



11213

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

***INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y
NUTRICION SALVADOR ZUBIRÁN***

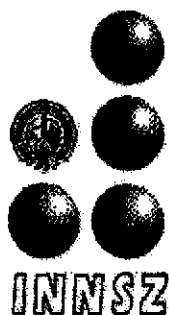
**Estudio sobre la prevalencia de anticuerpos anti-transglutaminasa
tisular en pacientes adultos con diabetes mellitus tipo 1.**

T E S I S

**Que para obtener el Titulo de Especialista en Endocrinología
presenta:**

Dr. Aurelio Ríos-Vaca

**Dr. Leonardo Mancillas Adame
Asesor de Tesis**



México D.F. Septiembre de 2005

0351760



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"
DIRECCION DE ENSEÑANZA
México, D.F.

~~Dr. Luis F. Uzcanga-Domínguez
Dirección de Enseñanza~~

~~Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán~~

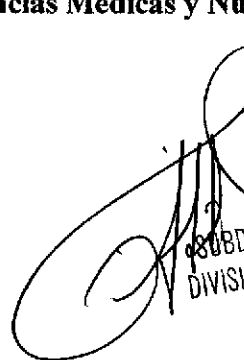
Dr. Juan A. Rull
Dirección de Medicina

Profesor Titular del Curso de Especialidad en Endocrinología y Metabolismo
Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Francisco Javier Gómez-Pérez
Jefe del Departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Leonardo Mancillas-Adame
Asesor de Tesis
Departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán




SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

El presente trabajo fue realizado con el entusiasmo y motivación de las siguientes personas. A todas ellas mi sincero agradecimiento.

Dr. Jose Maria Remes-Troche

Dr. Luis F. Uscanga-Domínguez

Lic. Enf. Maria Luisa Velasco-Pérez

Enf. Araceli Díaz

Q.F.B. Maria Teresa Ramírez Iglesias

Q.F.B. Carmen Moreno-Villatoro

Q.F.B. Lucy Guillen-Pineda

Dra. Daniela Riaño-Barros

Dr. Vicente Andrade-Zarate

Dra. Fanny Rodríguez-Vallejo

Dr. Aldo Montaña-Loza

A mi esposa Paula

A mi hija Vera

"Mo Cushie"

Índice

Introducción	1
<i>col</i> Antecedentes	2
Definición del Problema	8
Justificación	9
Objetivos	9
Hipótesis	9
Pacientes y Métodos	10
Análisis Estadístico	13
Resultados	14
Discusión	17
Conclusiones	19
Anexos	20
Citas bibliográficas	21

Resumen

Introducción: La enfermedad celiaca (EC) es una enfermedad crónica autoinmune con manifestaciones clínicas diversas. Mediante estudios epidemiológicos se ha determinado que la prevalencia de la EC es de por lo menos 0.5% en población adulta sana. Las manifestaciones clínicas son diversas y frecuentemente sutiles por lo cual no es infrecuente que pase desapercibida durante muchos años. La prevalencia de la EC es considerablemente mas alta en algunas poblaciones; especialmente en personas con otras enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1 (DM1). La prevalencia en sujetos con DM1 se ha calculado en 0.97-16% dependiendo de la población estudiada. En México aun no existen estudios que analicen la prevalencia de EC en pacientes con DM1. Dada la importante asociación y las posibles implicaciones para los pacientes diseñamos un estudio preliminar utilizando in ensayo para detectar anticuerpos anti-tran glutaminasa (tTGA) tisular en esta población en riesgo.

Objetivos: Conocer la prevalencia de anticuerpos tTGA positivos en una población de pacientes con DM 1 asintomática.

Pacientes y Métodos: Se realizó un estudio de cohorte transversal en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Se consideraron pacientes con DM1 a aquellos sujetos sin historia de uso de hipoglucemiantes orales durante más de un año. Se incluyeron solo pacientes con DM1 mayores de 17 años, con documentación de anticuerpos contra islote pancreático (ICA's) y/o anticuerpos anti-descarboxilasa de ácido glutámico (GAD) y/o historia documentada de cetoacidosis diabética.

