

# Enfermedad celíaca

Bases moleculares del  
diagnóstico de laboratorio

# Enteropatía autoinmune-(inmuno- genética)

***Predisposición genética***

(la conocida es necesaria, pero no suficiente)


+

**Ingesta de proteínas de cereales tóxicos**


(antígenos exógenos)

+

**Infección??**



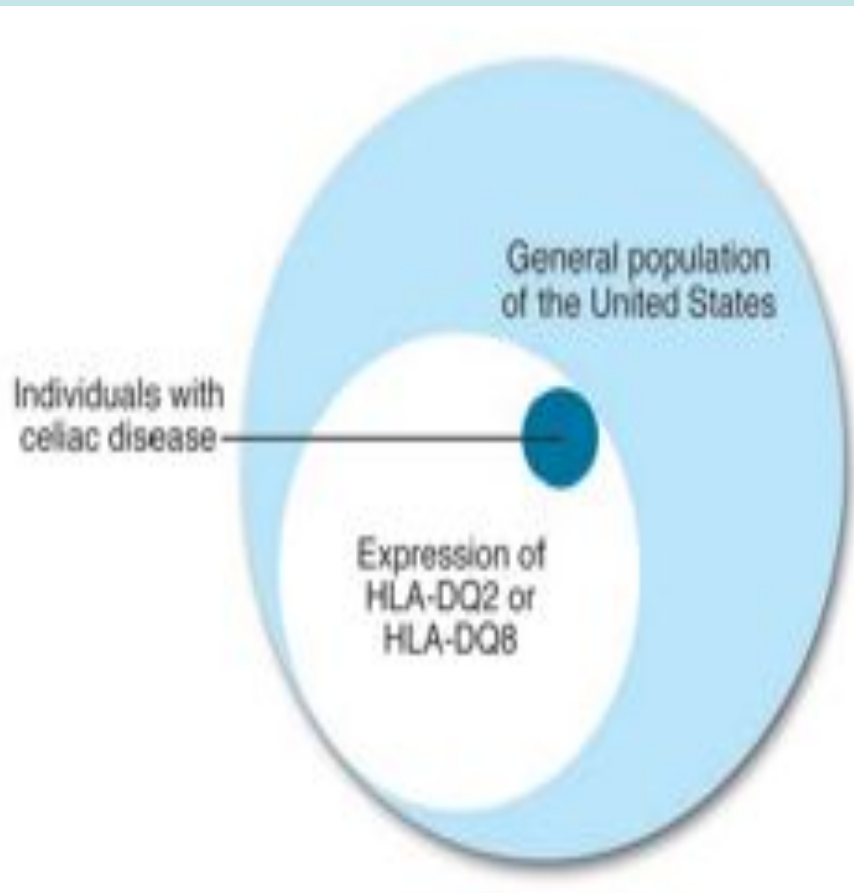
Desencadenamiento  
de la patología con lesiones  
características de la mucosa  
de **intestino delgado** revelada  
por **biopsia**



Elevación de **Anticuerpos Anti-  
gliadina nativa y desamidada**  
**Anti-transglutaminasa (auto-  
anticuerpos)**

# ***La predisposición genética***

- Los alelos que predisponen codifican para el heterodímero del MHC clase II, HLA-DQ



## **Heterodímeros presentes en los pacientes celíacos:**

- HLA-DQ2 (90-95 %): codificado por los alelos *DQB1\*02* y *DQA1\*05*
- HLA DQ8 (5-10 %) : codificado por los alelos *DQB1\*0302* *DQA1\*03*

- No obstante hay un elevado porcentaje de la población (20%) que porta los alelos y nunca adquiere la patología.

# ***El diagnóstico inmunológico***

- IgA anti-gliadina.
- IgA antitransglutaminasa(EMA)
- IgA e IgG anti- péptidos de gliadina selectivamente desamidados (PGD).

# ***¿Qué relación existe?***

***Entre:***

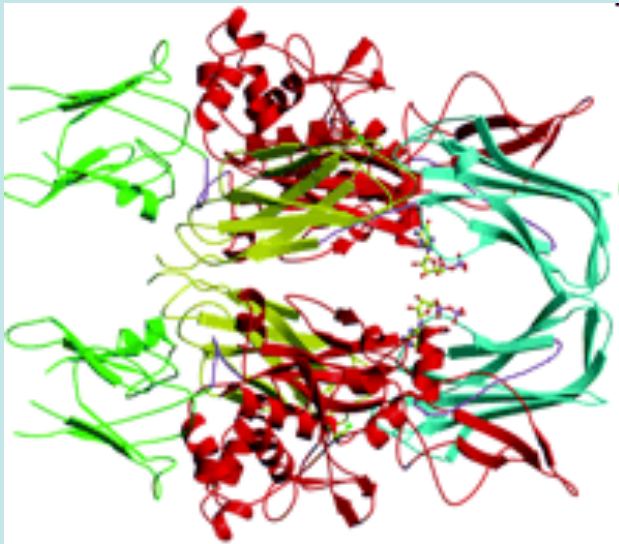
- La predisposición genética
- La transglutaminasa de tejido (tTG)
- Los péptidos de gliadina selectivamente desamidados

