

COELIAKIE: HET BELANG VAN ANTISTOFBEPALINGEN

*B.M.E. von Blomberg, M.W.J. Schreurs en I.M.W. van Hoogstraten,
medisch immunologen (i.o.)*

Klinisch beeld

Coeliakie is een ziekte van de dunne darm die wordt veroorzaakt door een irreversibele intolerantie voor gluten. Gluten is een belangrijk bestanddeel van o.a. tarwe en wordt in veel voedingsmiddelen verwerkt. Klinisch manifesteert coeliakie zich in zijn klassieke vorm als een malabsorptie-syndroom met frequente vet-achtige diarree. De laatste jaren worden er echter, mede dankzij de hier te bespreken antistofbepalingen, meer en meer coeliakiepatiënten gediagnosticeerd bij wie gastro-intestinale klachten niet op de voorgrond staan. Het betreft hier patiënten met o.m. groeiachterstand, bloedarmoede, chronische vermoeidheid, hormonale stoornissen of osteoporose. De therapie bestaat uit het instellen van een glutenvrij dieet, dat levenslang gehandhaafd moet blijven. In vrijwel alle coeliakiepatiënten normaliseren de klachten dan en herstelt de darm. Echter, in een zeer gering aantal patiënten, veelal op volwassen leeftijd gediagnosticeerd, kunnen er complicaties optreden met ernstige mucosale afwijkingen, ondanks een strikt glutenvrij dieet. Bij een deel van deze refractaire coeliakiepatiënten ontspoord de immunrespons en kunnen zich z.g. enteropathie geassocieerde T-cellymfomen (EATL) ontwikkelen, meestal met fatale afloop[0].

Immuunpathogenese

Coeliakie wordt veelal tot de auto-immuunziekten gerekend maar is in beginsel een T-cel gemedieerde allergie. De intolerantie voor gluten is n.l. het gevolg van een T-cel afhankelijke respons op gluten-peptiden. De herkenning van deze peptiden door de T-cel vindt plaats in de context van MHC-klasse II moleculen. Alleen bepaalde MHC-klasse II moleculen, te weten HLA-DQ2 en HLA-DQ8 zijn in staat de peptiden te binden en er T-cellen mee te stimuleren [0]. Coeliakie komt dan ook vrijwel uitsluitend voor bij individuen die drager zijn van het HLA-DQ2 of DQ8 complex. De

HLA-DQ2 heterodimeer wordt gevormd door de α -keten DQA1*05 en de β -keten DQB1*02; HLA-DQ8 wordt gevormd door DQA1*03 en DQB1*0302.

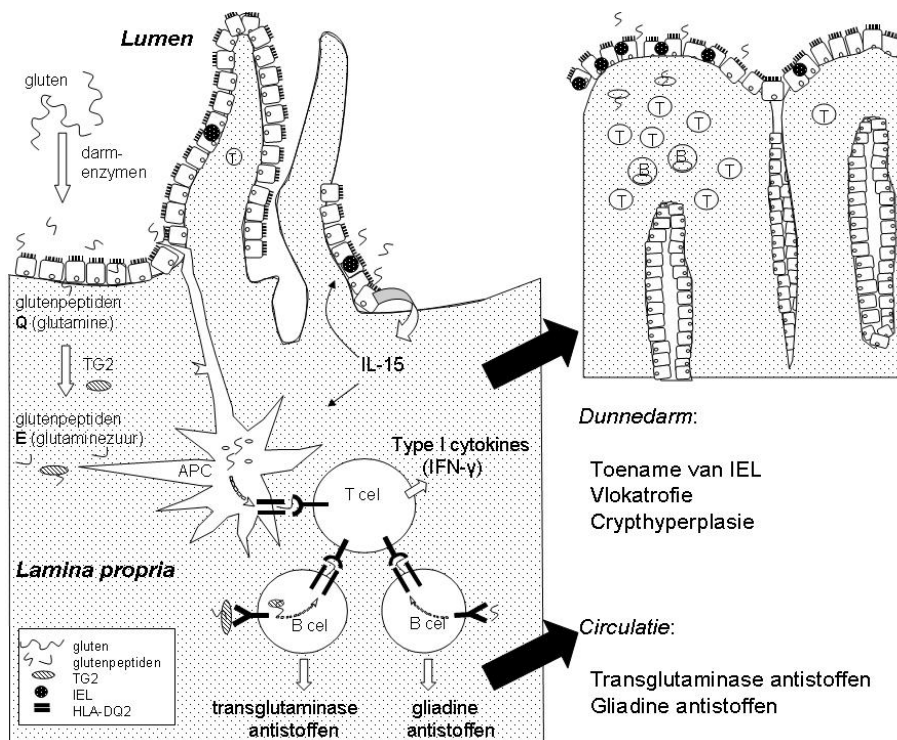
De herkenning van glutenpeptiden vindt niet zonder meer plaats. Het enzym tissue transglutaminase (tTG of TG2) speelt hierin een essentiële rol [0]. Dit enzym is onder meer van belang voor herstel van weefselschade en wordt bij coeliakiepatiënten in de darm verhoogd tot expressie gebracht. TG2 vindt in het glutaminerijke gluten een ideaal substraat; het vormt hiermee complexen en zet vervolgens glutamine om in het negatief geladen glutaminezuur. De hierdoor ontstane peptiden worden bij uitstek gebonden en gepresenteerd door HLA-DQ2 en HLA-DQ8 complexen aan het celoppervlak.