Resultados: Se invitaron a participar a 106 enfermos elegidos de manera consecutiva de la consulta de la Clínica de Diabetes en este Instituto. Cuando consideramos únicamente los pacientes con diagnóstico corroborado de DM1 la prevalencia de tTGA positivos fue de

9/84=10.7% (95% IC: 0.04-0.17). Seis casos correspondieron a mujeres y tres a hombres. La media de la edad al momento del estudio en estos pacientes fue de 29.6 años (95% IC: 24.1-35.1). En promedio, la edad al momento del diagnóstico de la DM1 fue de 18.7 años (95% IC: 10.9-26.5). No hubo diferencia significativa entre el grupo con tTGA y el grupo sin tTG en cuanto a tiempo de evolución de la diabetes o edad al momento del diagnóstico de la misma [evolución de diabetes: media 10.9 años, 95% IC: 6.3-15.5 grupo tTGA (+) vs. media 12.1 años, 95% IC: 9.6-14.5, grupo tTGA (-); NS y edad al diagnóstico de DM1: media 18.7 años, 95% IC: 10.9-26.5, grupo tTGA (+) vs. media: 16.6 años, 95% IC: 15.2-18.1, grupo tTGA (-); NS] . El IMC entre ambos grupos fue similar [media: 22.8, 95% IC: 21.63-24 grupo tTGA (+) vs. media: 23.2, 95% IC: 22.4-24, grupo tTGA (-); p= 0.55].

Conclusión: En este estudio preliminar se encontró una prevalencia de EC definida por anticuerpos tTGA similar a la reportada en grupo de riesgo en la literatura mundial. Es necesario efectuar estudios adicionales como biopsia intestinal en este grupo de sujetos para confirmar el diagnóstico y ofrecer tratamiento adecuado. Asimismo, este estudio podría ser extendido para incluir un mayor número de sujetos y así intentar determinar la utilidad del tratamiento dietético y su impacto en diferentes parámetros tales como el grado de control de la diabetes y la frecuencia de hipoglucemia.

Introducción

La enfermedad celiaca (EC) es una enfermedad crónica autoinmune con manifestaciones clínicas diversas. La lesión histopatológica se caracteriza por inflamación, atrofia de vellosidades e hiperplasia de criptas. Esta lesión histológica se desarrolla en sujetos genéticamente susceptibles después de la ingesta de gluten y mejora o desaparece después de la introducción de una dieta especial libre de gluten.

Mediante estudios epidemiológicos se ha determinado que la prevalencia de la EC es de aproximadamente 0.5%-1% en población adulta. Las manifestaciones clínicas son diversas y frecuentemente sutiles por lo cual no es infrecuente que pase desapercibida durante muchos años. La prevalencia de la EC es considerablemente más alta en algunas poblaciones; especialmente en personas con otras enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1 (DM1). La prevalencia en sujetos con DM1 se ha calculado en 4-14%, dependiendo de la población estudiada.

En México hasta el momento no existe ningún estudio acerca de la prevalencia de EC en pacientes con DM1. Dada la importante asociación y las posibles implicaciones para los pacientes diseñamos un estudio preliminar utilizando un ensayo para detectar anticuerpos anti-tran glutaminasa (tTG-IgA) tisular en esta población en riesgo.

Antecedentes

La enfermedad celiaca (EC) es una enfermedad autoinmune desencadenada por la ingesta de una de varias proteínas relacionadas presentes en el trigo, cebada y el centeno. En personas susceptibles la ingesta de estas proteínas lleva a la infiltración de la mucosa del intestino delgado por linfocitos CD8 y CD4 y finalmente al desarrollo de hiperplasia de las criptas y atrofia de vellosidades (1). La traducción clínica es un síndrome de malabsorción intestinal con un espectro amplio de presentación. Se considera que esta entidad clínica afecta principalmente el tracto gastrointestinal. Sin embargo, existen evidencias de que pueden existir numerosas manifestaciones extraintestinales (2). La EC se asocia con otras enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1 (DM1) en donde su prevalencia se encuentra aumentada.