Y

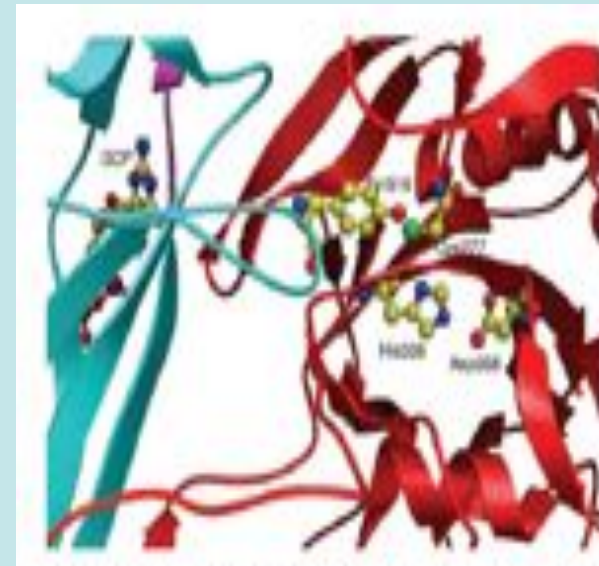
***Los anticuerpos respectivos***

# LA TRANSGLUTAMINASA DE TEJIDO (EC. 2.3.2.13): EL ANTÍGENO BLANCO PRINCIPAL DE LOS AUTOANTICUERPOS

Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease.  
Dieterich, W., et al. *Nat. Med* 1997..



*PNAS* (2002)

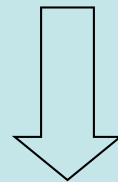


**Cys-277, His-335, Asp-358**

## ***¿Cuáles son los **sustratos** de la reacción calcio- dependiente catalizada por la tTG?***

1-Polipéptidos que posean **glutaminas (Q)** insertas en motivos estructurales específicos, preferentemente con **prolinas (P)** en determinadas posiciones.

2-Pueden utilizar un segundo sustrato que posea aminas primarias, o bien el segundo sustrato es el agua



Los **cereales tóxicos (TACC)** poseen proteínas con secuencias ricas en **P** y **Q**, presentes en diversos motivos repetitivos, por lo tanto son sustratos específicos de la enzima. (particularmente las prolaminas de trigo o **gliadinas**)

*Diversos trabajos demostraron cuáles son las secuencias que requiere la tTG , que están presentes en las proteínas de los cereales tóxicos y que siguen un patrón de **desamidación selectivo***

VPVPQLQPQNPSQQQPQEQVPL  
 PLVQQQQFLGQQQPFPQ

Pattern	Effect on deamidation
QP ↓	no deamidation
QXP ↓	no deamidation
QXP ↑	good deamidation
QXX(F,Y,W,M,L,I,V) ↑	good deamidation
QXP(F,Y,W,M,L,I,V) ↑	good deamidation

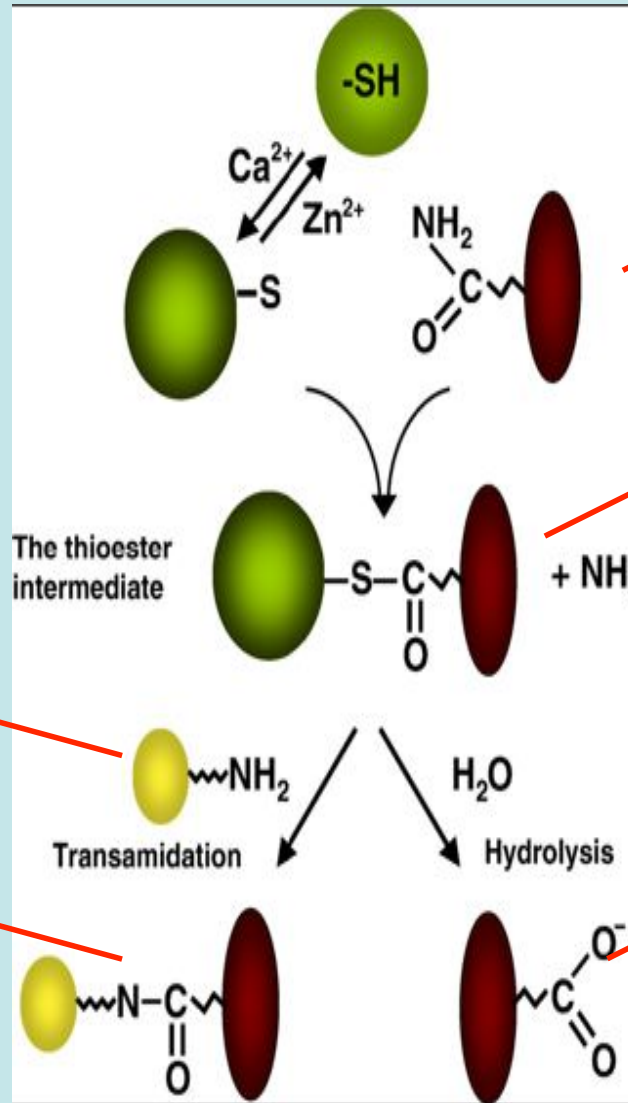
**Specificity of Tissue Transglutaminase Explains Cereal Toxicity in Celiac Disease**

