

Los anticuerpos anti-actina en el escenario de la enfermedad celíaca

Néstor Litwin

Acta Gastroenterol Latinoam 2005;35:79-82

Ver trabajo en página 83

El trabajo de Pedreira y col¹, publicado en este número de *Acta*, pone de manifiesto el rol de los anticuerpos dirigidos contra componentes del citoesqueleto en la enfermedad celíaca. En efecto, las conclusiones del trabajo muestran que los pacientes con anticuerpos contra el músculo liso y contra la actina presentan cuadros más severos, con mayor cantidad de complicaciones y asociaciones con otras patologías autoinmunes. Estos anticuerpos, de manera similar a los dirigidos contra la gliadina, el endomisio y la transglutaminasa tisular, descienden en su concentración sérica con la instalación del régimen libre de gluten.

Esto plantea una nueva dirección en el diagnóstico y, sobre todo, en el pronóstico y seguimiento de la enfermedad. También abre nuevos interrogantes en lo que hasta ahora se sabe acerca de su fisiopatología.

¿De qué manera la actina, un componente preponderantemente intracelular, puede exponerse al sistema inmune y generar una reacción específica, y cuál es, en el caso particular de la enfermedad celíaca, la relación con la patogenia de la enfermedad?

¿De qué manera inciden en los resultados las metodologías utilizadas en el laboratorio para su detección? ¿Qué lecciones se pueden extraer de los hallazgos producidos en este trabajo?

La actina es el componente central del citoesqueleto y existe en forma monomérica o globular (G) y

polimérica o filamentosa (F) en el citoplasma de las células eucarióticas, condicionando y actuando en la estructura y morfología celular, así como en sus cambios y motilidad. A su vez, juega un rol esencial en el proceso de endocitosis que utilizan algunas células presentadoras de antígenos. Como componente esencial del *cell cortex* -el citoesqueleto adyacente a la membrana celular-, la F-actina, en colaboración con varias proteínas de membrana, participa de la maquinaria que lleva a cabo la endocitosis, en cuyos sitios se produce el reclutamiento y la polimerización de la actina.^{2,3}

A pesar de ser una proteína intracelular, en ciertas condiciones, la actina puede expresarse en la superficie de la membrana celular. Esto ha sido demostrado en células tumorales y en células sometidas a la acción de mitógenos.⁴

En el daño tisular, cantidades variables de actina pueden ser liberadas al medio extracelular. A su vez, la actina extravasada puede ser parte de un proceso inflamatorio, en el que la F-actina adsorbida en superficies, como por ejemplo, el sostén conectivo extracelular, puede a su vez activar tanto la cascada del complemento como el reclutamiento plaquetario.⁵

Ha sido ampliamente demostrada la asociación de la enfermedad celíaca con otras patologías autoinmunes^{6,7} y uno de los mecanismos aceptados en el que un autoantígeno inicial da lugar a una reacción autoinmune más extendida, es el llamado *epitope spreading*. Este proceso representa una extensión del foco inmune principal o dominante, en la cual *epitopes* diferentes y sin reactividad cruzada con el *epitope* inductor, se transforman en blanco de una respuesta inmunológica en curso. En el marco de una reacción inflamatoria, restos del tejido dañado pueden ser tomados por células presentadoras de antígenos en las que las citoquinas proinflamatorias han aumentado la expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II y moléculas coestimuladoras. Estas células son capaces de activar linfocitos T CD4+, específicos para los *epi-*

Director Área Diagnóstico Bioquímico
Instituto de Investigaciones Médicas "Alfredo Lanari"
Universidad de Buenos Aires

Correspondencia: Néstor Litwin
Director Área Diagnóstico Bioquímico
Instituto de Investigaciones Médicas "Alfredo Lanari"
Universidad de Buenos Aires
Combatientes de Malvinas 3150 (1427) – Buenos Aires, Argentina
Tel/Fax 54-11-4514-8701 al 8710 ext 153
e-mail litwin@mail.retina.ar

topes secundarios presentados.⁸

Tanto las células profesionales presentadoras de antígenos, como las células dendríticas y también otras células presentadoras no profesionales, como las células del epitelio intestinal, son capaces de presentar antígenos a los linfocitos T CD4+. Sin embargo, las células epiteliales intestinales tienen el obstáculo de la barrera de la membrana basal, que las separa del grueso de las células T de la lámina propia. Para sortear este obstáculo las células epiteliales liberan pequeñas vesículas rodeadas de una membrana que en su interior (especialmente las de origen basolateral) llevan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I y clase II, conjuntamente con moléculas y partículas endocitadas por las mismas células. Estas vesículas, los llamados exosomas, son capaces de atravesar la membrana basal y llevar a la lámina propia información antigénica que de otra manera sería difícil de transportar. En estos exosomas además se ha demostrado la presencia de componentes del citoesqueleto, incluyendo actina y tubulina. Si bien en condiciones fisiológicas esto no implica la inmunogenicidad de la actina, se ha demostrado que en un ámbito proinflamatorio, en cultivos celulares estimulados con interferón, aumenta el número de los exosomas y la densidad de las proteínas expresadas en su superficie, lo que sí podría dar lugar en un proceso prolongado al llamado *epitope spreading*.⁹

