

Anticorprii antitransglutaminază tisulară

Tissular antitransglutaminase antibodies

Dr. GABRIEL SAMAȘCA, Dr. ALEXANDRU PÎRVAN, Dr. DORIN FARCĂU, Dr. DORU DEJICA
Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

REZUMAT

Descoperirea transglutaminazei tisulare a marcat începutul unei noi ere în diagnosticul bolii celiace. Cu toate noile provocări, testul imunoenzimatic pentru determinarea transglutaminazei tisulare a rămas cel mai eficient în screeningul bolii celiace.

Cuvinte cheie: transglutaminaza tisulară, test screening, boala celiacă

ABSTRACT

Discovery of tissue transglutaminase marked a new era in the diagnosis of celiac disease. With all the new challenges, immunoenzymatic assay for determining tissue transglutaminase remained the most effective in celiac disease screening.

Key words: tissue transglutaminase, screening test, celiac disease

INTRODUCERE

Istoric

În anul 1997, Dieterich și colab. (1) arătau că imunoprecipitarea celulelor umane lizate din fibrosarcom (linia HT1080) cu fracțiunea IgA din probe de ser ale pacienților cu celiachie, evidenția într-o singură bandă, o proteină cu o greutate moleculară de 85 kDa. Antigenul 85 kDa obținut a fost tratat cu endoproteinaza ASP-N, o zinc-metaloendopeptidază care clivează selectiv legăturile peptidice N-terminale ale acidului aspartic,

și după analiza secvenței amino-terminale, cei trei produși ai disocierii au fost atribuiți transglutaminazei tisulare (TTG). În scopul de a dovedi că TTG obținută din celulele de fibrosarcom se leagă de anticorprii serici endomisiali celiaci (EMA), autorii au efectuat imunofluorescență indirectă pe țesut de esofag de maimuță din probe de ser ale pacienților cu boală celiacă, cu sau fără incubare prealabilă a acestor probe cu o TTG disponibilă în comerț (Sigma, Deisenhofer, Germania). Pretratarea cu TTG a eliminat aproape complet EMA. Astfel, aceștia conclu-

Adresă de corespondență:

Dr. Samașca Gabriel, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu-Hațieganu”, Str. Câmpeni, Nr. 2-4, 400217, Cluj-Napoca
email: Gabriel.Samasca@umfcluj.ro

zionau că enzima TTG este autoantigenul unic și principal, recunoscut de către EMA în boala celiacă.

Despre rolul TTG, Uhlig H și colab. (2) sugerau că, legarea gliadinei la componentele reticulare matriciale, observată pe diferite secțiuni de țesuturi, ar fi mediată de TTG, fapt confirmat mai târziu de studiul lui Ciccocioppo și colab. (3) care demonstra prin imunofluorescență abilitatea anticorpilor TTG circulanți de a recunoaște complexe obținute prin imunoprecipitare de TTG și gliadină. Studiile de biologie moleculară au încadrat TTG ca aparținând familiei de enzime care catalizează modificarea posttranslațională a proteinelor catalizate Ca²⁺ și dependentă de reticulare (4).

Anii 2000 au marcat includerea reacției ELISA pentru TTG izotip IgA, acceptată de către Grupul European de Lucru în screeningul Bolii celiace, ca „metodă robustă” în studiile populaționale pentru determinarea prevalenței bolii celiace. În același timp, Korponay-Szabó IR și colab. (5) precizau că pe lângă EMA, TTG este detectată și de anticorpii antireticulină și antijejunali, ceea ce indica faptul că acești autoanticorpi tisulari sunt identici. În această perioadă TTG a fost inclusă și în studiul grupelor de risc ale bolii celiace. Agardh D și colab. (6) arătau că AcTTG IgA sunt asociați cu HLA-DQB1*02, ca autoanticorpi cu o sensibilitate și specificitate ridicată pentru boala celiacă silențioasă, în diagnosticul diabetului zaharat tip 1. Bilbao și colab. (7) recomandau utilizarea TTG izotip IgG în combinație cu alți antigeni, în screeningul bolilor autoimune.