L. Willemijn Vader, Arnoud de Ru, Yvonne van der Wal, Yvonne M.C. Kooy, Willemien Benckhuijsen, M.Luisa Mearin, Jan Wouter Drijfhout, Peter van Veelen, and Frits Koning *J. Exp. Med.* 2004



# Productos posibles:

péptidos desamidados y péptidos unidos covalentemente a proteínas (tTG)



Péptidos de gliadina con glutaminas (Q)

Péptidos de gliadina unidos por enlace tioéster a la tTG

Péptidos selectivamente desamidados: Q→E (carga negativa)

Residuo amino de proteína (tTG)

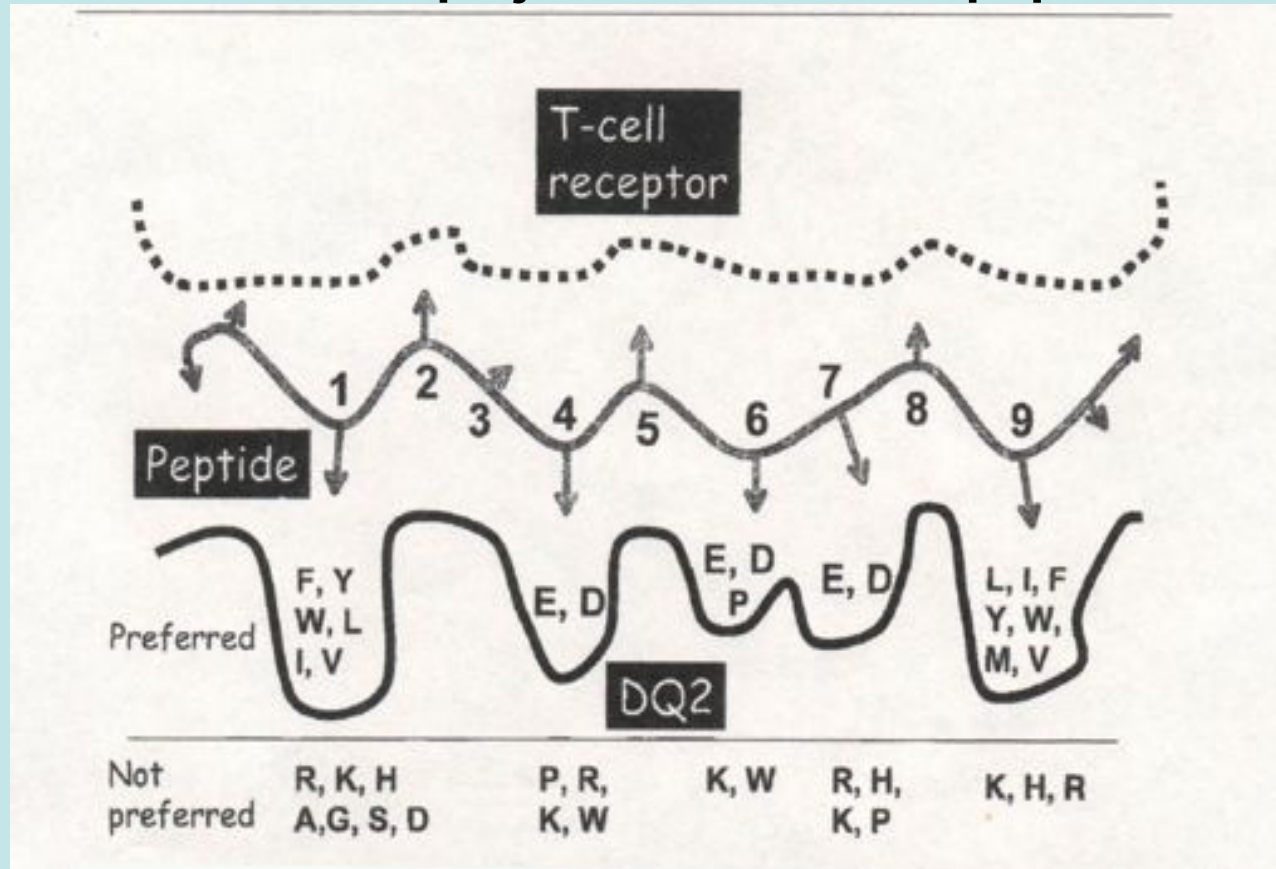
Complejo péptido + tTG (enlace isopeptídico)