Doordat het TG2 complexen vormt met gluten, kunnen zowel gluten-specifieke als TG2-specifieke B-cellen, na opname van het complex, glutenpeptiden aanbieden aan specifieke T-cellen, en door deze interactie geactiveerd raken. Zo leidt uiteindelijk de stimulatie van gluten-specifieke T-cellen in de lamina propria tot de productie niet alleen van antistoffen tegen gluten, maar ook van auto-antistoffen tegen TG2.

De rol van transglutaminase antistoffen (TGA) in de pathogenese van coeliakie is nog niet geheel opgehelderd, maar lijkt vooralsnog niet zo groot. Wel zijn er aanwijzingen dat TGA pathogeen kunnen zijn in aan coeliakie verwante ziektebeelden, zoals dermatitis herpetiformis. In de huidlaesies bij deze aandoening, die meestal gepaard gaat met milde vormen van coeliakie en die bovendien ook normaliseert tijdens een glutenvrij dieet, worden TGA aangetroffen, gecomplexeerd met TG3. Het betreft hier naar alle waarschijnlijkheid kruisreagerende antistoffen, die de ontsteking en blaarvorming triggeren [0]. Ook in het cerebellum kunnen TGA gebonden worden door daar aanwezig TG2, hetgeen wel in verband gebracht wordt met neuronale symptomen. Ook hier is het precieze pathogenetisch mechanisme echter nog niet geheel opgehelderd.

Gluten kan, naast het opwekken van glutenspecifieke T-cel responsen, ook direct het darmepitheel stimuleren, waardoor deze cellen MHC class I

chain-related molecule A (MICA) tot expressie brengen en IL-15 gaan produceren. Dit is een belangrijke route voor activering van de 'innate' immuunrespons en voor expansie van de in de epitheellaag aanwezige CD8+ T-lymfocyten (intraepitheliale lymfocyten of IEL), welke via hun NKG2D-receptor de MICA-positieve epitheelcellen kunnen doden [0]. Het samenspel van de adaptieve en 'innate' immuunrespons op gluten leidt uiteindelijk, naast de inflammatoire Th1-type reactie in de lamina propria met o.a. IFN- γ productie, tot de voor coeliakie karakteristieke histologische afwijkingen met toename van IEL, verdieping van de crypten en vlokatrofie (figuur 1 en tabel 1).



Figuur 1. Immuun pathogenese van coeliakie

Serologie

Hoewel gliadine- en transglutaminase-antistoffen niet of nauwelijks een rol lijken te spelen in de pathogenese van coeliakie is hun diagnostisch belang heel groot. Waren het aanvankelijk de gliadine antistoffen die veel nieuwe

coeliakiediagnoses aan het licht brachten, in de laatste tien jaar hebben de auto-antistofbepalingen, gericht tegen endomysium en het hierin aanwezige tissue transglutaminase (TG2) deze verre overtroffen [0]. Hieronder zullen de verschillende antistoffen en technieken waarmee ze bepaald worden de revue passeren.

