

Mesa Redonda: Enfermedad celíaca en el siglo XXI

Enfermedad celíaca: factores genéticos

E. ARRANZ

Departamento de Pediatría e Inmunología. Universidad de Valladolid. Instituto de Biología y Genética Molecular-IBGM

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) es la intolerancia alimentaria más frecuente en nuestro medio, caracterizada por una lesión inflamatoria crónica del intestino delgado. En los países occidentales, la prevalencia ha sido estimada en el 0,2-0,5%, aunque se ha estado considerando muy por debajo debido a que sólo el 20-50% de los individuos afectados refieren síntomas. En su etiología multifactorial, interaccionan factores genéticos y ambientales, como el gluten, que actúa de agente desencadenante. Su carácter hereditario se manifiesta por un aumento de la prevalencia entre familiares (prevalencia familiar global: 10-15%), y una concordancia del 80% entre gemelos monocigotos. Genes polimórficos localizados dentro y fuera de la región MHC podrían contribuir de forma colectiva a la predisposición genética, y algunos están implicados en la regulación de la respuesta inmune frente al gluten. Se ha calculado que la participación del complejo HLA en la susceptibilidad genética es del 40%, mientras que la contribución aislada de otros genes sería mínima.

ENFERMEDAD CELÍACA Y GENES HLA

La EC muestra una de las asociaciones más fuertes con la región HLA-clase II conocida hasta ahora. En la mayoría de las poblaciones estudiadas (una excepción es la población indígena sudamericana), el 90-95% de los pacientes son portadores del mismo *heterodímero* HLA-DQ2, codificado por los alelos HLA-DQA1*0501 y DQB1*02, en posición *cis*, que se asocia a DR3 (más común en el centro y norte de Euro-

pa); o *trans*, en *heterocigotos* DR7/DR5 (más frecuente en los países mediterráneos). Sin embargo, alrededor del 25-30% de la población general tienen el *heterodímero* DQ2, lo que sugiere que otros genes (probablemente no-HLA) podrían ser relevantes.

El resto de los pacientes (5-10%) suelen portar un segundo *heterodímero*, DQ8 (mayoritario entre pacientes indígenas de Sudamérica), codificado por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302, asociado normalmente a DR4 (DRB1*04). Por último, los pacientes no portadores de DQ2 ni DQ8 pueden mostrar al menos uno de los dos alelos del DQ2 por separado (HLA-DQA1*0501 ó DQB1*02), y se han descrito muy pocos casos en los que ambos *alelos* de riesgo están ausentes.

Otra asociación con un riesgo aumentado es con DR7 en individuos DR3/DR7, que puede ser independiente del *efecto dosis* de DQB1*02 dado que los homocigotos DR3/DR3, con dos copias de DQB1*02, no tienen un riesgo mayor. También podría deberse a otro gen cercano y ligado a DR7, como DRB4 (codifica la molécula DR53) que aparece ligado a los *haplotipos* DR7, DR4 (ambos, asociados a la susceptibilidad celíaca), o DR9. En Castilla y León, sólo la mitad de los pacientes celíacos no portadores de DQ2 muestran el gen DRB4. Otro alelo estudiado en la susceptibilidad a la EC ha sido el DPB1*0101, aunque éste podría estar ligado al HLA-DQ.

Además, dentro de la región HLA, se han estudiado otros genes no-DQ, que podrían estar asociados a la susceptibilidad, como genes localizados en el locus MICA, y en loci de la región HLA-clase III, como TNF y SSP-70, aunque con resultados contradictorios. Las moléculas MICA (MHC-clase I no-clásicas) son expresadas por los enterocitos en situaciones de estrés, y sirven de ligando para linfocitos TCR $\gamma\delta$

y células con receptores NK-G2D. Se ha establecido una asociación entre las formas atípicas de EC (con manifestaciones digestivas mínimas o ausentes) y el polimorfismo MICA-A5.1 en pacientes portadores del heterodímero HLA-DQ2.