Se ha demostrado la presencia de esos productos por la acción de la enzima sobre péptidos de gliadina y por lo tanto se establece una **relación entre la tTG y péptidos de gliadina desamidados**

Molecular Characterization of Covalent Complexes between Tissue Transglutaminase and Gliadin Peptides. Fleckenstein B et al ***JBC (2004)***

# ¿Cuál es la relación entre predisposición genética y los péptidos selectivamente desamidados?

Estructura del complejo ternario:HLA+ péptido+ TCR

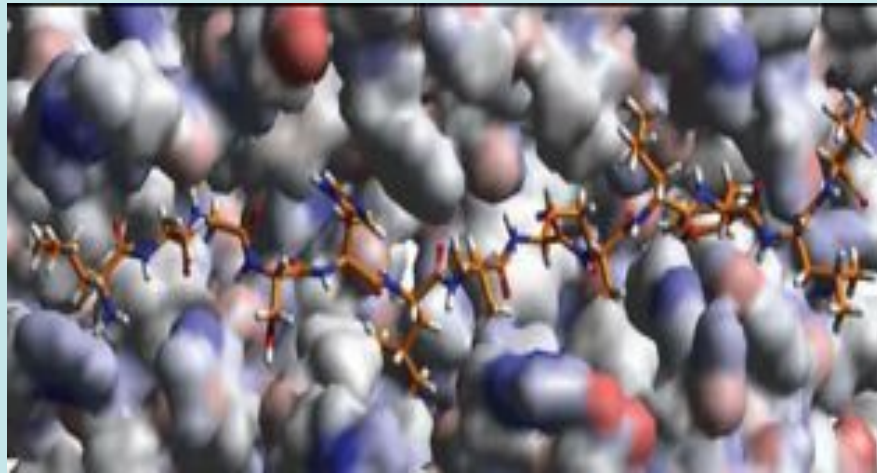


Molecular basis of celiac disease. Ludvig M. Sollid *Annu. Rev Immunol* 2000

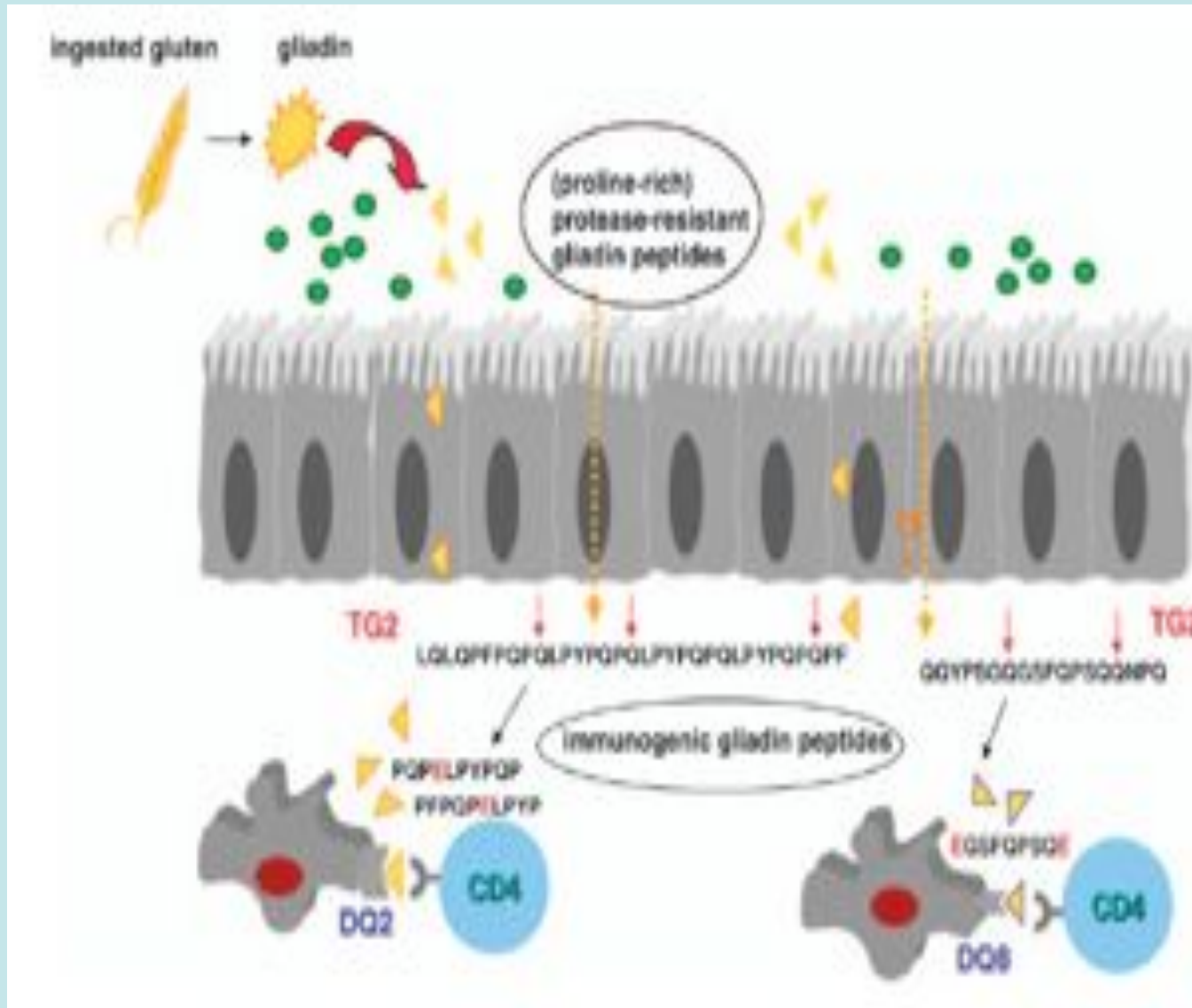
**La desamidación selectiva transforma los péptidos de gliadina en epitopes T más eficientes para DQ2 y DQ8**