Gliadine antistoffen: De antistofrespons op gluten kan het best gemeten worden met gliadine, de alcohol oplosbare fractie uit gluten, als substraat in een ELISA. Gliadine antistoffen spelen geen noemenswaardige rol meer in de serologische diagnose. Uit de review van Rostom [0] blijkt dat de sensitiviteit van IgA-gliadineantistoffen varieert per studie en slechts in de helft van de studies boven de 80% ligt, in éénderde boven de 90%. De specificiteit ligt over de hele linie hoger: in het merendeel van de studies boven de 80%, in de helft boven de 90%, zowel in kinderen als in volwassenen. Ondanks hun matige sensitiviteit en specificiteit, onderbouwen sterk positieve gliadine antistoffen de diagnose coeliakie en vormen, indien aanwezig bij diagnose, een gevoelige parameter voor het vervolgen van een glutenvrij dieet.

Endomysium antistoffen: Endomysium is de intercellulaire matrix, gelegen tussen de gladspiervezels in de muscularis mucosae van het maagdarmlkanaal en is rijk aan TG2. Coupes, m.n. van de oesophagus van de aap, waar het endomysium goed herkenbaar is, lenen zich bij uitstek voor het vaststellen van endomysium antistoffen (EMA) in een indirecte immuunfluorescentietest. Overigens kan humane navelstreng als alternatief substraat dienen. Het is raadzaam sera betrekkelijk geconcentreerd (1:2,5 of 1:5 verdunning) te testen, in eerste instantie op IgA antistoffen, daar deze het meest relevant voor de diagnostiek zijn. In geval van een IgA-deficiëntie kan getest worden op IgG, het beste resultaat wordt hier bereikt met een monoclonaal anti-IgG1 conjugaat [0].

Sensitiviteit en specificiteit van IgA EMA liggen, ongeacht de leeftijd, zeer hoog; de sensitiviteit ligt in de grotere case control studies tussen de 90% en 95%, de specificiteit tussen 98% en 100% (P25-75). Fout negatieve EMA-testen zijn toe te schrijven enerzijds aan IgA-deficiënties, anderzijds aan het

feit dat geringere mucosale afwijkingen (Marsh III a en b; tabel 1) vaak gepaard gaan met lagere titers autoantistoffen [0]. Fout positieve, meestal zwakke, EMA kunnen heel incidenteel (< 0,5%) voorkomen; dikwijls zijn ze transiënt en, in afwezigheid van klinische verdenking, is het raadzaam testen na een aantal maanden te herhalen [0].

Transglutaminase antistoffen: TGA worden vrijwel altijd getest in een ELISA en uitgedrukt in arbitraire eenheden. Als antigeen wordt gebruik gemaakt van uit cavialever opgezuiverd TG2 of van humaan opgezuiverd of recombinant TG2 (rhTG2). Vrijwel alle kits geven goede diagnostische resultaten; gebruik van rh TG2 verbetert echter zowel de sensitiviteit als de specificiteit nog enigszins [0]. Recent zijn ook commerciële sneltesten op de markt gebracht, al dan niet op basis van serum of volbloed [0]. Toepassing in een laboratoriumsetting is vooralsnog weinig aantrekkelijk, daar de tijdwinst gepaard gaat met een verminderde graad van kwantificering.

Sensitiviteit en specificiteit van IgA TGA liggen, ongeacht de leeftijd, zeer hoog; bij gebruik van rhTG2 ligt de sensitiviteit in de grotere ‘case control’ studies tussen de 92% en 96%, de specificiteit tussen 98% en 100% (P25-75) [0]. Fout negatieve IgA TGA kunnen voorkomen bij IgA-deficiënties en bij de geringere mucosale afwijkingen [0, 0]. Fout positieve IgA TGA, ook bij gebruik van rhTG2, zijn beschreven bij PBC (10,4%; 0), lever cirrhosis (1-30%, afhankelijk van testsysteem;0), systemische auto-immuniteit (1%, 0) en IBD (67%, 0), terwijl de EMA negatief is.

EMA en TGA geven niet altijd concordante resultaten. De testen zijn voor verschillende interfererende factoren gevoelig en vullen elkaar derhalve dikwijls aan [0].

