



Otros

Trabajo Original

Sobrepeso y obesidad en enfermedad celiaca: expresión del perfil de interleuquinas Th17

Overweight and obesity in celiac disease: expression of the interleukin profile Th17

Alejandra Parada^{1,2}, Carolina Aguirre² y Francisco Pérez-Bravo³

¹Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. ²Carrera de Nutrición y Dietética. UDA-Ciencias de la Salud. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. ³Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, Chile

Resumen

Introducción: la alteración histológica en el intestino delgado de los enfermos celiacos produce una pobre absorción que deteriora o dificulta una ganancia óptima de peso. Esto puede ser el resultado de un aumento de la expresión de las interleuquinas Th17 gluten-específicas.

Objetivo: el objetivo de este estudio fue comparar la expresión de las interleuquinas Th17 en pacientes celiacos con peso normal y sobrepeso/obesidad.

Métodos: se estudiaron 22 pacientes con reciente diagnóstico de enfermedad celiaca: 15 con peso normal y siete con sobrepeso/obesidad. Se tomaron biopsias de intestino delgado para la evaluación de la expresión de las interleuquinas a través de PCR a tiempo-real.

Resultados: los niveles de expresión de las interleuquinas Th17 mostraron una tendencia a ser más altos en las biopsias de intestino de pacientes con sobrepeso/obesidad en comparación a los celiacos con peso normal, sin embargo, esta diferencia no fue significativa.

Conclusión: el exceso de peso en pacientes celiacos no es influenciado por los niveles de expresión de interleuquinas Th17.

Palabras clave:

Enfermedad celiaca.
Interleuquinas.
Sobrepeso.

Abstract

Introduction: the histological alteration in the small intestine of the celiac patients produces a poor absorption that deteriorates or hinder an optimal weight gain. This can be the result of an increase expression of the Th17 gluten-specific interleukins.

Objective: the aim of this study was to compare the expression of Th17 interleukins in celiac patients with normal and overweight/obese nutritional status.

Methods: a total of 22 patients with newly diagnosed celiac disease were eligible: 15 patients with normal weight and seven overweight/obese. Small intestine biopsies were taken for the evaluation of the expression of interleukins through real-time PCR.

Results: expression levels of Th17 interleukins showed a tendency to be higher in intestinal biopsies of overweight/obese patients compared to normal weight celiac subjects; however, this difference was not statistical significant.

Conclusion: body weight excess in celiac patients is not influenced by the expression levels of Th17 interleukins.

Key words:

Celiac disease.
Interleukins.
Overweight.

Financiación: este estudio fue financiado por Proyecto FONDECYT de Iniciación N.º 3120096.

Recibido: 11/09/2017 • Aceptado: 17/02/2018

Parada A, Aguirre C, Pérez-Bravo F. Sobrepeso y obesidad en enfermedad celiaca: expresión del perfil de interleuquinas Th17. Nutr Hosp 2018;35(4):957-961

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.1554>

Correspondencia:

Alejandra Parada Daza. Carrera de Nutrición y Dietética. Ciencias de la Salud. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 138-11. Av. Vicuña Mackenna, 4860. Santiago, Chile
e-mail: acparada@uc.cl

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celiaca (EC) es un desorden autoinmune intestinal crónico que involucra al gluten dietario como gatillante de la enfermedad (1), convirtiéndose en una de las causas más comunes de malabsorción crónica. Esta enfermedad es el resultado de un daño en el intestino delgado con pérdida del área de superficie absorbente, llevando a una falla de la capacidad para absorber una cantidad adecuada de calorías (2). La pobre absorción característica de la enfermedad se manifiesta en bajo peso corporal y, consecuentemente, en un bajo índice de masa corporal (IMC).

