

Frecuencia de anticuerpos anti-transglutaminasa y antiendomiso en pacientes con diabetes tipo 1

Macarena Lillo G.¹, Giannina Saavedra B.¹, Francisca Concha C.¹, Alejandra Ávila A.², Ethel Codner D.², Magdalena Araya Q.², Amaya Oyarzún A.² y Francisco Pérez B.^{2,3}

Association of type 1 diabetes mellitus with celiac disease

Background: Type 1 diabetes mellitus and celiac disease share common genetic and immunological aspects and celiac disease is more common among type 1 diabetic patients. **Aim:** To determine the frequency of anti endomysial and anti transglutaminase antibodies among patients with type 1 diabetes. **Material and Methods:** Anti endomysial antibodies determined by indirect immunofluorescence and anti transglutaminase antibodies determined by ELISA were measured in 410 serum samples of patients with type 1 diabetes. **Results:** Seventy one samples (17%) had positive anti transglutaminase antibodies. Among these, 17 had also positive anti endomysial antibodies. In 11 of these 17 patients, the presence of celiac disease was confirmed. **Conclusions:** Among patients with type 1 diabetes mellitus, the frequency of celiac disease is three times higher than in the general population.

Key words: Celiac disease, Type 1 diabetes mellitus, anti tTG, EMA.

¹Laboratorio de Nutrigenómica. Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

²Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI). Hospital San Borja Arriarán. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³Laboratorio de Inmunogenética. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile.

Correspondencia a:

Dr. Francisco Pérez Bravo
Laboratorio de Nutrigenómica, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Universidad de Chile. Santiago, Chile.
Teléfono: 978 62 42
E mail: fperez@med.uchile.cl

Recibido: 28-08-2015

Aceptado: 11-11-2015

Introducción

Las enfermedades autoinmunes resultan de la falla en la inducción o conservación del fenómeno de tolerancia, instaurándose respuestas inmunes contra antígenos propios (autoantígenos). La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune órgano-específica caracterizada por la destrucción paulatina de las células β pancreáticas a través de mecanismos de necrosis o apoptosis mediado por células T reactivas¹⁻³. En su etiología están involucrados factores genéticos y ambientales, que participan en el proceso inmunológico de destrucción celular⁴⁻⁵.

Los pacientes con DM1 presentan una mayor frecuencia para desarrollar otras enfermedades de carácter autoinmune⁶. Entre ellas, la enfermedad celíaca (EC) un desorden sistémico mediado inmunológicamente, gatillado por la exposición al gluten y prolamina relacionadas, en individuos genéticamente susceptibles⁷. Las presentaciones clínicas son variables, con predominio de ma-

nifestaciones digestivas o sin ellas, formas silentes, potenciales o latentes⁸. Se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas gluten-dependientes, anticuerpos anti-transglutaminasa (IgA-tTG) y anticuerpos anti-endomiso (EMA) positivos, perfil genético de riesgo (haplotipos HLA DQ2 y DQ8) y enteropatía con diferentes grados de infiltrado linfoplasmocitario y aplanamiento vellositario en la biopsia duodenal-yeyunal^{8,9}. Existe amplia evidencia que muestra que entre los pacientes con DM1, la EC es varias veces más frecuente que en la población general, con frecuencias que van desde un 4,4% a un 11,1%^{10,11}.

Considerando el aumento en el diagnóstico de nuevos casos con DM1 en nuestro país¹² y el mayor reporte de patologías gastrointestinales en la población, específicamente para EC como lo refleja la Encuesta Nacional de Salud 2010¹³, el objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de anticuerpos característicos en la EC tales como anti-tTG y EMA en población pediátrica y adolescente con DM1 en la Región Metropolitana.