Epidemiología de la Enfermedad Celiaca

Con el advenimiento de pruebas serológicas incluyendo la detección de anticuerpos antigliadina (AGA) y antiendomiso (EMA) se han podido llevar a cabo estudios epidemiológicos importantes. Tanto los AGA como los EMA y recientemente los anticuerpos antitransglutaminasa tisular (tTGA), tienen una alta sensibilidad y especificidad para la detección de EC.

En la década de los cincuenta la literatura disponible sugería que la prevalencia era de 1:4000 a 1:8000. Sin embargo, estos reportes iniciales se basaban en el diagnóstico clínico de la entidad (síntomas de malabsorción) (3). La prevalencia de EC utilizando marcadores serológicos va desde uno de cada noventa y nueve sujetos hasta uno de cada trescientos sujetos. Fasano et al. analizó la prevalencia de EC en la población Norteamericana mediante un estudio epidemiológico en donde se determinó que uno de cada 133 sujetos tenían marcadores serológicos positivos para EC. Cuando se analizaron a los familiares en primer grado de pacientes con EC la prevalencia fue de 1:39. En este estudio se utilizaron EMA como marcadores de enfermedad (4).

La DM1 es una de las enfermedades asociadas con un riesgo incrementado de EC. Existen diversos reportes en donde se establece que entre 1.0%-16% de los adultos con DM1 tienen anticuerpos EMA o tTGA y en la mayoría de los casos estos sujetos tienen EC corroborada mediante biopsia de intestino delgado (5). Muchos de estos pacientes no presentan manifestaciones clínicas al momento del diagnóstico.

La EC y DM 1 comparten los loci genéticos HLA-DR3, HLA-DQ2 y el locus IDDM3 en el cromosoma 15q26 (6). Se ha determinado que aproximadamente la tercera parte de los pacientes con DM 1 que tienen el haplotipo HLA-DQ2, tienen niveles incrementados de anticuerpos tTGA y por lo tanto tienen un riesgo incrementado de padecer EC. Esto contrasta con la prevalencia de tTGA de solo 2% en sujetos sin HLA-DQ2.

Utilidad de el diagnóstico oportuno de la EC en DM1

El beneficio de realizar estudios de rutina o escrutinio en pacientes con DM1 aun es materia de controversia (7). El escrutinio es apoyado por el riesgo de estos pacientes, especialmente niños de presentar alteraciones en el desarrollo y retardo en la pubertad. La EC subclínica al igual que la enfermedad sintomática, puede causar retraso en el crecimiento y peso bajo para la edad (8,9). Un estudio epidemiológico australiano demostró reducciones pequeñas en el *z score* para talla y peso en 20 niños diabéticos con EC subclínica comparado con 40 controles diabéticos pareados por edad, genero y duración de la enfermedad (10). Por otro lado, un estudio inglés reportó disminución en *z score* para el índice de masa corporal pero talla normal en 11 pacientes pediátricos diabéticos con EC (10 subclínica y 1 clásica) al momento del diagnóstico (11). A pesar de estos hallazgos interesantes existen estudios que han reportado que los enfermos con DM 1 y EC logran talla y peso normal aun sin recibir tratamiento para EC durante la infancia (12,13).

La hipoglucemia severa o recurrente puede comprometer la función neurológica en sujetos diabéticos especialmente en población pediátrica. La absorción errática de nutrientes en sujetos con EC sintomática puede incrementar el riesgo de hipoglucemia severa en pacientes diabéticos. (2,14).

Manifestaciones clínicas

El modelo del "iceberg" propuesto en 1991 por Logan et al. postula que la prevalencia de la EC puede conceptualizarse como el tamaño real del iceberg, donde la parte visible esta formada por los casos con manifestaciones clínicas típicas. Sin embargo, la parte no visible, o sumergida corresponde a casos con manifestaciones distintas o muy sutiles (15). Esto ha dado origen a las siguientes definiciones clínicas de EC:

1. No diagnosticada: individuos con lesiones mucosas clásicas y síntomas pero aun sin diagnóstico.
2. Silente: pacientes con cambios morfológicos típicos en la biopsia de intestino delgado, anticuerpos positivos, pero sin manifestaciones clínicas.
3. Potencial: pacientes con anticuerpos positivos, con o sin manifestaciones clínicas, y sin cambios histológicos característicos.
4. Latente: pacientes con anticuerpos positivos, susceptibilidad genética, pero sin manifestaciones clínicas e histológicas de la misma (16).