IgA-deficiëntie: IgA-deficiënte coeliakiepatiënten lopen het risico gemist te worden in de op IgA antistoffen gebaseerde serologische diagnostiek. Aangezien de prevalentie van coeliakie bij IgA-deficiënte patiënten is verhoogd tot ca 8% [0], is het van belang bij negatieve coeliakieserologie een eventuele IgA-deficiëntie als oorzaak uit te sluiten. Hoewel bij een selectieve IgA-deficiëntie de IgA spiegel < 0,05 g/l bedraagt, is het aannemelijk dat bij patiënten met lage IgA spiegels, de coeliakie

diagnostiek minder gevoelig uitvalt. Het is momenteel gangbaar IgG-diagnostiek in te zetten wanneer het IgA niet detecteerbaar is in de routine nefelometrische bepaling (< 0,07 g/l). Jonge kinderen hebben vaak nog geen detecteerbaar IgA, een test op de aanwezigheid van IgA tegen andere darm-antigenen, zoals tegen *E.coli* is dan vaak wel detecteerbaar en vormt een goed alternatief. In geval van een vermoedelijke IgA-deficiëntie kunnen in het kader van een coeliakievraagstelling het beste IgG TGA en IgG(1) EMA en eventueel IgG gliadine antistoffen ingezet worden.

De plaats van de serologie in de diagnostiek

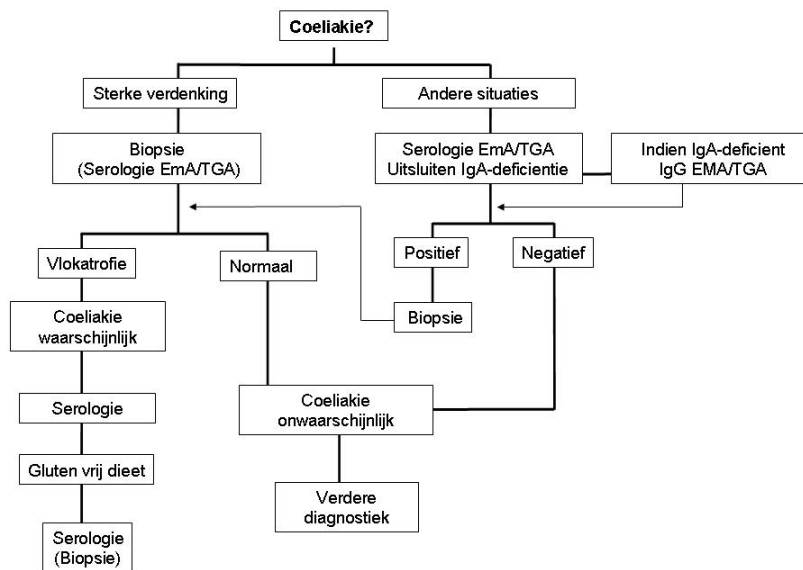
De gouden standaard voor de diagnose coeliakie is het duodenumbipt. De eerder genoemde afwijkingen hierin, te weten toename van IEL, verdieping van de crypten en vlokatrofie, worden meestal geclassificeerd volgens Marsh (tabel 1).

Marsh	IEL per 100 epitheelcellen	Crypten	Vlokatrofie
0	< 40	Normaal	Geen
I	> 40	Normaal	Geen
II	> 40	Hyperplasie	Geen
IIIa	> 40	Hyperplasie	Partieel +
IIIb	> 40	Hyperplasie	Subtotaal ++
IIIc	> 40	Hyperplasie	Totaal +++

Tabel 1. Marsh classificatie van afwijkingen in het duodenumbipt

Een tweede vereiste voor de diagnose coeliakie is het vaststellen van de relatie tussen de symptomen en gluten gebruik. Dit gebeurt in de regel door het klinisch en histologisch herstel op een glutenvrij dieet te evalueren; in moeilijke gevallen wordt vervolgens ook nog een gluten-challenge verricht om zekerheid t.a.v. de diagnose te krijgen.