Es interesante, además, considerar que en un elegante trabajo de Clemente y col se prueba que la gliadina causa la polimerización de la G-actina a F-actina polimérica, la que constituye un *neoepitope* en la enfermedad celíaca.¹⁰

Se sabe, que como parte del proceso inmunopatogénico y concomitantemente con alteraciones de la permeabilidad intestinal,¹¹ la transglutaminasa tisular modifica la estructura antigénica de la gliadina por deamidación y formando complejos, con la consecuente producción de *neoepitopes* que llevan a la aparición de anticuerpos antigliadina y antitransglutaminasa tisular. También es importante recordar que la transglutaminasa tisular modifica no solamente a la gliadina sino que otras proteínas pueden ser sustrato de ella y de esta manera tener un rol en la patogénesis de la enfermedad celíaca.¹² En ese sentido y como hecho sumamente interesante, se ha demostrado¹³ que también la actina es sustrato de la transglutaminasa tisular y que fibrillas de actina colocalizan con la transglutaminasa en el músculo liso de la pared vascular humana.¹⁴

Tomando todos estos hechos en conjunto, se podría especular que la actina extravasada o presentada a la superficie celular por procesos inflamatorios, polimerizada por la gliadina y transformada por la transglutaminasa creando neoepitopes inmunogénicos, llevaría a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra la actina y el músculo liso, en procesos que se incrementarían con la persistencia de la estimulación antigénica, aumentando la severidad de las lesiones y la expansión del proceso autoinmune. La correlación hallada por Pedreira y col entre el título de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular y antiactina, medidos ambos por técnicas de ELISA, no es un hecho menor y da un elemento sustentador a esta suposición.

En un estudio multicéntrico, la desaparición de los anticuerpos anti-actina en pacientes con régimen libre de gluten, es más tardía que los anticuerpos antigliadina pero más lenta que los anticuerpos antiendomiso. Según estos autores la determinación de anticuerpos anti-actina sería útil en la lesión intestinal en parches o en cuadros complejos con histologías difíciles de interpretar.¹⁵

En dos trabajos en los que se incluyen niños en la población estudiada, se demuestra que la proporción de pacientes anti-actina negativos es mayor en la edad pediátrica que en individuos adultos.^{16, 17} Esto está en concordancia con observaciones previas en niños, en quienes la seropositividad de anticuerpos antiendomiso, antitransglutaminasa y antigliadina, en el momento del diagnóstico, es variable y además significativamente menor en menores de dos años de edad,¹⁸⁻²⁰ con la aparición precoz de los anticuerpos antigliadina y en forma más tardía de los marcadores de autoinmunidad. Esto caracteriza a un proceso progresivo, ya conocido, pero que ahora se aplica también a los anticuerpos anti-actina.

Además de la especulación fisiopatogénica, esto lleva a la conclusión de que la determinación de anticuerpos anti-actina es un método cuyos resultados son dependientes de las formas moleculares que se fijan a la fase sólida en la técnica de ELISA,¹⁷ pues una baja proporción de pacientes reaccionan con la actina monomérica.¹⁵ Por lo tanto, a los fines de llegar a interpretaciones fisiopatogénicas válidas es crucial la estandarización de las metodologías bioquímicas de detección de los anticuerpos.

Una importante observación que surge del trabajo de Pedreira y col es la discordancia en 9 pacientes celíacos entre los anticuerpos antiendomiso, antitransglutaminasa y anticuerpos anti-actina. En estos

pacientes no se pudo demostrar la presencia de anticuerpos anti-endomisio y tampoco anti-transglutaminasa tisular en 6 de ellos, y sí anticuerpos anti-actina, si bien en títulos menores que los de los pacientes en que concordaron los tres anticuerpos. Estos pacientes mostraron cuadros clínicos y complicaciones severas, malignas en dos de ellos. No está demás decir que esto pone de relieve la necesidad de una cuidadosa observación microscópica de la reacción sérica endomisial, a través de la cual se pueden detectar pacientes con enfermedad celíaca que de otra manera podrían escapar al diagnóstico si sólo se realizara la determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa por técnicas de ELISA.

Esto lleva a tres reflexiones:

1-Los mecanismos de producción de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular y anti-actina podrían estar originados en procesos fisiopatogénicos independientes, aun cuando se demuestre una correlación estadística poblacional. Esto tiene un beneficio diagnóstico secundario, pues podría aplicarse la determinación de anticuerpos anti-actina en pacientes anti-endomisio negativos con elevada sospecha clínica de la enfermedad.

2-La ausencia de los anticuerpos endomisiales en conjunción con la presencia de anticuerpos anti-actina caracteriza a un subgrupo de pacientes de mayor riesgo y severidad en la evolución clínica.

3-Si esto es así, cabría preguntarse si la reacción inmunológica contra el citoesqueleto describe un modelo fisiopatogénico diferente del modelo clásico aceptado en la actualidad, al menos en un subgrupo de la población afectada.