Las manifestaciones clínicas clásicas de la EC, como diarrea, perdida de peso, debilidad y deficiencias nutricionales, son con menor frecuencias el origen de los casos diagnosticados, ya que actualmente la sospecha diagnóstica se basa en la presencia de signos y síntomas de otras patologías autoinmunes asociadas a la EC como la dermatitis herpetiforme, diabetes mellitus, cirrosis biliar primaria, síndrome de Sjögren y deficiencia de IgA, entre otras (15).

Fisiopatología

Los desencadenantes clave en la EC son péptidos inmunogénicos específicos de las proteínas del gluten en la dieta. Estos péptidos, resistentes a las enzimas digestivas gástricas y pancreáticas encuentran el camino hacia la lámina propia, aprovechando cambios en la permeabilidad intestinal. La infiltración subsiguiente por linfocitos T CD4+ en la lamina propia y linfocitos CD4- y CD8- en el epitelio intestinal son la característica histopatológica de la EC activa. La función de los linfocitos CD4+ HLA-DQ2- y HLA-DQ8- restringidos, de la lámina propia en la respuesta inmune ha sido bien caracterizada. En sujetos genéticamente predispuestos en quienes se expresan las moléculas HLA-DQ2 y HLA-DQ8, las células presentadoras de antígeno procesan los péptidos de gluten ricos en glutamina y prolina y los presentan a linfocitos CD4+, específicos para gluten. Uno de estos péptidos es una secuencia de 33 amino ácidos la cual es resistente a las enzimas digestivas y es un activador potente de poblaciones de linfocitos T específicos. El reconocimiento de los péptidos por las células T conlleva a su activación y la liberación de citocinas. Algunas de estas citocinas producen la activación y expansión clonal de células B, las cuales producen anticuerpos (17).

La tTG es una enzima intracelular ubicua, perteneciente a una familia compuesta por tres transglutaminasas epidérmicas y dos extracelulares. La función de estas enzimas es catalizar la unión cruzada covalente e irreversible de proteínas, produciendo una unión epsilon-(gamma-glutamil)-lisina (isopeptidil).

La tTG tiene una alta afinidad para las proteínas donadoras de grupos glutamil y no para las receptoras. Otra función importante es realizar enlaces cruzados de diversas proteínas de matriz extracelular, dando estabilidad al tejido conectivo en el cual descansan las células epiteliales. Se encuentra principalmente en el espacio intracelular y cuando se activa en forma intracelular reacciona con diversas estructuras y proteínas funcionales, iniciando la apoptosis y evitando la salida de proteínas y sustancias dañinas o antigénicas.

La gliadina es una proteína compuesta por glutamina (35% de los aminoácidos) y prolina; es un sustrato donador de grupos glutamil para la tTG, formando enlaces cruzados gliadina-gliadina. Además de la generación de enlaces cruzados, la tTG desamina a los sustratos donadores de grupos glutamil (gliadina). Esta desaminación puede ser completa, con lo que la tTG inhibe las propiedades toxicas de la gliadina o bien puede ser parcial, que suele ocurrir en pacientes con EC. De esta manera, ciertas uniones peptídicas de glutamina son convertidas en ácido glutámico de carga negativa. Esta última reacción optimiza la unión de ácido glutámico a los receptores HLA-DQ2, formando así, estructuras de alto peso molecular que funcionan como neoepitopes, lo que provoca un incremento en la sensibilidad, respuesta y proliferación hacia estas sustancias por parte de los linfocitos T sensibles al gluten (15).

Una función adicional de la tTG recientemente descrita, es su capacidad generadora de autoanticuerpos (IgA, IgG anti-tTGA), cuya detección mediante técnicas serológicas ha sido propuesta como herramienta diagnóstica de la EC. La salida al medio extracelular de la tTG como resultado del daño y destrucción observado en la EC, parece ser responsable de la generación de autoanticuerpos contra esta enzima o bien estos últimos pueden generarse como resultado de la respuesta inmunológica mediada por linfocitos B, que se unen a la gliadina o a los complejos gliadina-tTG y presentan estos antígenos a linfocitos T CD4 mediante el HLA-DQ2, lo que provoca la liberación de citocinas, como la interleucina-4 que promueve la proliferación de linfocitos B autorreactivos y la subsiguiente producción de autoanticuerpos.

