especificidad informadas con estos métodos para el diagnóstico de la EC iguala, e incluso supera a, la de los AAE,<sup>158-159</sup> hasta entonces considerados los mejores para el diagnóstico serológico de la EC.

La principal limitante de la determinación de los AATGt es de índole tecnológica. Son técnicas instrumentales que requieren para su realización y evaluación de equipamiento especializado de laboratorio, como los lectores de placas de microtitulación, o contadores de radiactividad; y de un personal técnico altamente capacitado. La determinación de los AATGt es, además, laboriosa, contempla múltiples operaciones, y toma varias horas para su completamiento. Por último, se requiere de dos ensayos independientes si se pretende la detección simultánea de las clases IgA e IgG de los AATGt.

### ***El diagnóstico de la Enfermedad celíaca con marcadores genéticos***

La EC muestra una de las asociaciones más fuertes que se conocen en la actualidad entre una enfermedad y el sistema HLA, en especial, con la región HLA-clase II. En la mayoría de las poblaciones estudiadas, más del 90% de los pacientes con EC portan el mismo heterodímero HLA-DQ2 codificado por los alelos DQA1\*0501 y DQB1\*02.<sup>160</sup> Los pacientes no portadores del heterodímero DQ2 (cuyo número se estima entre el 5-10%) suelen mostrar un segundo heterodímero, DQ8, codificado por los alelos DQA1\*03 y DQB1\*0302.<sup>160</sup> Por último, los pacientes que no poseen ninguno de los 2 heterodímeros (DQ2/DQ8) pueden tener al menos uno de los dos alelos de riesgo por separado (DQA1\*0501 o DQB1\*02). Se han descrito muy pocos casos de EC en los que ambos alelos están ausentes.<sup>3,93-94</sup>

La utilidad diagnóstica de los marcadores genéticos debe ser considerada siempre en el contexto de la expresión clínica de la enfermedad, y el aspecto histológico de la biopsia yeyunal como principal prueba diagnóstica.

La identificación aislada de los alelos que codifican las moléculas DQ2 o DQ8 no permite *per se* el diagnóstico de la EC, pero es muy útil en las siguientes situaciones: (1) Como ayuda diagnóstica ante la sospecha clínica en casos poco claros, con patrón histopatológico y/o pruebas serológicas dudosas; (2) En individuos con EC latente y serología positiva, pero una biopsia normal; (3) Cuando el paciente ha comenzado ya la dieta sin gluten; (4) Cuando no se dispone de una biopsia inicial;<sup>4</sup> y (5) Para la selección de individuos con mayor susceptibilidad a desarrollar la EC entre los grupos de riesgo, como los familiares de primer grado, en los que el resultado debe interpretarse teniendo en cuenta las características del probando, y que el parentesco le confiere de por sí un riesgo mayor respecto del de la población general.<sup>161</sup>

Los marcadores genéticos no son específicos, dado que la frecuencia de DQ2 en la población general es del 25-30%, y sólo una pequeña proporción de los portadores de DQ2 o DQ8 desarrollan la EC, pero dado el alto valor predictivo negativo próximo al 100% de este análisis, es muy poco probable que las personas que no portan estos genes padezcan la EC.<sup>4,16,160</sup>

### ***Tratamiento de la Enfermedad celíaca***

En la actualidad, el único tratamiento efectivo para la EC es la exclusión total del gluten de la dieta. El cumplimiento estricto de la dieta conduce, en la mayoría de los casos, a una rápida y completa recuperación de la histología normal de la mucosa intestinal, la remisión de los síntomas, y la negativización de los resultados de los marcadores serológicos en pocos meses.<sup>10,29</sup>