- El heterodímero que corresponde a DQ2 (o DQ8) tiene afinidad por péptidos que poseen prolinas y además portan carga negativa en determinadas posiciones de anclaje. Las gliadinas poseen prolinas, pero pocos residuos negativos.
- La tTG los desamida selectivamente y los transforma en péptidos mejor reconocidos por el heterodímero específico.

Large-Scale Characterization of Natural Ligands Explains the Unique Gluten-Binding Properties of HLA-DQ2. Dariusz Stepniak, Martina Wiesner, Arnoud H. de Ru, Antonis K. Moustakas, Jan Wouter Drijfhout, George K. Papadopoulos, Peter A. van Veelen, and Frits Koning\* *The Journal of Immunology*, 2008,



Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune Diseases S. Caillat-Zucman *Tissue Antigens* 2008





# Trabajos que avalan la hipótesis

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Biochimica et Biophysica Acta 1699 (2004) 220–230

<http://www.elsevier.com/locate/bba>

**BBA**

Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease

Hanne Skovbjerg<sup>a,b,\*</sup>, Claus Koch<sup>c</sup>, Dorit Anthonen<sup>a</sup>, Hans Sjöström<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Medical Biochemistry and Genetics, The Panum Institute, University of Copenhagen, Denmark  
<sup>b</sup>Medical Centre, Amager Hospital, University of Copenhagen, Denmark  
<sup>c</sup>Department of Immunology, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark

Received 15 April 2004; received in revised form 11 June 2004; accepted 15 June 2004  
 Available online 10 July 2004

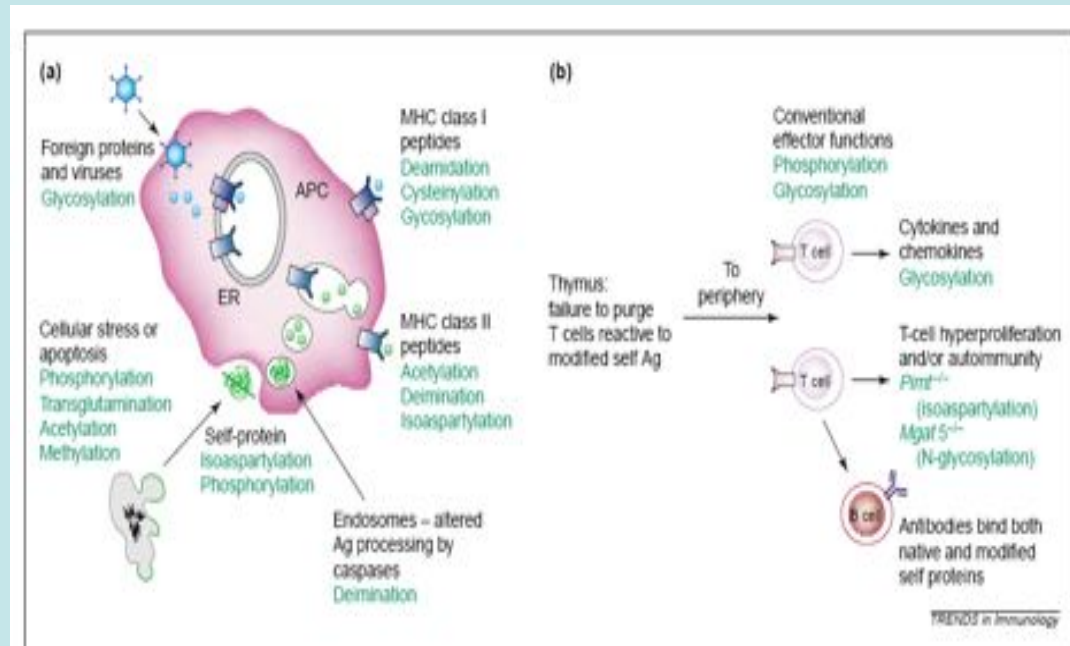
TRENDS in Immunology Vol. 25 No. 4 August 2004 441