Estos autoanticuerpos tienen un papel biológico en la EC, ya que la tTG y plasmina son sustratos necesarios para generar factor de crecimiento tisular beta (TGF- β) activo, por lo que la sobreproducción de autoanticuerpos puede contribuir a la transformación epitelial observada en la lesión de la EC activa; sin embargo, no puede descartarse que la falta de diferenciación epitelial no sea sino el resultado de la atrofia de vellosidades, que impide a las criptas epiteliales hacer contacto con sustancias de la matriz extracelular, que son necesarias para su diferenciación y proliferación.

Podrían interferir con la actividad de TGA-2 produciendo un efecto deletéreo en la diferenciación celular, contribuyendo a la transformación de la mucosa observada en EC (15).

Anticuerpos como método de diagnóstico

La EC se asocia con anticuerpos circulantes contra gliadina y endomisio. Se ha comprobado que estos marcadores son muy valiosos en el diagnóstico y tratamiento de la EC. Los anticuerpos antiendomiso EMA tienen una sensibilidad y especificidad más alta que los anticuerpos antigliadina y actualmente se consideran como un marcador serológico excelente para la EC. Aunque los ensayos de anticuerpos antireticulina fueron utilizados ampliamente en el pasado, actualmente han sido desplazados ya que los anticuerpos EMA ofrecen una sensibilidad superior.

El examen de anticuerpos anti-tran glutaminasa (tTGA) un ensayo con metodología ELISA, es menos operador dependiente y más cuantitativo que la técnica de inmunofluorescencia. (17). Cuando se analizaron mediante criterios rigurosos únicamente estudios en los cuales la biopsia fue utilizada como estándar de oro se reportó que los anticuerpos tTGA y los anticuerpos EMA tienen una sensibilidad mayor de 90% y especificidad mayor de 95%. En contraste, los anticuerpos antigliadina tienen una sensibilidad del 80% y especificidad de 80-90% (18).

Definición del Problema

La mayoría de los pacientes con DM 1 y EC tienen formas silentes o subclínicas de EC (19). Solo una minoría se detecta por la presencia de síntomas clínicos. La mayoría de los sujetos no reportan síntomas gastrointestinales. Cuando existen síntomas gastrointestinales no es infrecuente que estos se atribuyan a complicaciones propias de la diabetes como gastroparesia diabética o enfermedad por reflujo gastroesofágico. En México no hay datos acerca de la prevalencia de la EC en pacientes con DM1.

Justificación

Es necesario conocer la prevalencia de la EC en pacientes con DM1 en la población mexicana. La información permitiría diseñar estudios para analizar el impacto de pruebas serológicas de escrutinio en esta población en riesgo. Los beneficios potenciales de la detección oportuna de esta entidad solo pueden estudiarse una vez que se establezca la prevalencia en pacientes con DM1.

Objetivos

Objetivos específicos

1. Comparar el tiempo de evolución de la DM 1 en pacientes con y sin anticuerpos tTGA.
2. Comparar la presencia de complicaciones propias de la DM 1 en el grupo con anticuerpos tTGA y en el grupo sin anticuerpos tTGA.
3. Comparar el grado de control glucémico determinado por HbA1C en ambos grupos de pacientes.

Hipótesis

Los pacientes mexicanos con DM 1 tendrán una prevalencia de positividad para anticuerpos tTGA similar a la descrita para este de grupo de riesgo en la literatura internacional y mayor a la de la población sana.

Pacientes y Métodos

Se realizó un estudio de cohorte transversal en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán en el periodo de tiempo comprendido entre el 1° de Marzo del 2005 y el 1° de Junio del 2005. Para el calculo de la muestra se considero como variable dependiente la prevalencia de anticuerpos tTG en pacientes con DM1; que es de 0.24 a 0.76%. Por diferencia de 2 proporciones con un valor de $Z\alpha = 1.96$ para 2 colas $\alpha = 0.05$ y de $Z\beta = 0.842$ para $\beta = 0.2$ y utilizando prueba exacta de Fisher, se considero un mínimo de 72 pacientes.