La verificación de la adherencia del enfermo a la “dieta-libre-de-gluten” se realiza comúnmente mediante la determinación de AAG en muestras de sangre periférica, por constituir un buen indicador de la ocurrencia de transgresiones.<sup>29</sup> El cumplimiento estricto de la dieta muchas veces no es satisfactorio debido a la ingesta inadvertida de gluten por falta de información exacta sobre la composición nutrimental del alimento, la declaración de aptitud para el consumo por el enfermo celíaco, y los errores en la identificación de los productos comerciales.<sup>10</sup> Sin embargo, el mayor problema lo constituyen las transgresiones voluntarias, principalmente debido al desconocimiento de los pacientes sobre sus consecuencias a mediano y largo plazo; el limitado espectro de productos libres de gluten apetecibles, y que hacen poco atractiva la dieta cotidiana; y el costo elevado de los productos “libres-de-gluten”.<sup>10,162</sup> También se ha observado que el cumplimiento de la dieta es inferior en los adultos con escasa o nula sintomatología en el momento del diagnóstico como celíacos; o en aquellos que han sido diagnosticados mediante un protocolo de cribado.<sup>10,163</sup>

La evaluación de los indicadores de calidad de vida del enfermo (entendidos éstos como los que consideran no sólo la condición física o clínica del paciente, sino también la situación anímica del mismo, y cómo este interpreta su condición actual), muestra claramente que muchos enfermos encuentran difícil sobrellevar la “dieta-libre-de-gluten” en forma estricta.<sup>10</sup> Por esta razón, se ha propuesto que el consumo de bajas cantidades de gluten en ciertas ocasiones como los viajes o los eventos sociales, o el empleo de terapias complementarias a la dieta, podría mejorar la calidad de vida del celíaco.<sup>164</sup>

### ***Sistemas inmunocromatográficos para la detección de anticuerpos***

A finales de los años 1980s comenzó a escala comercial el uso de las membranas de nitrato de celulosa en pruebas inmunocromatográficas de flujo lateral y flujo continuo, comúnmente llamadas “pruebas rápidas”. Aunque en un inicio las pruebas rápidas estuvieron basadas solo en la inmovilización de anticuerpos,<sup>24-25</sup> en la actualidad se puede inmovilizar cualquier tipo de proteína.

La inmunocromatografía es una de las más modernas técnicas disponibles de inmuno-diagnóstico, y tiene como ventajas principales la sencillez de uso y la rapidez de obtención de resultados.<sup>165</sup> Teniendo en cuenta la factibilidad de su empleo, y el ahorro de tiempo y recursos de laboratorio, cada vez son más las aplicaciones de esta técnica en la medicina humana y la veterinaria para el diagnóstico de enfermedades bacterianas, parasitarias y virales.<sup>166</sup>