Artículo Original

Pacientes y Métodos

Pacientes

Se evaluó una muestra de conveniencia formada por los pacientes reclutados prospectivamente entre los años 2008 al 2013. Se analizaron 410 muestras séricas de pacientes diagnosticados con DM1 antes de los 15 años, provenientes del Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI) de la Universidad de Chile. Los criterios de inclusión consideraron que el paciente no presentara otra patología autoinmune conocida y que recibieran terapia insulínica desde el momento del diagnóstico. La determinación de anticuerpos anti-tTG forma parte de un panel de anticuerpos característicos para diabetes (anti-GAD65 y anti-IA-2) que se realiza a los niños al momento del debut de DM1. El protocolo clínico de estas investigaciones forma parte del proyecto FONDECYT 1130240 y ha sido aprobado por el Comité de Ética en Investigación Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y por el Comité de Ética del Servicio de Salud Metropolitano Central (CEC), del Hospital San Borja Arriarán. Todos los padres y/o apoderados de los niños y adolescentes participantes firmaron un consentimiento informado antes de entrar al protocolo.

Se realizó una entrevista semi-estructurada a la madre del caso con DM1 en la que se registró la historia clínica, incluyendo lactancia materna efectiva, peso de nacimiento y edad gestacional, peso y talla al momento del diagnóstico, edad al diagnóstico de DM1 y presencia de cetoacidosis al momento del debut. Al final de la entrevista se obtuvo la muestra de 3 ml de sangre venosa para el análisis de anticuerpos. La recolección de datos fue realizada por una nutricionista, única encargada de esta actividad en la investigación. Los análisis serológicos de anticuerpos se realizaron entre la tercera y cuarta semana desde el debut, una vez que el paciente se encontraba estabilizado metabólicamente.

Determinación de anticuerpos anti-GAD y anti-IA-2

Los anticuerpos anti-GAD65 y anti-IA-2 fueron determinados mediante inmunoensayo enzimático (ELISA) con el uso de kits comerciales (Medizym® Diagnostic, Berlín, Alemania). La detección de anticuerpos se llevó a cabo de manera semi-cuantitativa tomando como referencia de positividad el valor de > 5 UI/mL para GAD65 y > 10 UI/mL para IA2, según la recomendación del fabricante. La sensibilidad y especificidad fue de 92,3%, 98,6% para anti-GAD65 y 85% y 98% para anti-IA-2. Todas las muestras fueron tratadas en duplicado y los valores detectados se encontraron dentro de los rangos esperados para un ELISA de acuerdo al programa DASP, Diabetes Antibody Standardization Program¹⁴.

Determinación de anticuerpos IgA-tTG y EMA

La determinación de anticuerpos IgA-tTG se realizó mediante un ensayo ELISA convencional (ALPCO Immunoassays, USA), cuyo rango de detección lineal va de 0 a 300 U/ml. El límite de detección para este ensayo es de 1 U/ml. El punto de corte recomendado por el fabricante para clasificar a los individuos como positivos fue > 15 U/ml. Las muestras fueron tratadas en duplicado. Se obtuvo un coeficiente de variación intra-ensayo de 1,9% e inter-ensayo de 2,8%. La determinación de EMA se realizó a través de inmuno-fluorescencia indirecta (IFI) utilizando el kit comercial (IMMCO Diagnostic, Irlanda), este ensayo se realizó sólo en aquellas muestras que fueron positivas para anti-tTG.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media y desviación estándar. El perfil de anticuerpos positivos se expresó como porcentajes respecto de la muestra total. Se utilizaron test de comparaciones para analizar las diferentes frecuencias de anticuerpos anti-GAD y anti-IA-2 de acuerdo a la estratificación por el anticuerpo anti-tTG. Valores de p menores a 0,05 se consideraron significativos estadísticamente.

Resultados

La Tabla 1 muestra la distribución de los pacientes con DM1 estratificados según la presencia o ausencia de anticuerpos anti-tTG. Desde el punto de vista de los marcadores de enfermedad celíaca, 71 de las 410 muestras de sangre fueron IgA-tTG positivas (17,3%). El promedio de los títulos de IgA-tTG fue de 83,1 (16,7-491,6) U/ml en las 71 muestras IgA-tTG positivas y de 10,1 (1,8-11,8) U/ml en el grupo con anti-tTG negativo ($p < 0,01$).

Los pacientes con DM1 cuyo perfil de anticuerpos anti-tTG fue positivo mostraron valores significativamente mayores de cetoacidosis (73,5% vs 61,2%, $p < 0,05$) y una mayor positividad del anticuerpo anti-IA-2 (71,4% vs 51,1%, $p < 0,01$).