Se invitaron a participar a 106 enfermos sin síntomas gastrointestinales elegidos de manera consecutiva de la consulta de la Clínica de Diabetes en este Instituto. Se consideraron pacientes con diabetes mellitus tipo 1 a aquellos sujetos sin historia de uso de hipoglucemiantes orales durante más de un año. Se incluyeron solo pacientes con diabetes mellitus tipo 1 mayores de 17 años, con documentación de uso temprano de insulina (dentro del primer año del diagnóstico de DM1) y/o anticuerpos contra islote pancreático (ICA's) y/o anticuerpos anti-descarboxilasa de ácido glutámico (GAD) y/o historia documentada de cetoacidosis diabética. Fueron excluidos pacientes con diarrea o síntomas sugerentes de malabsorción manifestados al momento de la entrevista médica.

Se obtuvo una sola muestra de sangre de los sujetos que acudieron al Departamento de Endocrinología para la determinación de tTGA. Las muestras fueron colectadas en un tubo de vidrio limpio y sin factores agregados. La sangre se dejó coagular 30 minutos y posteriormente se centrifugó a 10,000 RPM por 5 minutos. Posteriormente el suero de los sujetos fue separado en alícuotas para su congelación a -70 C hasta su análisis.

Los sueros fueron evaluados con un método comercial de ELISA tTGA-IgA de nueva generación con base en proteína recombinante humana (Aeskulisa tTGA-IgA, Wendelsheim, Alemania). Esta prueba es un inmunoensayo enzimático de fase sólida para detección cuantitativa y cualitativa de anticuerpos contra los neo-epitopes de tTG en suero humano. Cien μL de suero

diluido (1:101) fueron incubados por 30 minutos a temperatura ambiente. Después de lavar tres veces, 100 μ L del conjugado (que contiene anti-inmunoglobulinas humanas conjugadas a peroxidasa) se colocó en cada contenedor y se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y sin luz. Este paso genera una reacción colorimétrica enzimática (azul) que se inhibe con la administración de ácido clorhídrico 100 μ L (el color cambia a amarillo). La formación de color inducida por el cromógeno está en función de la cantidad de conjugado unido al complejo antígeno-anticuerpo y es proporcional a la concentración inicial de los anticuerpos respectivos en el suero del enfermo. Las adsorbancias fueron interpretadas con un sistema ELISA (ELX 808, Bio-Tek Instruments, Inc.) a 450 nm dentro de los 30 minutos siguientes. El valor de corte proporcionado por el fabricante fue de 15 U/ml. Los valores obtenidos por arriba de este punto de corte fueron considerados positivos. La variabilidad intra e inter-ensayo estuvieron por debajo de 5% y 20%, respectivamente.

Validación de la prueba comercial

Antes de hacer las pruebas en el suero de los donadores de sangre, se realizó la validación de la prueba comercial de ELISA tTGA-IgA. Para cumplir ese propósito, se realizó la prueba por duplicado en sueros de 18 pacientes con EC no tratada evaluados en el Instituto y a 20 controles (12 sanos y 8 con sobrepoblación bacteriana). El suero de los enfermos se obtuvo al momento del diagnóstico y todos los sujetos fueron sometidos a endoscopia superior con toma de biopsia de intestino delgado, aspirado duodenal y prueba de absorción de D-xilosa. Las biopsias mucosas fueron teñidas con hematoxilina y eosina y evaluadas en microscopio de luz y etapificadas acorde con la clasificación de Marsh.

Todos los pacientes con EC tuvieron valores de tTGA-IgA por arriba del punto de corte establecido por el fabricante (>15 U/ml) y todos los controles excepto uno con sobrepoblación bacteriana tuvieron valores por debajo de este punto de corte. La precisión de la prueba fue de 97% (95% IC:92-97), con sensibilidad del 100% (95% IC: 97-100), especificidad 95% (95% IC: 92-97),

valor predictivo positivo de 95% (95% IC: 92-97) y valor predictivo negativo de 100% (95% IC: 97-100).