ENFERMEDAD CELÍACA Y GENES NO-HLA

Los factores genéticos localizados en la región HLA tienen un papel determinante en la susceptibilidad a la EC. Sin embargo, la concordancia del 30% entre hermanos con HLA idéntico, y el hecho de que sólo 1 de cada 50 portadores HLA-DQ2 o DQ8 desarrollen la enfermedad, sugieren la implicación de otros factores no-HLA, aunque éstos son los más desconocidos hasta ahora. Los estudios de ligamiento en el genoma completo han identificado áreas para futuros trabajos, aunque los resultados son poco concordantes. Entre las regiones que más interés han suscitado, están la localizadas en otras regiones cromosómicas, 5q31-q33 y 2q33. Para entender los resultados, hay que tener en cuenta la heterogeneidad de la enfermedad, posibles interacciones entre genes, o que los genes implicados, poco numerosos, puedan variar entre distintas poblaciones.

La mayoría de los pacientes DQ2 son portadores del haplotipo extendido DR3-DQ2 que incluye otros alelos que podrían ser considerados genes candidatos o modificadores del efecto de HLA-DQ2. Entre ellos hay genes funcionales, implicados en la inmunopatogenia, y genes posicionales, localizados en una región asociada a la enfermedad. Muchos genes funcionales se localizan en la región HLA, y tienen capacidad para modular la intensidad de la respuesta inmune o inflamatoria en un determinado individuo o población, como las variantes funcionales de los genes promotores de citoquinas (TNF α , TNF β , IL-12, IFN γ , etc.); y moléculas coestimuladoras de la membrana de los linfocitos T (CTLA-4 o CD80/CD86).

Los genes de TNF α y TNF β (linfotóxina) se localizan en la región HLA-clase II. Se ha asociado la susceptibilidad a determinadas enfermedades autoinmunes con polimorfismos de estos genes, en especial, formas con aumento de producción de TNF. En la EC, también se ha encontrado una asociación con la susceptibilidad, aunque se discute si es debida a un desequilibrio de ligamiento con los genes HLA-clase II o si su contribución es independien-

te. El aumento de la frecuencia del alelo A en la posición -308 del TNFA (TNFA*2), o de otro gen cercano, podría confirmar una contribución independiente, aunque otros estudios utilizando microsatélites sugieren lo contrario, al no hallarse diferencias entre pacientes y controles con el mismo HLA-DQ.

Nuestros resultados confirman la asociación entre TNFA*2 y otro polimorfismo del gen TNF β , TNFB*1, en la EC. Sin embargo, no podemos excluir que pueda deberse a un desequilibrio de ligamiento con el HLA-clase II, ya que los celíacos no portadores de DQ2 presentan una distribución de frecuencias de estos polimorfismos similar a los controles. A pesar de todo, hemos encontrado diferencias entre enfermos y controles sanos DQ2 positivos, lo que podría indicar que en este grupo de enfermos la implicación de los polimorfismos citados podría ser independiente del HLA-DQ.

Los linfocitos T se activan mediante dos señales, una específica a través del receptor TCR, que reconoce fragmentos de antígenos junto a moléculas HLA; y otra, inespecífica, por interacción entre moléculas de membrana del linfocito T (CD28 o CTLA-4) y de la célula *presentadora* de antígeno (CD80 / CD86). La señal mediada por CD28 es estimuladora, mientras que CTLA4 tiene el efecto contrario, al competir con CD28. En el hombre, se conocen 3 polimorfismos del gen CTLA4 (cromosoma 2q33) localizados en los *exones* 3 y 1, y en la región promotora del gen (los dos últimos, en desequilibrio del ligamiento). En la EC, se han identificado asociaciones con el polimorfismo del exon 1 por cambio de un nucleótido A/G, y con los polimorfismos del exon 1 y el 3'UTR, aunque no se han confirmado en otros estudios.

ESTUDIOS EN LA POBLACIÓN DE CASTILLA Y LEÓN

Como ocurre en otros países, la susceptibilidad genética está fuertemente asociada con los alelos HLA-DQA1*0501 y DQB1*02 (DQ2), identificados en más del 90% de los pacientes, mientras que la mayoría del grupo restante son DR4 (DRB1*04) y DQ8 (DQA1*03, DQB1*0302). Los pacientes DQ2 negativos representan el 6-8% y son más heterogéneos que poblaciones similares en otros países, un tercio son DR4, y otros muestran sólo uno de los alelos de riesgo

(DQA1*0501 o DQB1*02), u otros alelos no relacionados hasta ahora con la EC (como DQB1*06).