En los casos anti-tTG positivos se analizó la presencia de anticuerpos EMA. De las 71 muestras positivas para tTG, 17 de ellas dieron valor positivo para EMA (23,9%).

Los pacientes ($n = 17$) fueron informados de estos resultados y se derivaron a servicio de gastroenterología. Un total de 12 pacientes continuó con el estudio de confirmación de posible EC, cinco de ellos rehusaron realizarse la biopsia intestinal. De los 12 pacientes con DM1 y sospecha de EC, se logró la confirmación de la enfermedad en 11 de ellos.

Tabla 1. Características clínicas e inmunológicas de los pacientes con DM1 de acuerdo al perfil positivo o negativo de tTG

	Pacientes DM1 tTG negativos (n = 339)	Pacientes DM1 tTG positivos (n = 71)
Edad (años)	9,11 ± 4,2	9,08 ± 4,0
Edad al diagnóstico (años)	8,21 ± 0,4	7,11 ± 1,4
Edad de la Madre (años)	38,3 ± 1,5	38,1 ± 1,8
Cetoacidosis al debut (%)	61,2	73,5*
Edad Gestacional (semanas)	28,9 ± 3,8	28,3 ± 3,3
Lactancia materna (meses)	7,1 ± 7,2	7,8 ± 7,6
% Anticuerpo Anti-GAD65 positivo	65,6	64,3
% Anticuerpo Anti-IA-2 positivo	51,1	71,4**
Anti-GAD65 + anti-IA-2 positivo (%)	43,8	57,1*

*p < 0,05 grupo tTG negativo vs tTG positivo. **p < 0,01 grupo tTG negativo vs tTG positivo.

Discusión

Los resultados de este estudio muestran que en los pacientes con DM1, el porcentaje de anticuerpo IgA-tTG positivo fue considerablemente más elevado (17,3%) que los valores encontrados en la literatura (valor de 11%, según referencia 15). Una posibilidad en nuestra hipótesis de trabajo para explicar esta diferencia es que un alto porcentaje de las muestras (> 56%) fueron tomadas entre la segunda y tercera semana posterior al debut de DM1, y son estas muestras de la tercera semana las que mostraron mayor positividad en IgA-tTG (datos no mostrados). Esta idea es concordante con datos publicados que muestran durante el período del debut de DM1 que hay un aumento de la detección de anticuerpos para distintas enfermedades autoinmunes, como tiroiditis, EC, entre otras¹⁵⁻¹⁷.

A pesar de que utilizamos una técnica semi-cuantitativa, es posible separar a los pacientes a través de títulos relativos del anticuerpo anti-tTG, en este caso la presencia de mayores títulos se asoció a un perfil más agresivo del debut de diabetes (mayor cetoacidosis al debut). Todos los pacientes con doble patrón de anticuerpos positivo para EC fueron derivados a consulta con gastroenterólogo para estudio de biopsia. De los 17 pacientes con DM1 y serología positiva para EC, se confirmó el diagnóstico en 11 de ellos. De este modo considerando el total de la muestra analizada (n = 410), la frecuencia de EC confirmada en este grupo fue de 2,7%.

La prevalencia de la EC entre niños y adultos con DM1 reportada en la literatura varía según el país de estudio; datos procedentes del Reino Unido sugieren que ésta sería entre el 3,3 y 4,4%, respectivamente¹⁸. Sin embargo, las prevalencias de EC en grupos de población con DM1 varían drásticamente y de acuerdo al tipo de pesquisa realizado (tTG, tTG +EMA, etc.) mostrando variaciones que

van desde un 4,4% hasta un 11,1% en población del norte de India¹⁹.

Las manifestaciones gastrointestinales de la EC son infrecuentes en los pacientes con DM1; la mayoría son asintomáticos o solamente presentan versiones suaves de los síntomas y ésta puede ser una de las razones para el sub-diagnóstico. Además, se ha descrito que los pacientes con DM1 pueden presentar síntomas extra-intestinales, como baja estatura, bajo IMC y retraso en el desarrollo puberal. A pesar de que las cifras de prevalencias descritas en la literatura sean variables, existe consenso entre los especialistas que los pacientes con DM1 constituyen un grupo de riesgo para el desarrollo de EC. Esto se ha traducido en la práctica en que en varios países a estos pacientes se les hace rutinariamente el rastreo de EC, práctica que debiéramos incorporar en nuestro medio. La literatura internacional indica que la EC es más prevalente en mujeres que en hombres con DM1²⁰, en nuestro caso no se observaron diferencias entre los casos diagnosticados.