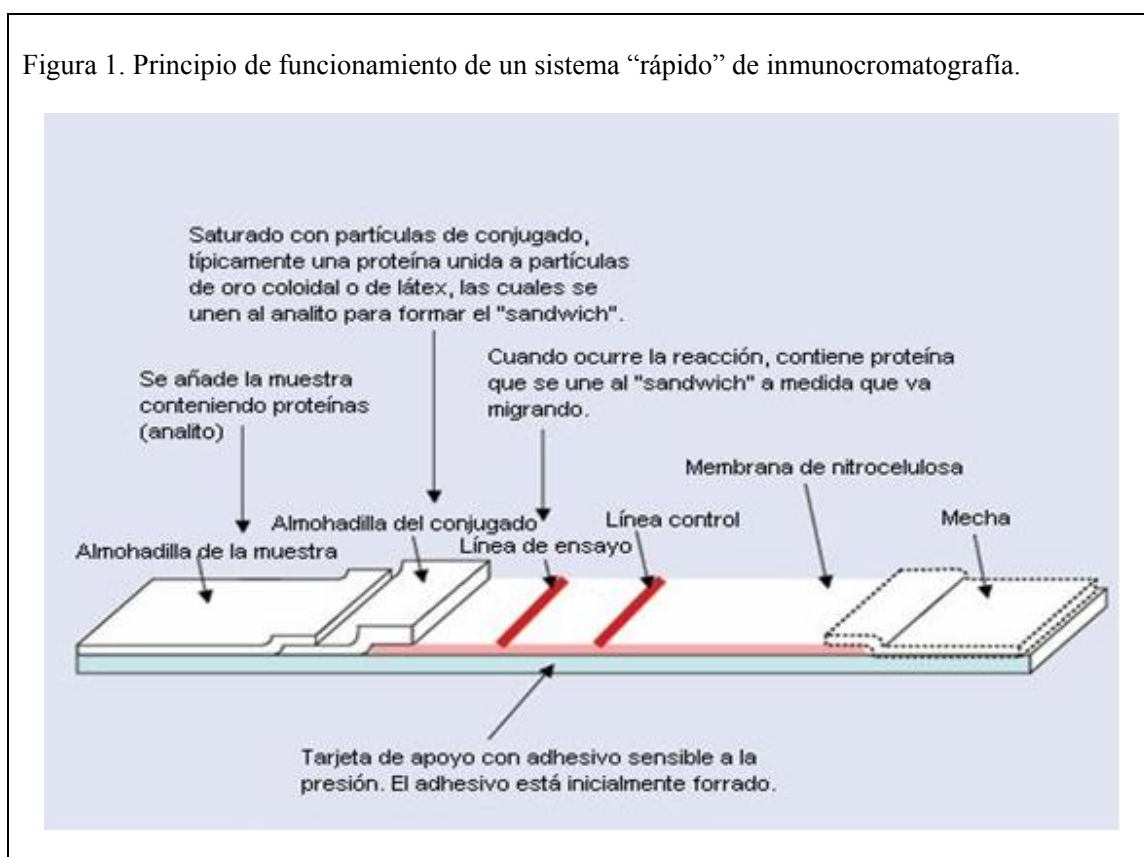
Los sistemas inmunocromatográficos se basan en la captura inmunológica de un coloide coloreado durante su paso a través de una membrana sobre la cual ha sido inmovilizado un anticuerpo (o un antígeno). Estos sistemas son rápidos: basta añadir la muestra al sistema y esperar entre cinco y 20 minutos para el resultado; sencillos: no se requiere de ningún instrumental de laboratorio (mucho menos complicado) para el completamiento del proceder; fáciles de interpretar: aparece una línea indicando si el resultado es “Positivo” (en caso contrario,

no aparece la línea); fiables: el sistema incorpora una línea de control cuya aparición verifica el correcto funcionamiento del ensayo; y de fácil ejecución: puede ser realizado por personal incluso no especializado, siempre que esté debidamente entrenado.<sup>165</sup>

La inmunocromatografía permite visualizar la reacción antígeno-anticuerpo por la acumulación de oro coloidal (o látex) del conjugado en las zonas específicas de la membrana de nitrocelulosa donde previamente se han fijado anticuerpos o antígenos de captura.<sup>167-168</sup>

Teniendo en cuenta las potencialidades del uso de oro coloidal como marcador diagnóstico, éste ha tenido un gran desarrollo en los últimos años. En primer lugar, las partículas se pueden fabricar en diferentes tamaños, desde los 2-3 nm hasta los 150 nm, con todas las posibilidades intermedias. Las partículas de oro adsorben a todo tipo de proteína para formar complejos muy estables, al mismo tiempo preservando las propiedades y la actividad biológica de las proteínas.<sup>169-171</sup>

Figura 1. Principio de funcionamiento de un sistema "rápido" de inmunocromatografía.