Acceptarea TTG ca metodă de diagnostic în boala celiacă la al-2-lea Congres Mondial de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție din Paris 2004 a marcat începutul unei noi perioade în diagnosticul enteropatiei glutenice. Faptul că reacția a prezentat o sensibilitate și specificitate mare, a determinat folosirea ei ca metodă de screening în diagnosticul bolii celiace netratate, respectiv formularea unui diagnostic prezumtiv de boală celiacă (8), care necesită apoi confirmare prin biopsie intestinală (9). De asemenea, în 2006, American Gastroenterological Association (AGA), la o revizuire a testelor serologice, recomandă utilizarea AcTTG-IgA ca cel mai eficient test serologic pentru diagnosticul și excluderea bolii celiace asimptomatice (10).

Ultimul consens în boala celiacă din anul 2008, sub egida Federației Internaționale a Societăților de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică (11), a arătat că anticorpii AcTTG-IgA sunt universal acceptați și recomandați în screeningul bolii celiace, dar în deficitul de IgA se recomandă testarea AcTTG-IgG.

ROLUL DE ENZIMĂ

TTG este o enzimă calciu-dependentă ubiquitară, atât în interiorul cât și în afara celulei. Rolul ei enzimatic este de a cataliza covalent două grupuri reziduale de lizină și glutamine, creând între acestea o legătură isopeptică, foarte rezistentă și stabilă la liza proteinelor. Această activitate îi conferă un rol important în apoptoză, diferențierea celulară și formarea de matrice extracelulară. De asemenea, capacitatea TTG de a media transducția semnalului biologic, ca proteină G de cuplaj, ar putea contribui la implicarea sa în reglarea progresiei ciclului celular (4).

ROLUL ÎN BOALĂ

În boala celiacă deamidarea enzimatică de către TTG se efectuează electiv pe anumite reziduuri de glutamină ale gliadinei, ceea ce este crucial în legarea acestor peptide de heterodimerii DQ2 și DQ8 și prezentării lor limfocitului T CD4+.

Studii recente sugerează că TTG joacă un rol important în inflamații, boli degenerative și tumorale (12). Anticorpii serici împotriva TTG mai pot fi întâlniți în infecțiile virale cu rotavirus (13) și artrita reumatoidă (14). O frecvență crescută a infecțiilor cu rotavirus poate crește riscul apariției bolii celiace în copilărie, în cazul persoanelor predispușe genetic.

ROLUL ÎN DIAGNOSTIC

Dezvoltarea testării ELISA pentru TTG a permis automatizarea testului pentru detecția AcTTG-IgA. Ca rezultat, multe laboratoare au înlocuit vechile teste serologice (antiendomisium, anti gliadină, antireticulină) cu testul pentru AcTTG-IgA.

PERFORMANȚELE TESTULUI

Prima generație utiliza ca antigeni proteine de cobai, dar acestea furnizau numeroase rezultate pozitive, în special la subiecții cu risc de boli autoimune, lucru demonstrat de mai multe studii din acea perioadă, care arătau o lipsă de concordanță 100% (15,16,17) între AcEMA-IgA și AcTTG-IgA. Ca atare, AcTTG-IgA subestima prezența bolii celiace, fiind recomandată utilizarea EMA pentru a mări specificitatea (18) acesteia, valoarea diagnostică a AcTTG-IgA fiind prezentată ca intermediară între AcEMA-IgA și anticorpii anti gliadină (19). Testele actuale, cu

specificitate mai ridicată, utilizează ca antigeni proteine umane recombinante și purificate (20) (Tabelul 1).