En conclusión, este estudio corrobora que los pacientes con DM1 constituyen un grupo de alto riesgo para el desarrollo de EC, con valores de prevalencia mayores a los que se han descrito en la población general.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en la sección anticuerpos como parte del proyecto Fondecyt 1130240.

Referencias bibliográficas

- van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. 2011. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiological reviews* 91: 79-118.

Artículo Original

2. Hawa MI, Beyan H, Buckley LR, Leslie RD. 2002. Impact of genetic and non-genetic factors in type 1 diabetes. *Am J Med Genet* 115: 8-17.
3. Stankov K, Benc D, Draskovic D. 2013. Genetic and epigenetic factors in etiology of diabetes mellitus type 1. *Pediatrics* 132 (6): 1112-1122.
4. Bach JF. 2005. Infections and autoimmune diseases. *J Autoimmun* 25 Suppl: 74-80.
5. Cooke A. 2009. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: how might infection modulate the onset of type 1 diabetes? *Immunology* 126: 12-17.
6. Doyle EA. 2015. Autoimmune Conditions Associated With Type 1 Diabetes. *Pediatr Nurs* 41 (2): 89-91.
7. Kupfer SS, Jabri B. 2012. Pathophysiology of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 22 (4): 639-660.
8. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, *et al.* 2012. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee; European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54 (1): 136-160.
9. Parada A, Araya M, Pérez-Bravo F, Méndez M, Mimbacas A, Motta P, *et al.* 2011. Amerindian mtDNA haplogroups and celiac disease risk HLA haplotypes in mixed-blood Latin American patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 53 (4): 429-434.
10. Kang JY, Kang AH, Green A, Gwee KA, Ho KY. 2013. Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. *Aliment Pharmacol Ther* 38 (3): 226-245.
11. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, Sturgeon C, Helzlouer K, Clipp SL, *et al.* 2010. Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Ann Med* 42 (7): 530-538.
12. Carrasco E, Pérez-Bravo F, Dorman J, Mondragón A, Santos JL. 2006. Increasing incidence of type 1 diabetes in population from Santiago of Chile: trends in a period of 18 years (1986-2003). *Diabetes Metab Res Rev* 22 (1): 34-37.
13. Chile, M.d.S.d., Encuesta Nacional de Salud 2009-2010 (National health Survey). http://www.minsal.gob.cl/portal/docs/page/minsalcl/g_home/. Accessed March 27, 2015., 2010.
14. Törn C, Mueller PW, Schlosser M, Bonifacio E, Bingley PJ. 2008. Participating Laboratories. Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2. *Diabetologia* 51 (5): 846-852.
15. Barker J, Liu E. 2008. Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations and associated autoimmune conditions. *Adv pediatric* 55: 349-365.
16. Jaeger C, Hatzigelaki E, Petzoldt R, Bretzel R. 2001. Comparative analysis of organ-specific autoantibodies and celiac disease-associated antibodies in type 1 diabetic patients, their first-degree relatives, and healthy control subjects. *Diabetes Care* 24: 27-32.
17. Kakleas K, Karayianni C, Critselis E, Papatheasiou A, Petrou V, Fotinou A, *et al.* 2010. The prevalence and risk for celiac disease among children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Practice* 90: 202-208.
18. Narula P, Porter L, Langton J, Rao V, Davies P, Cummins C, *et al.* 2009. Gastrointestinal symptoms in children with type 1 diabetes screened for celiac disease. *Pediatrics* 124 (3): e489-95.
19. Fallahi GH, Ahmadian JH, Rabbani A, Yousefnezhad AS, Rezaei N. 2010. Screening for celiac disease in diabetic children from Iran. *Indian Pediatr* 47 (3): 268-70.
20. Serena G, Camhi S, Sturgeon C, Yan S, Fasano A. 2015. The Role of Gluten in Celiac Disease and Type 1 Diabetes. *Nutrients* 26; 7 (9): 7143-62.