El mecanismo exacto por el cual el gluten daña la mucosa intestinal es desconocido. Sin embargo, la reacción de las células T a la gliadina deaminada por la transglutaminasa produce una variedad de citoquinas inflamatorias, las cuales pueden contribuir al daño de la mucosa (3). La subpoblación de linfocitos CD4+ efectoras, denominada Th17 (4), tiene propiedades que han sido asociadas con la activación de los neutrófilos, la producción de citoquinas y la síntesis de proteasas que causan daño tisular (5). En la EC, las células Th17 específicas para gluten son capaces de producir citoquinas proinflamatorias como IL-17, IL-21, IL-22 y IFN γ (6,7). Además, se ha observado una mayor expresión de IL-21 (8), la cual podría estar relacionada con una sobrerregulación de las metaloproteinasas en cultivo de biopsias de pacientes celiacos no tratados (9). La expresión de la metaloproteinasa de matriz 1 y la metaloproteinasa 3 induce la degradación de la membrana extracelular y la activación de fibroblastos subepiteliales en biopsias de pacientes no tratados (10).

Una pobre absorción en pacientes celiacos produce deterioro del peso corporal y dificultad en la ganancia de peso. Esto puede ser el resultado de un aumento en la expresión de interleuquinas Th17 específica para gluten (IL-Th17), que genera una mayor extensión del daño intestinal. Hasta el momento no existen estudios que relacionen la expresión de interleuquinas del patrón Th17 con el estado nutricional en pacientes celiacos en enfermedad activa.

Tótoro y cols. demostraron que en pacientes adultos celiacos recién diagnosticados el 12,2% presentaban sobrepeso y el 8,1%, obesidad (11). En el mismo sentido, Kabbani y cols. encontraron que la prevalencia de sobrepeso y obesidad era del 32% en pacientes celiacos adultos (12).

En base a estos antecedentes, se planteó como hipótesis que los pacientes celiacos con sobrepeso/obesidad presentarían una menor expresión de interleuquinas Th17 en comparación con los pacientes con estado nutricional normal. Así, el objetivo de este estudio fue comparar la expresión de interleuquinas Th17 en pacientes celiacos con peso normal y sobrepeso/obesidad.

MÉTODOS

SUJETOS

Se reclutaron pacientes adultos con diagnóstico de EC (confirmados por biopsia), tratados en los centros médicos de la red

de salud "UC-Christus" de Santiago de Chile, entre los meses de marzo de 2013 y junio de 2014. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: a) diagnóstico de EC por biopsia intestinal; y b) edad de diagnóstico > 18 años. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Todos los pacientes estuvieron de acuerdo en participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado.

El tamaño muestral se estimó en base a la comparación de dos grupos independientes y un tamaño de efecto estimado (Hedges' g) de al menos 1,2 entre el grupo de pacientes normales y el grupo con sobrepeso/obesidad en la expresión de interleuquinas Th17. Utilizando un nivel de significancia estadística de 0,05 y una potencia estadística del 80% se determinó un tamaño muestral de siete pacientes por grupo.

EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA

El índice de masa corporal (IMC) fue utilizado para definir el estado nutricional de los pacientes. El IMC fue registrado y clasificado de acuerdo al criterio de la Organización Mundial de la Salud en: bajo peso (< 18,5), normal (18,5-24,9), sobrepeso (25-29,9) y obesidad (> 30) (13).

MARCADORES SEROLÓGICOS

La determinación de anticuerpos antitransglutaminasa (TTG) se realizó en suero de los pacientes mediante kit comercial de ELISA (Immco Diagnostics, Buffalo, NY). Los anticuerpos antiendomiso (EMA) se evaluaron mediante inmunofluorescencia indirecta para IgA (Immco Diagnostics, Buffalo, NY). Para EMA se considera un test positivo cuando hay fluorescencia en la reacción, mientras que para TTG se considera un test positivo cuando hay ≥ 25 U/ml.

GENOTIPIFICACIÓN DE ANTÍGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS (HLA)

Previamente se extrajo el DNA total a partir de linfocitos de sangre periférica con kit de extracción comercial. La tipificación completa de HLA fue con kit comercial (Invitrogen®, Brown Deer, WI). El proceso de tipificación se subdividió en cuatro pasos: amplificación de regiones polimórficas por técnica de PCR, desnaturación química, hibridación y reacción de detección.

BIOPSIA DE INTESTINO DELGADO

La biopsia de intestino delgado fue obtenida por un procedimiento endoscópico. Se tomaron tres muestras de la porción distal del duodeno de cada paciente. La lesión histológica fue clasificada de acuerdo al criterio de Marsh-Oberhuber (14).