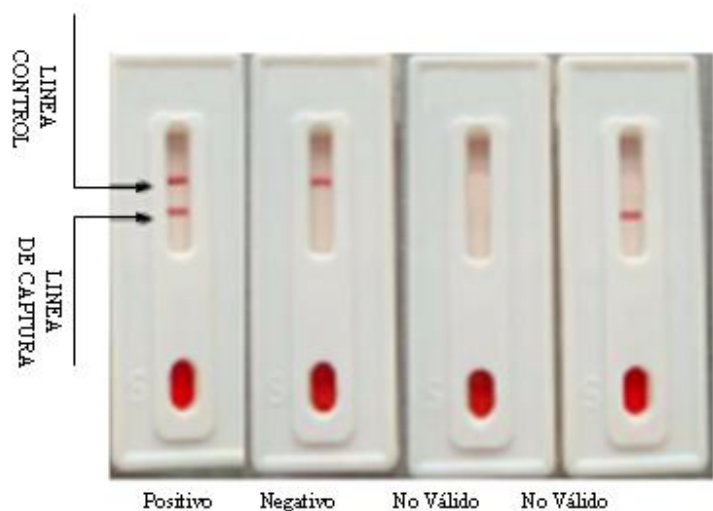


En estos momentos son varios los sistemas inmunocromatográficos disponibles en el mercado de diagnosticadores, entre los cuales podemos mencionar los sistemas para la detección del embarazo, infarto del miocardio, la glucosa sérica y urinaria, la infección por el virus de Inmunodeficiencia Adquirida (HIV/sida), Dengue, *Leishmania*, *Taenia solium*; la detección de antígenos de diversos líquidos biológicos; las infecciones por *Streptococo β-hemolítico*, *Chlamydia*, el virus de la hepatitis, y el plasmodio de la malaria, entre otros.<sup>21,30,165,172-176</sup>

La Figura 1 muestra el diseño de un método "rápido". Cada "prueba rápida" está compuesta por una tira de nitrocelulosa (NC), con una porosidad que permite el flujo lateral de sustancias,

que se encuentra adherida a una superficie de plástico que le confiere rigidez. A su vez, la tira se encuentra contenida dentro de un casete plástico. La NC puede ser sensibilizada en una primera línea (línea de captura) con anticuerpos, en el caso de que se pretenda detectar un antígeno en la muestra; o con un antígeno, si lo que se pretende es detectar la presencia de anticuerpos. La segunda línea (línea de control) se sensibiliza con un reactivo de control capaz de unirse al exceso de conjugado de oro coloidal. La membrana de NC se pone en contacto por el extremo más cercano a la línea de captura con la membrana captadora de eritrocitos, en la cual se encuentra depositado y desecado el conjugado de oro coloidal (sea éste como conjugado anticuerpo-oro coloidal para la detección de antígenos, o conjugado de antígeno-oro coloidal si es para la detección de anticuerpos). Por el extremo superior de la NC se localiza un material absorbente (léase también mecha) que facilita la migración.

Figura 2. Sistema inmunocromatográfico empleado en este trabajo para la determinación de los anticuerpos antitransglutaminasa. Se muestran los posibles resultados a obtener, junto con la interpretación de los mismos.



De esta manera, cuando se adiciona una muestra de sangre en el pocillo correspondiente del casete plástico, ésta se pone en contacto con la membrana captadora de eritrocitos, los que quedan así atrapados. El componente líquido de la sangre continúa su migración produciendo la solubilización del conjugado. Si la muestra de sangre tiene anticuerpos o antígenos, según sea el caso, éstos reaccionan con las partículas de oro conjugadas para formar inmunocomplejos que migran a través de la NC, originándose así la fase móvil del sistema.

En ausencia del analito en la muestra de sangre, esta línea de captura no se forma. Al mismo tiempo, el exceso de conjugado que no ha sido atrapado en la línea de captura, continúa

migrando hasta ser capturado por un reactivo fijado a la fase sólida que es capaz de reaccionar con el conjugado de oro coloidal, formándose así una segunda banda horizontal coloreada (que constituye la línea de control), como demostración de que los reactivos han funcionado correctamente. La línea de control se forma tanto con las muestras que contengan inmunocomplejos, como con las muestras negativas. El ensayo no se considera válido si esta línea no aparece.