Tabelul 1. Performanțele cronologice ale testului

An	Studii	Sensibilitate	Specificitate
1998	Sulkanem și colab. (21)	94,8%	93,7%
1999	Vitoria și colab (22)	100%	94%
2000	Stern și colab. (23)	93%	95%
2001	Bardella și colab. (24)	100%	98,2%
2002	West și colab. (18)	86,2%	91%
2003	Johnston și colab. (19)	86%	84%
2004	Viola și colab. (25)	93,1%	93,6%
2005	Collin și colab. (26)	94%	99%
2006	Zintaras și colab. (20)	94%	94,5%
2007	Agardh (27)	97%	97%
2008	Setty și colab. (28)	98%	96%
2009	Parizade și colab. (29)	90,6%	96,8%
2010	Volta și colab. (30)	93%	96,5%

SENSIBILITATEA ACTTG-IGA

Urmărirea evoluției sensibilității testului în timp ne arată o evoluție paralelă ondulatorie a valorilor acestuia cu cele ale AcEMA-IgA, cu o ușoară descreștere între anii 2002-2004, când a avut loc trecerea de la antigeni formați din

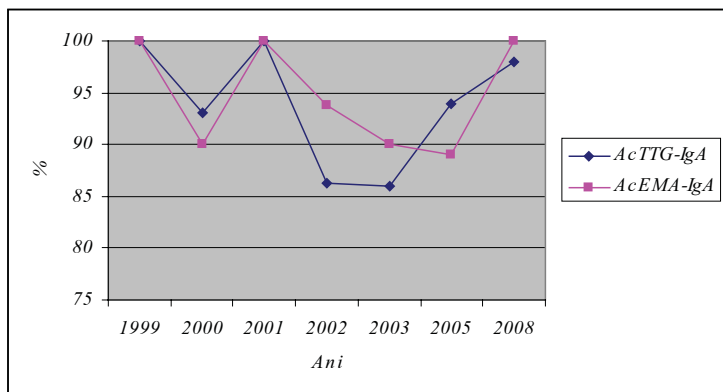


Figura 1. Evoluția în timp a sensibilității AcTTG-IgA

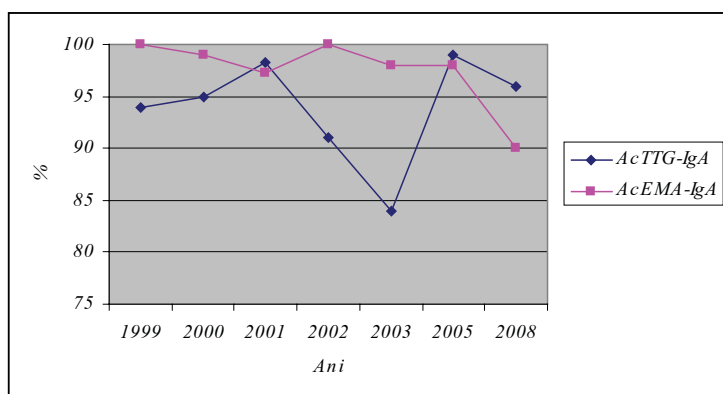


Figura 2. Evoluția valorilor specificității AcTTG-IgA

proteine de cobai la antigeni umani recombinanți și purificați (Figura 1)

Specificitatea AcTTG-IgA

Urmărirea evoluției specificității testului ne arată o evoluție ondulatorie a valorilor, în timp ce specificitatea AcEMA-IgA a rămas constantă la niveluri crescute (Figura 2).

RELAȚIA CU EXAMENUL HISTOPATOLOGIC

Biopsia duodenală rămâne standardul de aur în diagnosticul bolii celiace. Totuși, nivelurile crescute de AcTTG-IgA sau AcEMA-IgA la un pacient cu vilozitățile intestinale normale ne orientează spre o boală celiacă în curs de dezvoltare (31). Dar, reactivitatea de peste 100 unități a AcTTG-IgA a fost întotdeauna legată de modificările histologice ale biopsiilor intestinale, respectiv cu faza activă a bolii celiace (32), astfel încât unele studii recente recomandă renunțarea la efectuarea biopsiei intestinale la pacienții cu niveluri ridicate ale TTG IgA, fapt ce evită o procedură invazivă și ar duce la un diagnostic și un tratament mai rapid al bolii celiace (33).