EXPRESIÓN DE IL-TH17 (IL-17F, IL-17A, IL-21 E IL-26)

El RNA total fue aislado desde biopsias de duodeno usando el método de extracción por Trizol (Invitrogen®, Grand Island, NY) y retro-transcrito a cDNA mediante el kit cDNA sintetasa (MBI Fermentas®, Hanover, MD). La PCR cuantitativa (QPCR) fue ejecutada en un sistema de PCR a tiempo real AB 7500, utilizando el método TaqMan™ (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los datos de expresión génica fueron recolectados a través del Ct (*cycle threshold*) de cada gen mediante el programa High Resolution Melt (HRM) v2.0 provisto por Applied Biosystem (Perkin Elmer, Foster City, CA). Para la normalización de los datos se empleó un gen constitutivo de referencia (*glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*, GAPDH). Para comparar la expresión relativa de los resultados entre las muestras de estudio (peso normal *versus* sobrepeso/obesidad), se utilizó el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ implementado por Applied Biosystem (Perkin Elmer, Foster City, CA).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la significancia estadística entre los grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Para evaluar la diferencia entre proporciones se utilizó el test de proporciones de dos muestras. Se consideró una significancia estadística un valor $p \leq 0,05$. Todos los análisis estadísticos se hicieron utilizando el programa Stata 10.1.

RESULTADOS

Se reclutaron y aceptaron participar en el estudio un total de 22 pacientes con diagnóstico reciente de enfermedad celiaca, 21 mujeres y un hombre. La tabla I muestra las características clínicas de ambos grupos. El grupo de pacientes con sobrepeso/obesidad presentó una alta frecuencia del genotipo HLA DQ2-DQ8 en comparación con el grupo con IMC normal, y esta diferencia fue significativa.

Con respecto a la expresión de los genes evaluados, se encontró una tendencia a una mayor expresión de Th17F e IL-26 en el grupo de pacientes con sobrepeso/obesidad, aunque esta diferencia no alcanzó significancia estadística (Fig. 1).

DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que en pacientes celiacos con la enfermedad activa, la expresión de IL-Th17 no era diferente entre pacientes con estado nutricional normal y pacientes con sobrepeso/obesidad. Los pacientes celiacos con sobrepeso y obesidad fueron el 32% de la muestra total, similar a lo reportado en el estudio de Kabani (12). La causa del exceso de peso corporal presente en la enfermedad activa o no tratada, a pesar de la malabsorción de la vellosidad intestinal atrofiada, no es clara. Una

Tabla I. Características de los pacientes de acuerdo al estado nutricional

	Normal	Sobrepeso/obesidad
Número de pacientes (n)	15	7
Edad (años)	42 (33-51)	45 (32-57)
IMC (kg/m ²)	21,7 (20,5-23,3)	26,8 (25,8-30,9)*
EMA positivo (%)	46,7	42,9
TTG-IgA (UI/ml)	25,5 (8,1-160,0)	24,0 (6,7-62,9)
HLA DQ2 (n)	7	3
HLA DQ8 (n)	6	1
HLA DQ2-DQ8 (n)	0	3*
Marsh 1	0	1
Marsh 2	2	2
Marsh 3a	2	3
Marsh 3b	2	0
Marsh 3c	8	2

Los resultados se presentan como mediana y rango. * $p \leq 0,05$, prueba U de Mann-Whitney y test de proporción de dos muestras.

posible explicación puede estar relacionada con el mecanismo de compensación duodeno-yeyuno a través de un aumento de la absorción en segmentos distales del intestino (15). La hipótesis compensatoria se refiere a la adaptación intestinal que consiste en cambios morfológicos de la mucosa, incluido un aumento de la altura de la vellosidad, de la profundidad de la cripta y del número de células epiteliales (16). Esto podría explicar que no existan diferencias en el patrón de interleuquinas en pacientes con distinto IMC. En este sentido, un peso corporal mayor podría ser consecuencia de la hipótesis compensatoria.