## Post-translational protein modifications in antigen recognition and autoimmunity

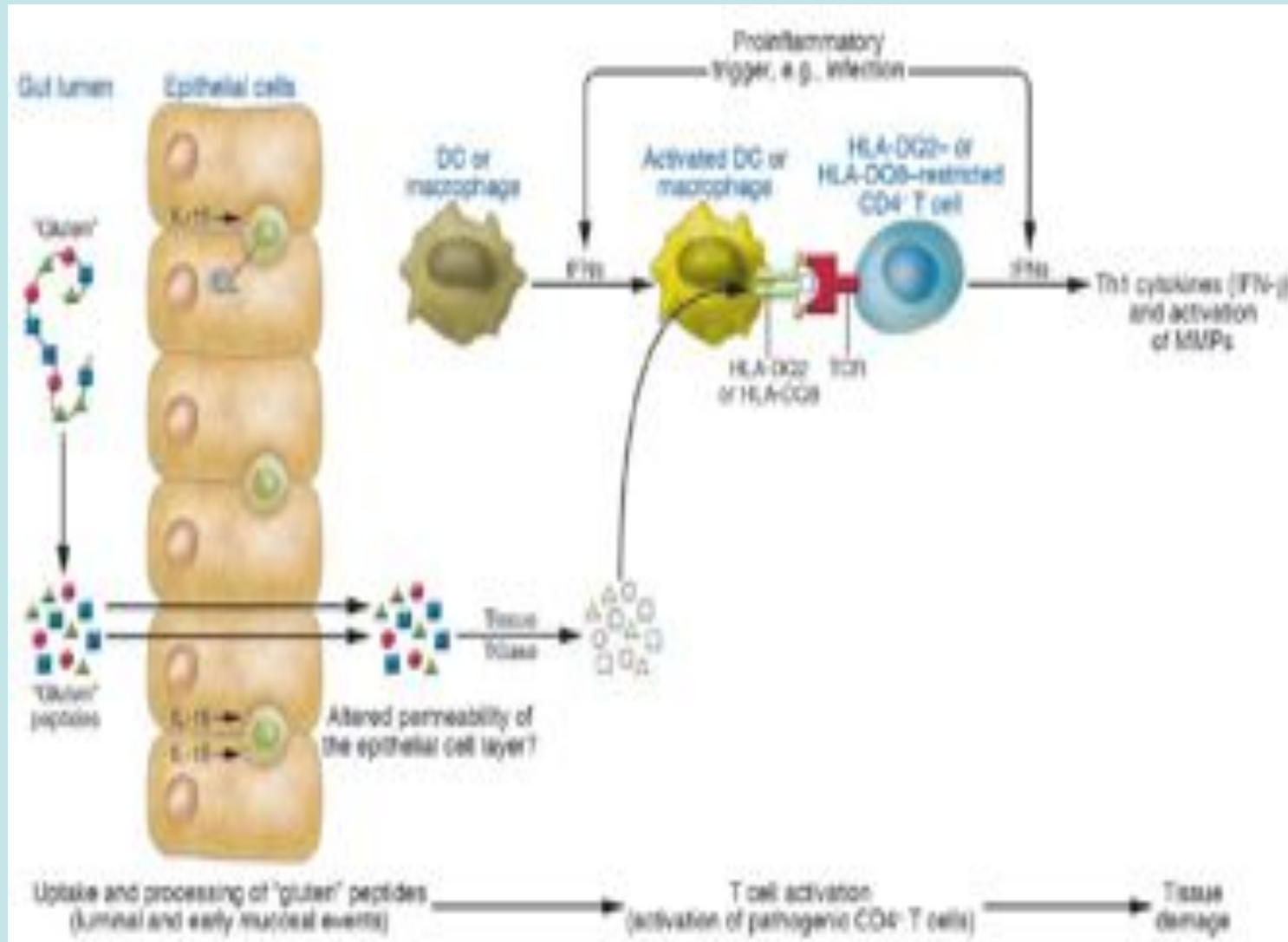
Hester A. Doyle and Mark J. Mamula

It is estimated that 10–40% of the proteins in the human body are post-translationally modified. In the proper context, these modifications are necessary for the biological functions of a vast array of proteins and the effector functions of the cells in which they reside. However, it is now clear that some post-translational modifications can create new self antigens (Ag) or even mask Ags normally recognized by the immune system. In either case, they profoundly affect the recognition of Ag by bone marrow-derived cells, as well as their effector functions. How do post-translational protein modifications affect the processing of foreign and self Ag, and what is their role in the origin of autoimmune responses?