Por otra parte, al estudiar la segregación familiar de los alelos DQA1*0501 y DQB1*02, calculamos que existía un *efecto dosis* estadísticamente significativo para este segundo alelo, pero no para el DQA1*050. Esto quiere decir que en los individuos portadores de DQA1*0501 y DQB1*02, la presencia de una copia extra del alelo DQB1*02 aumenta el riesgo de la enfermedad, mientras que para el alelo DQA1*0501 sólo es importante su presencia pero no el número de copias disponible.

La frecuencia del polimorfismo en posición -308 del alelo 2 del TNFA aumenta en los pacientes celíacos respecto a la población general, aunque debido a la proximidad física de la región HLA-clase II, no podemos descartar un desequilibrio del ligamiento. Sin embargo, al estudiar a los pacientes DQ2 positivos por separado, o que portan uno de los alelos de riesgo (DQA1*0501, DQB1*02), las diferencias con el grupo control se mantienen, lo que indicaría una asociación independiente del HLA. En el contexto de una enfermedad poligénica, la presencia de este polimorfismo no parece ser necesaria ni suficiente para desarrollar la enteropatía, puesto que la distribución de frecuencias es similar entre pacientes DQ2 positivos y controles. Esta situación podría repetirse con otros marcadores genéticos, si se confirman las diferencias entre paciente celíacos DQ2 positivos y negativos, traduciéndose, quizá, en un mecanismo patogénico distinto.

UTILIDAD DE LOS MARCADORES GENÉTICOS DE RIESGO

La utilidad de los marcadores serológicos y genéticos de la EC debe ser siempre considerada en el contexto de la clínica, y teniendo a la biopsia intestinal como la principal prueba diagnóstica. El estudio de los *alelos* HLA-DQA1*0501 y DQB1*02 permite seleccionar a individuos de alto riesgo entre familiares de celíacos, y entre pacientes con enfermedades asociadas (diabetes *mellitus*, síndrome de Down o algunas enfermedades autoinmunes, etc.). Estos casos con marcadores positivos exigen mantener un grado de vigilancia mayor y un seguimiento clínico y analítico periódico.

Aunque se puede descartar este tipo de estudios en todos los familiares de pacientes, los marcadores genéticos son un

criterio importante para dirigir el diagnóstico diferencial ante la sospecha clínica, en especial, cuando la biopsia o las pruebas serológicas son poco claras. Su indicación puede estar en aquellos casos de diagnóstico difícil por presentar un patrón histológico o inmunológico poco claro (déficit de IgA, etc.), casos de EC latente con anticuerpos antiendomiso positivos pero biopsia normal, o como apoyo diagnóstico cuando no se dispone de biopsia por contraindicación o rechazo. Tampoco hay que olvidar que el 25% de la población general es portadora de estos *alelos* y, por tanto, no puede utilizarse como prueba específica.

En general, la ausencia de marcadores genéticos de riesgo en un hijo o hermano de un paciente nos permitiría afirmar que es muy improbable que la enfermedad se desarrolle en un futuro. Por el contrario, si los marcadores son positivos, es muy difícil predecir si esta persona será celíaca o no. Es cierto que estos familiares directos tienen un riesgo mucho más elevado que la población general pero, aunque la asociación de estos alelos HLA con la EC es muy fuerte, ésta no es exclusiva, y queda por aclarar cómo actúan otros factores para que la enfermedad se manifieste o no.

El hecho de que la mayor parte de los individuos DQ2 positivos no desarrollen la enfermedad, invalida su utilidad en la población general como marcador de intolerancia al gluten. Sin embargo, su presencia aumenta considerablemente el riesgo a padecer la EC en aquellos casos en los que existen otros factores, como ser familiar de un paciente, síndrome de Down, déficit de IgA, o alguna de las enfermedades asociadas (diabetes mellitus, etc.). En estos casos, es aconsejable determinar periódicamente los niveles de anticuerpos antiendomiso o antitransglutaminasa, sin olvidar que aún no conocemos cuáles son los factores desencadenantes de la enfermedad, y que un resultado negativo de estos marcadores no significa que el riesgo haya disminuido.