La respuesta Th17 estimula la producción de citoquinas y promueve la síntesis de proteasas que producen daño tisular. También está relacionado a la activación de neutrófilos (17), que favorece la inducción de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, nuestro estudio no muestra diferencia entre el patrón de expresión de las interleuquinas Th17 de pacientes con peso normal en comparación a los con sobrepeso/obesidad. Esta respuesta podría ser a nivel local en el duodeno sin generar cambios en áreas más extensas del intestino. Por otro lado, esto podría estar explicado por la condición inflamatoria que acompaña a la adiposidad. En este sentido, un estudio reciente en niños con enfermedades autoinmunes reportó que la obesidad era un factor independiente que se asociaba a una elevada frecuencia de células Th17 circulante (18). Estos últimos antecedentes abren la posibilidad de futuras líneas de investigación en las cuales sea factible estudiar el rol del estado inflamatorio de la obesidad en la patogenia de la enfermedad celiaca.

Una de las limitaciones de este estudio es que no se dispone de antecedentes de la ingesta alimentaria y de la capacidad de absorción de los pacientes. Estas dos variables podrían contribuir a explicar la malnutrición por exceso observada.

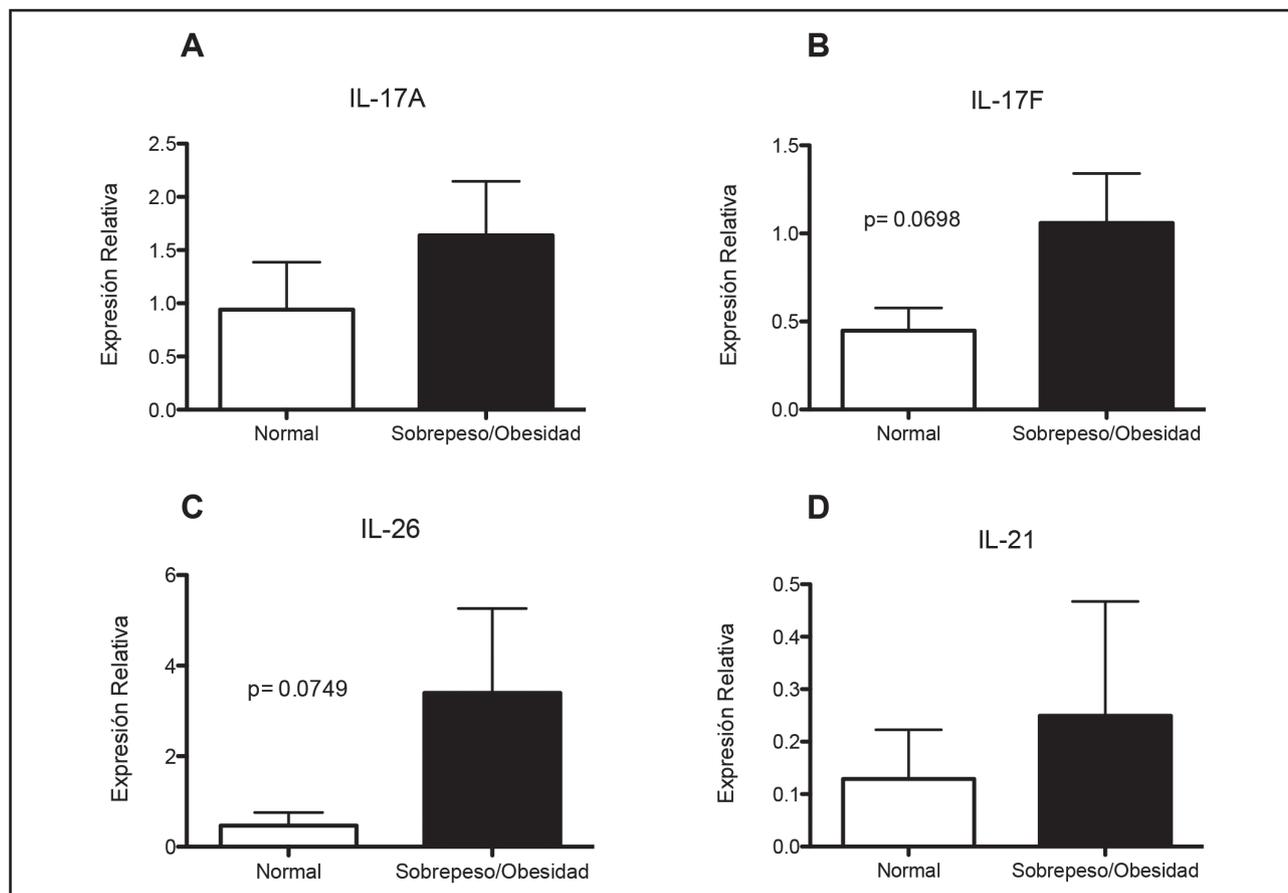


Figura 1.