particular amino acid will also decrease the probability of a particular modification. For example, the motif Xaa-Asp-Xaa (X=Thr) Xaa is required for N-glycosylation. Also, sequence-regulated modifications at a site can influence accessibility to the particular enzyme that mediates the modification. Second, the intra- and extracellular locations of individual modifying enzymes will influence the changes that occur to specific proteins. Typically, enzymes that mediate modifications are



## Los cereales tóxicos, la tTG, la predisposición genética, los péptidos desamidados y la inmunopatología



Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease Martin F. Kagnoff. **The Journal of Clinical Investigation** (2007).



Los anticuerpos anti-tTG y antipéptidos desamidados(PGD) resultan marcadores específicos y sensibles de la patología

# *Los anticuerpos anti-tTG*

Autoantibodies to tissue transglutaminase  
as predictors of celiac disease

Walburga Dieterich, Eberhardt Laag, Heike Schöpfer, Umberto Volta, Anne Ferguson, Helen Gillett,  
Ernst Otto Riecken and Detlef Schuppan. *Gastroenterology* 1998

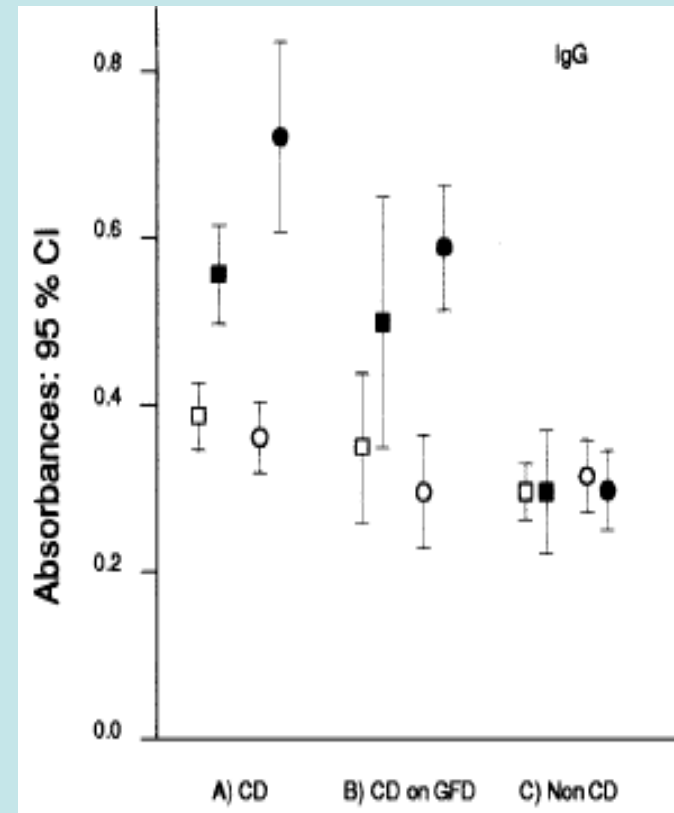
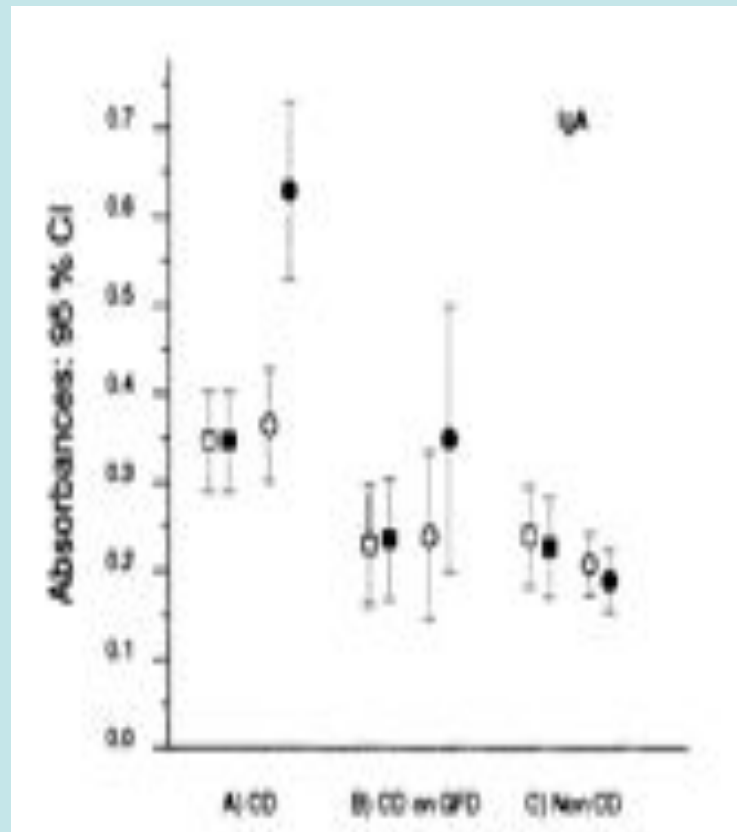
**IgA anti-tTG : 98.1% sensibilidad  
94.7% especificidad  
(con una correlación positiva con IgA EMA)**