Naast het duodenumbipt heeft de serologische diagnostiek in de afgelopen jaren enorm terrein gewonnen. Hoewel bij sterke klinische verdenking op coeliakie wordt aangeraden in ieder geval te bioteren, is het in geval van matige verdenking of bij het screenen van risicogroepen raadzaam te starten met



Figuur 2. De plaats van de serologie in de diagnostiek

serologische bepalingen (TGA en EMA) en op geleide daarvan eventueel vervolgens te bioteren (figuur 2). De serologie is ook van belang bij het afronden van het diagnostisch proces, m.n. voor de beslissing óf en wanneer een tweede, herstel-biopt genomen moet worden. Bij alle patiënten met afwijkende bioteren dient het serologisch beeld in kaart gebracht te worden voordat een glutenvrij dieet wordt ingesteld. Bij een klinisch duidelijke coeliakie met vlokatrofie en positieve serologie, waarbij zowel de klachten als de serologie herstellen tijdens gluten onthouding, kan het herstel-biopt achterwege gelaten worden.

De HLA-DQ typering is in het diagnostisch proces eigenlijk alleen van belang vanwege zijn hoge negatief voorspellende waarde. Immers bijna alle (95-98%) coeliakiepatiënten zijn HLA-DQ2 of 8 positief en afwezigheid van HLA-DQ2 en 8 sluit (de ontwikkeling van) coeliakie dus vrijwel uit. Echter ca 40 % van de normale Nederlandse populatie is ook HLA-DQ2 of 8 positief, zodat de specificiteit van de bepaling voor coeliakie heel gering is.

HLA-DQ typering is daarom nuttig bij moeilijke diagnoses, en kunnen zinvol ingezet worden bij individuen met een verhoogd risico op coeliakie, zoals Down

syndroom patiënten en familieleden, teneinde herhaalde verdenking en serologisch screenen te voorkomen.

Literatuur

1. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Dig Dis Sci*. 2004;49:546-50
2. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, Doria A, Tampoia M, Bassetti D, Tozzoli R. IgA and IgG tissue transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue diseases, inflammatory bowel disease, and primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2003;48:2360-5.
3. Cataldo F, Lio D, Marino V, Picarelli A, Ventura A, Corazza GR. IgG(1) antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Celiac Disease of SIGEP and Club del Tenue. *Gut* 2000;47:366-9.
4. Dickey W, McMillan SA, Hughes DF. Sensitivity of serum tissue transglutaminase antibodies for endomysial antibody positive and negative coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36:511-4.
5. Di Tola M, Sabbatella L, Anania MC, Viscido A, Caprilli R, Pica R, Paoluzi P, Picarelli A. Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory bowel disease: new evidence. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:1092-7.
6. Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid LM. Pathomechanisms in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19:373-87
7. Lenhardt A, Plebani A, Marchetti F, Gerarduzzi T, Not T, Meini A, Villanacci V, Martellosi S, Ventura A.
8. Mulder CJ, Cellier C. Coeliac disease: changing views. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005;19:313-21.
9. Nemeč G, Ventura A, Stefano M, Di Leo G, Baldas V, Tommasini A, Ferrara F, Taddio A, Citta A, Sblattero D, Marzari R, Not T. Looking for celiac disease: diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1597-600.
10. Role of human-tissue transglutaminase IgG and anti-gliadin IgG antibodies in the diagnosis of coeliac disease in patients with selective immunoglobulin A deficiency. *Dig Liver Dis*. 2004;36:730-4.
11. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94:888-94
12. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: A systematic review. *Gastroenterology*. 2005; 128(4 Pt 2):S38-46.
13. Sárdy M, Kárpáti S, Merkl B, Paulsson M, Smyth N. Epidermal transglutaminase (Tgase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis. *J Exp Med* 2002;195:747-57
14. Simell S, Kupila A, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Stahlberg MR, Viander M, Hurme T, Knip M, Ilonen J, Hyoty H, Simell O. Natural history of transglutaminase

- autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40:1182-91.
15. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM. Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2003;36:219-21.
 16. Van Meensel B, Hiele M, Hoffman I, Vermeire S, Rutgeerts P, Geboes K, Bossuyt X. Diagnostic accuracy of ten second-generation (human) tissue transglutaminase antibody assays in celiac disease. *Clin Chem.* 2004;50:2125-35
 17. Villalta D, Crovatto M, Stella S, Tonutti E, Tozzoli R, Bizzaro N. False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta.* 2005;356:102-9.