Collin și colab. (26), într-un studiu european multicentric, susțin că având în vedere procentul ridicat de biopsii duodenale sărace în modificări histologice, diagnosticul bolii celiace nu trebuie să depindă numai de biopsie. În prezent, testele serologice de screening sunt utilizate în principal pentru a identifica acele persoane care au nevoie de o biopsie duodenală ca test de diagnostic (29), prezența TTG în titru crescut fiind suficientă pentru diagnosticul bolii celiace la copii, dar la adulți biopsia duodenală nu poate fi evitată, deoarece prezentarea și monitorizarea bolii sunt diferite (34).

RELAȚIA CU CEILALȚI MARKERI SEROLOGICI

Reacția ELISA pentru evidențierea AcTTG-IgA prezintă o acuratețe crescută în detectarea bolii celiace netratate (21). Aceasta poate fi determinată cu ușurință, reacția ELISA fiind, în comparație cu imunofluorescența, o tehnică precisă și ieftină, prin urmare, poate înlocui avantajos AcEMA-IgA, marker utilizat în mod tradițional (22).

AcTTG-IgA prezintă o sensibilitate și specificitate superioară anticorpilor antigliadină IgA (23). Unele studii recomandă alegerea între AcTTG-IgA și AcEMA-IgA în screeningul bolii celiace, în funcție de facilitățile disponibile (24), iar studii mai recente recomandă alegerea

AcTTG-IgA ca test imunoenzimatic, reprezentând cea mai eficientă strategie cost-eficientă pentru evaluarea serologică a pacienților cu boală celiacă, EMA fiind considerat un al doilea nivel de evaluare (25).

Noul test pentru determinarea TTG prin chemiluminiscență a fost adaptat pentru screeningul bolii celiace în populații mari, dar prezintă specificitate redusă (29). În comparație cu noul test serologic ELISA pentru determinarea anticorpilor antigliadină deamidată, TTG-IgA prezintă o valoare predictivă mai mare decât a acesteia și

trebuie considerat în continuare cel mai bun test de screening serologic pentru boala celiacă (30).

CONCLUZII

Avantajele utilizării TTG includ sensibilitatea și specificitatea mare a reacției, prezența ei fiind corelată cu faza activă a bolii. Printre dezavantajele utilizării TTG putem include specificitatea mai mică decât a EMA și rezultatele fals negative la copii mici și în deficitul de IgA.