Comparación entre los niveles de expresión relativa del mRNA de IL-17A (A), IL-17F (B), IL-26 (C) y IL-21 (D) en pacientes celíacos con peso normal (IMC 18,5-24,9 kg/m²) versus sobrepeso/obesidad (IMC > 25 kg/m²) usando PCR cuantitativo en tiempo real (QPCR). Los niveles de los transcritos fueron normalizados con GAPDH RNA (prueba U de Mann-Whitney).

CONCLUSIONES

El exceso de peso corporal en pacientes celíacos no está influenciado por los niveles de expresión de interleuquinas Th17. Es necesario realizar estudios que evalúen la masa intestinal y la capacidad absorbente del intestino que nos permitan explicar la alta prevalencia de exceso de peso en estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013;62(1):43-52.
- Reilly NR, Fasano A, Green PH. Presentation of coeliac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012;22:613-21.
- Jabri B, Sollid L. Mechanisms of disease: immunopathogenesis of coeliac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3(9):516-25.
- Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441(7090):235-8.
- Bettelli E, Oukka M, Kuchroo V. TH-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol* 2007;8(4):345-50.
- Fernández S, Molina IJ, Romero P, González R, Peña J, Sánchez F, et al. Characterization of gliadin-specific Th17 cells from the mucosa of coeliac disease patients. *Am J Gastroenterol* 2011;106(3):528-38.
- Bodd M, Ráki M, Tollefsen S, Fallang LE, Bergseng E, Lundin KE, et al. HLA-DQ2-restricted gluten-reactive T cells produce IL-21 but not IL-17 or IL-22. *Mucosal Immunol* 2010;3(6):594-601.
- Fina D, Sarra M, Caruso R, Del Vecchio Blanco G, Pallone F, MacDonald T, et al. Interleukin 21 contributes to the mucosal T helper cell type 1 response in coeliac disease. *Gut* 2008;57(7):887-92.
- Monteleone G, Caruso R, Fina D, Peluso I, Gioia V, Stolfi C, et al. Control of matrix metalloproteinase production in human intestinal fibroblasts by interleukin 21. *Gut* 2006;55(12):1774-80.
- Daum S, Bauer U, Foss HD, Schuppan D, Stein H, Riecken EO, et al. Increased expression of mRNA for matrix metalloproteinases-1 and -3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in intestinal biopsy specimens from patients with coeliac disease. *Gut* 1999;44(1):17-25.
- Tortora R, Capone P, De Stefano G, Imperatore N, Gerbino N, Donetto S, et al. Metabolic syndrome in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41(4):352-9.
- Kabbani TA, Goldberg A, Kelly CP, Pallav K, Tariq S, Peer A. Body mass index and the risk of obesity in coeliac disease treated with the gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(6):723-9.
- Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995;854:1-452.

14. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of celiac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11(10):1185-94.
15. Semeraro L, Barwick K, Griboski J. Obesity in celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 1986;8(2):177-80.
16. Diamanti A, Capriati T, Basso MS, Panetta F, Di Ciommo Laurora VM, Bellucci F, et al. Celiac disease and overweight in children: an update. *Nutrients* 2014;6(1):207-20.
17. Bettelli E, Oukka M, Kuchroo V. TH-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol* 2007;8(4):345-50.
18. Schindler T, Wagner JJ, Goedicke-Fritz S, Rogosch T, Coccejus V, Laudenschlag V, et al. Th17 cell frequency in peripheral blood is elevated in overweight children without chronic inflammatory diseases. *Front Immunol* 2017;8:1543.