Hay que señalar, por último, que el análisis molecular de la asociación entre el sistema HLA y la EC (por otro lado, una de las mejor definidas) puede ser importante para el diseño de nuevas *vacunas* o estrategias de tratamiento. En este sentido, se ha identificado la fracción tóxica del gluten capaz de unirse de forma restrictiva al heterodímero DQ2 en los pacientes con EC, lo que permitirá en un futuro más o menos próximo, el bloqueo o la modificación de estos epítomos, o el diseño de otras estrategias de intervención para alterar o impedir el desarrollo de la EC en individuos susceptibles a ello.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arranz E, et al. HLA-DQA1*0501 and DQB1*02 homozygosity and disease susceptibility in Spanish coeliac patients. *Exp Clin Immunogenet* 1997; **14**: 286-90.
2. Catassi C, et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994; **343**: 200-3.
3. Clot F, et al. Linkage and association study of the CTLA-4 region in coeliac disease for Italian and Tunisian populations. *Tissue Antigens* 1999; **54**: 527-30.
4. DelaConcha EG, et al. Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Hum Immunol* 2000; **61**: 513-7.
5. Djilali-Saiah I, et al. CTLA-4 gene polymorphism is associated with predisposition to coeliac disease. *Gut* 1998; **43**: 187-9.
6. Fernández L, et al. Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene in celiac disease. *Tissue Antigens* 2002; **59**: 219-22.
7. Garrote JA, et al. The HLA-DRB4 gene is present in half of the Spanish HLA-DQ2-negative celiac patients. *Immunogenetics* 2000; **51**: 1045-6.
8. Greco L, et al. Genome search in celiac disease. *Am J Hum Genet* 1998; **62**: 669-75.
9. Greco L, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002; **50**: 624-8.
10. Holopainen P, et al. CD28/CTLA4 gene region on chromosome 2q33 confers genetic susceptibility to celiac disease. A linkage and family-based association study. *Tissue Antigens* 1999; **53**: 470-5.
11. Kaukinen K, et al. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**: 695-9
12. López-Vázquez A, et al. MHC class I chain related gene A (MICA) modulates the development of coeliac disease in patients with the high risk heterodimer DQA1*0501/DQB1*0201. *Gut* 2002; **50**: 336-40.
13. McManus R, et al. TNF2, a polymorphism of the tumour necrosis-alpha gene promoter, is a component of the celiac disease major histocompatibility complex haplotype. *Eur J Immunol* 1996; **26**: 2113-8.
14. Nalvai A, et al. The CTLA-4/CD28 gene region on chromosome 2q33 confers susceptibility to celiac disease in a way possibly distinct from that of type-1 diabetes and other chronic inflammatory disorders. *Tissue Antigens* 2000; **56**: 350-5.
15. Peña AS, et al. Advances in the immunogenetics of coeliac disease. Clues for understanding the pathogenesis and disease heterogeneity. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998; **225**: 56-8.
16. Pérez-Bravo F, et al. Genetic differences in HLA-DQA1* and DQB1* allelic distributions between celiac and control children in Santiago, Chile. *Hum Immunol* 1999; **60**: 262-7.
17. Polvi A, Maki M, Collin P, Partanen J. TNF microsatellite alleles a2 and b3 are not primarily associated with celiac disease in the Finnish population. *Tissue Antigens* 1998; **51**: 553-5.
18. Polvi A, et al. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol* 1998; **59**: 169-75.
19. Ramos-Arroyo MA, et al. Heat-shock protein 70-1 and HLA class II gene polymorphisms associated with celiac disease susceptibility in Navarra (Spain). *Human Immunol* 2001; **62**: 821-5.
20. Sollid LM, et al. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQa/b heterodimer. *J Exp Med* 1989; **169**: 345-50.
21. Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol* 2000; **18**: 53-81.