BIBLIOGRAFIE

- Maki M.** Tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Gut*. 1997; 41: 565–566.
- Uhlrig H, Osman AA, Tanev ID et al.** Role of tissue transglutaminase in gliadin binding to reticular extracellular matrix and relation to coeliac disease autoantibodies. *Autoimmunity*. 1998; 28:185-195.
- Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Ara C et al.** Gliadin and tissue transglutaminase complexes in normal and coeliac duodenal mucosa. *Clin Exp Immunol*. 2003; 134:516-524.
- Chen JS, Mehta K.** Tissue transglutaminase: an enzyme with a split personality. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999;31:817-836.
- Korponay-Szabó IR, Sulkanen S, Halttunen T et al.** Tissue transglutaminase is the target in both rodent and primate tissues for celiac disease-specific autoantibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; 31:520-527.
- Agardh D, Nilsson A, Tuomi T et al.** Prediction of silent celiac disease at diagnosis of childhood type 1 diabetes by tissue transglutaminase autoantibodies and HLA. *Pediatr Diabetes*. 2001; 2:58-65.
- Bilbao JR, Vitoria JC, Ortiz L et al.** Immunoglobulin G autoantibodies against tissue-transglutaminase. A sensitive, cost-effective assay for the screening of celiac disease. *Autoimmunity*. 2002; 35:255-259.
- James SP.** This month at the NIH: Final statement of NIH Consensus Conference on Celiac disease. *Gastroenterology* 2005; 128:136.
- Hill ID, Dirks MH, Liptak GS et al.** Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005; 40:1-19.
- AGA – Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease.** *Gastroenterology* 2006; 131:1977-1980.
- Fasano A, Araya M, Bhatnagar S et al.** Consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008. 47:214–219.
- Griffin M, Casadio R, Bergamini CM.** Transglutaminases: nature's biological glues. *Biochem J* 2002; 368:377-396.
- Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ et al.** "Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study". *Am. J. Gastroenterol* 2006; 101:2333–2340.
- Roth EB, Stenberg P, Book C et al.** "Antibodies against transglutaminases, peptidylarginine deiminase and citrulline in rheumatoid arthritis; new pathways to epitope spreading". *Clin. Exp. Rheumatol* 2006; 24:12–18.
- Green PH, Barry M, Matsutani M.** Serologic tests for celiac disease. *Gastroenterology* 2003;124:585-600.
- Dahele A, Kingstone K, Bode J, et al.** Anti-endomysial antibody negative celiac disease: does additional serological testing help? *Dig Dis Sci* 2001; 46:214-221.
- Shamir R, Lerner A, Shinar E, et al.** The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:2589-2594.
- West J, Lloyd CA, Hill PG et al.** IgA-antitissue transglutaminase: validation of a commercial assay for diagnosing coeliac disease. *Clin Lab*. 2002; 48:241-246.
- Johnston SD, McMillan SA, Collins JS et al.** A comparison of antibodies to tissue transglutaminase with conventional serological tests in the diagnosis of coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15:1001-1004.
- Zintzaras E, Germeis AE.** Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analysis. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13:187-192.
- Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K et al.** Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*. 1998;115:1322-1328.
- Vitoria JC, Arrieta A, Arranz C et al.** Antibodies to gliadin, endomysium, and tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1999; 29:571-574.
- Stern M.** Working Group on Serologic Screening for Celiac Disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; 31:513-519.
- Bardella MT, Trovato C, Cesana BM et al.** Serological markers for coeliac disease: is it time to change? *Dig Liver Dis*. 2001; 33:426-431.
- Viola L, Lugli L, Melegari A et al.** Antitransglutaminase enzyme-linked immune-adsorbed assay in coeliac disease diagnosis: evaluation of a diagnostic algorithm. *Pediatr Med Chir*. 2004; 26:126-131.
- Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H et al.** Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 17:85-91.
- Agardh D.** Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase for the identification of childhood celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5:1276-1281.
- Setty M, Hormaza L, Guandalini Ther.** Celiac disease: risk assessment, diagnosis, and monitoring. *S. Mol Diagn* 2008; 12:289-298.
- Parizade M, Bujanover Y, Weiss B et al.** Performance of serology assays for diagnosing celiac disease in a clinical setting. *Clin Vaccine Immunol*. 2009; 16:1576-1582.
- Volta U, Fabbri A, Parisi C et al.** Old and new serological tests for celiac disease screening. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 4:31-35.
- Kaukinen K, Collin P, Mäki M.** [Celiac disease—a diagnostic and therapeutic challenge]. *Duodecim*. 2010; 126:245-254.
- Abrantes-Lemos CP, Nakhle MC, Damiao AO et al.** Performance of two commercial ELISAs for detecting IgA anti-human and anti-guinea pig tissue transglutaminase antibodies. *Clin Lab*. 2010; 56:29-35.
- Hill PG, Holmes GK.** Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27:572-577.
- Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S et al.** Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. *World J Gastroenterol*. 2009;15:4775-4780.