# Los anticuerpos anti-DPG

Celiac Disease: Antibody Recognition against Native and Selectively Deamidated Gliadin Peptides.  
 Mabel Aleanzi, Ana María Demonte, Cecilia Esper, Silvia Garcilazo, and Marta Waggener *Clinical Chemistry* (2001).

N-1: QLQPF<sup>Q</sup>PQPQLPYYPQPQS  
 D-1: QLQPF<sup>E</sup>PQPELPYPQPQS

N-2: QP<sup>Q</sup>QPQQSFP<sup>Q</sup>Q<sup>Q</sup>RPF  
 D-2: QP<sup>E</sup>QPQQSFPE<sup>E</sup>Q<sup>E</sup>RPF



***Diversos trabajos han confirmado la especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de los tests basados en péptidos desamidados como antígenos de captura***

Serologic Assay Based on Gliadin-Related Nonapeptides as a Highly Sensitive and Specific Diagnostic Aid in Celiac Disease Elke Schwertz, Franka Kahlenberg, Ulrich Sack, Thomas Richter, Martin Stern, Karsten Conrad, Klaus-Peter Zimmer, and Thomas Mothes. ***Clinical Chemistry (2004)***

Antibodies against Synthetic Deamidated Gliadin Peptides as Predictors of Celiac Disease: Prospective Assessment in an Adult Population with a High Pretest Probability of Disease. Sonia Niveloni Emilia Sugai, Ana Cabanne, Horacio Vazquez, Julio Argonz, Edgardo Smecuol, Mari´a L. Moreno, Fabio Nachman, Roberto Mazure, Zulema Kogan, Juan C. Gomez, Eduardo Maurin o, and Julio C. Bai1. ***Clinical Chemistry (2007)***

Evaluation of the INOVA Diagnostics Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Measuring Serum Immunoglobulin G (IgG) and IgA to Deamidated Gliadin Peptides Harry E. Prince ***CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, Jan. 2006,***

## ***tTG o DPG como antígeno?***

Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. N. R. LEWIS & B. B. SCOTT.

***Aliment Pharmacol Ther (2009)***

Table 3. Performance of IgA-DGP vs. IgA-tTG to diagnose or exclude coeliac disease (95% confidence limits in brackets)

Analysis	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	DOR (95% CI)
All IgA-DGP studies	87.8 (85.6, 89.9)	94.1 (92.5, 95.5)	13.33 (9.64, 18.42)	0.12 (0.08, 0.18)	133.33 (70.50, 252.13)
All IgA-tTG studies	93.0 (91.2, 94.5)	96.5 (95.2, 97.5)	25.62 (15.64, 41.99)	0.07 (0.05, 0.12)	405.22 (220.39, 745.06)

**Según este estudio, el poder discriminante de los anticuerpos anti-tTG es superior al de los anti-DPG**

## ***De acuerdo al trabajo:***

### Natural History of Antibodies to Deamidated Gliadin Peptides and Transglutaminase in Early Childhood Celiac Disease

\*Edwin Liu, \*Marcella Li, \*Lisa Emery, \*Iman Taki, \*Kathy Barriga, †Claudio Tiberti, \*George S. Eisenbarth, \*Marian J. Rewers, and \*Edward J. Hoffenberg

***Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2007***

- Los anticuerpos anti-PGD y anti-tTG van en paralelo durante el período de años de estudio en niños.
- Los anti-PGD se normalizan antes en dieta libre de gluten, y suelen aparecer antes que los anti-tTG por lo que son más útiles para el monitoreo.

# **CONCLUSIÓN**

- Tomando como base distintos trabajos publicados, el poder discriminante de ambos tests, IgA anti-PGD y anti-tTG es similar, aunque el IgA anti-tTG es ligeramente superior.
- La utilización de PGD como antígeno permite la evaluación de IgA e IgG.
- La evaluación de IgA anti-tTG conjuntamente con IgA e IgG anti-PGD aumentaría aún más el poder predictivo positivo y negativo del diagnóstico serológico.
- La disminución más temprana y sensible de los anti-PGD, bajo dieta libre de gluten, indicaría una mayor utilidad de los mismos para el control.

**Muchas gracias**