Finalmente, creemos que el rigor científico demostrado en la selección y clasificación de los pacientes, la adecuada y experta utilización de las metodologías de laboratorio y la elaboración de las conclusiones con observaciones no descriptas previamente, hacen del trabajo de Pedreira y col, un elemento pivotal en la investigación y el conocimiento del complejo y cambiante cuadro de la enfermedad celíaca.

Referencias

- Pedreira S, Sugai E, Moreno ML, Vazquez H, Niveloni S, Smecuol E, Mazure R, Kogan Z, Mauriño E, Bai JC. Significance of smooth muscle/anti-actin autoantibodies in celiac disease. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2005;35:83-93.
- Engqvist-Goldstein AE, Drubin DG. Actin assembly and endocytosis: from yeast to mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003;19:287-332.
- Yarar D, Waterman-Storer CM, Schmid SL. A dynamic actin cytoskeleton functions at multiple stages of clathrin-mediated endocytosis. *Mol Biol Cell* 2005;16:964-975.
- R J Bachvaroff, F Miller and F T Rapaport. Appearance of cytoskeletal components on the surface of leukemia cells and of lymphocytes transformed by mitogens and Epstein-Barr virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77: 4979-4983.
- Wettero J, Askendal A, Tengvall P, Bengtsson T. Interactions between surface-bound actin and complement, platelets, and neutrophils. *J Biomed Mater Res A* 2003;66:162-175.
- Annika Söderbergh, Anne Grethe Myhre, Olov Ekwall, Gennet Gebre-Medhin, Håkan Hedstrand, Eva Landgren, Aaro Miettinen, Petra Eskelin, Maria Halonen, Tiinamajja Tuomi, Jan Gustafsson, Eystein S Husebye, Jaakko Perheentupa, Mikhail Gylling, Michael P Manns, Fredrik Rorsman, Olle Kämpe and Thomas Nilsson. Prevalence and Clinical Associations of 10 Defined Autoantibodies in Autoimmune Polyendocrine Syndrome Type I. *J Clinical Endocrinol Metab* 2004;89:557-562.
- Iughetti L, Bulgarelli S, Forese S, Lorini R, Balli F, Bernasconi S. Endocrine aspects of coeliac disease. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16:805-818.
- Vanderlugt CL, Begolka WS, Neville KL, Katz-Levy Y, Howard LM, Eagar TN, Bluestone JA, Miller SD. The functional significance of epitope spreading and its regulation by co-stimulatory molecules. *Immunol Rev* 1998;164:63-72.
- van Niel G, Raposo G, Candalh C, Boussac M, Hershberg R, Cerf-Bensussan N, Heyman M. Intestinal epithelial cells secrete exosome-like vesicles. *Gastroenterology* 2001;121:337-349.
- Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, Drago S, Congia M and Fasano A. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003;52:218-223.
- Smecuol E, Bai JC, Vázquez H, Kogan Z, Cabanne A, Niveloni S, Pedreira S, Boerr L, Maurino E, Meddings JB. Gastrointestinal permeability in celiac disease. *Gastroenterology* 1997;112:1129-1136.
- Litwin N, De Rosa S, Guastavino E, Álvarez C, Paz L. Células enterogliales y anticuerpos anti-s100-IgA en la patogénesis de la enfermedad celíaca. 6to Congreso Iberoamericano de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, Madrid, España, Junio 2003.
- Takashi R. A novel actin label: a fluorescent probe at glutamine-41 and its consequences. *Biochemistry* 1988;27:938-943.
- Chowdhury ZA, Barsigian C, Chalupowicz GD, Bach TL, Garcia-Manero G, Martínez J. Colocalization of tissue transglutaminase and stress fibers in human vascular smooth muscle cells and human umbilical vein endothelial cells. *Exp Cell Res* 1997;231:38-49.
- Clemente MG, Musu MP, Troncone R, Volta U, Congia M, Ciacci C, Neri E, Not T, Maggiore G, Strisciuglio P, Coraz-

- za GR, Gasbarrini G, Cicotto L, Sole G, Fasano A, De Virgiliis S. Enterocyte Actin Autoantibody Detection: A new diagnostic tool in celiac disease diagnosis: results of a multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1551-1556.
16. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Brusco G, Sole G, Corazza GR, De Virgiliis S. Immune reaction against the cytoskeleton in coeliac disease. *Gut* 2000;47:520-526.
17. Carroccio A, Brusca I, Iacono G, Di Prima L, Teresi S, Pirrone G, Florena AM, La Chiusa SM, Averna MR. Anti-actin antibodies in celiac disease: correlation with intestinal mucosa damage and comparison of ELISA with the immunofluorescence assay. *Clin Chem* 2005;51:917-920.
18. Bürgin-Wolff A, Hadziselimovic F. Screening test for celiac disease. *Lancet* 1997;349:1843-1844.
19. Licastro R y Ramonet M. Detección inmunológica de la intolerancia al gluten. *Rev Arg Pediat* 1982;3:42-48.
20. De Rosa S, Litwin N, de Davila MT, Ruiz JA, Guastavino E, de Pini A, Queralt AM. The correlation of IgA-class antigliadin and antiendomysial antibodies with the intestinal histology in celiac disease. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1992;22:161-167.