Variables a medir principal y secundarias

Variable principal: anticuerpos tTGA en suero.

Variables secundarias:

a) Datos clínicos: peso, índice de masa corporal, tiempo de evolución de diabetes, presencia de otras enfermedades autoinmunes.

b) Datos bioquímicos: HbA1C, creatinina sérica, microalbuminuria, biometría hemática y albúmina. Estos tuvieron como máximo un año de antigüedad.

c) Enfermedades asociadas: Hipotiroidismo autoinmune; definido como aquel sujeto en tratamiento sustitutivo con hormonas tiroideas y documentación previa de anticuerpos antiperoxidasa tiroidea. Enfermedad de Graves: sujeto con antecedente de hipertiroidismo autoinmune tratado en el Instituto.

Análisis estadístico

Para el análisis de las variables categóricas se utilizara prueba de χ^2 de Pearson con corrección de Yates o prueba exacta de Fisher en caso de esperar frecuencias (n) menores de 5 en algunas de las celdas de las tablas. Para las variables dimensionales se utilizara la prueba de Wilcoxon y t de Student. Los resultados se expresaran como frecuencias absolutas y relativas en caso de las variables nominales y como medias y desviación estándar (DE) para las variables dimensionales. Los valores de $P \leq 0.05$ se consideraran como estadísticamente significativos. Para el análisis estadístico se utilizará el paquete SPSS versión 10 para Windows y el paquete EXCEL.

Resultados.

Se invitaron a participar a 106 enfermos elegidos de manera consecutiva de la consulta de la Clínica de Diabetes en este Instituto. Se colectaron 106 muestras. Seis fueron eliminadas debido a que eran muestras repetidas. El expediente de un paciente no estuvo disponible para su análisis y no fue posible contactarlo para recabar información epidemiológica. De esta manera se procedió a analizar los datos de 99 sujetos. Después de la revisión de los expedientes clínicos se determinó que 15 sujetos no cumplían con los criterios de diabetes tipo 1 y fueron eliminados. El diagnóstico de DM1 pudo corroborarse en 84 sujetos.

La media de la edad al momento del estudio en el grupo con DM1 ($n=84$) fue de 28.9 años (95% IC: 26-30.8); la media de la edad al momento del diagnóstico de DM1 fue de 16.9 años (95% IC: 15.3-18.4). En el grupo de pacientes excluidos por no cumplir criterios de DM1 ($n=15$) la media de la edad en el momento del estudio fue de 33.5 años (95% IC: 29.3-37.3). En este mismo grupo la media de la edad al momento del diagnóstico de diabetes fue de 23.5 (95% IC: 15.4-31.6). La diferencia entre las edades al momento del estudio y al momento del diagnóstico de la diabetes fue significativa ($p=0.001$ y $p=0.03$), siendo ambas menores en el grupo con criterios de DM1. Ninguno de los pacientes excluidos tenía historia de cetoacidosis diabética ($0/15=0\%$), mientras en el grupo con diagnóstico de DM1 la proporción con cetoacidosis documentada fue de $26/84=31\%$ ($p=0.01$). Se observaron 5 pacientes con historia de enfermedad de Graves en el grupo con DM1 y ninguno en los sujetos excluidos ($p=0.60$). Asimismo, catorce pacientes con DM1 tenían hipotiroidismo autoinmune ($14/84=16.7\%$) y solo uno en el grupo de sujetos eliminados ($1/15=6.7\%$) ($p=0.46$).

Se analizó el tiempo de evolución de la diabetes. La media del tiempo de evolución en los enfermos con DM1 fue de 11.9 años (95% IC: 9.7-14.2). El control glucémico en este grupo de sujetos fue valorado observando el porcentaje de HbA1C. La media de esta variable fue 10.5% (observada en 83 sujetos) (95% IC: 9.9-11.1).

De los ochenta y cuatro pacientes con DM1, se habían realizado pruebas para detectar la presencia de anticuerpos GAD o ICA's en 31 de ellos (37%). Trece pacientes tenían documentado positividad para GAD (42%) y 13 para ICA's (42%). De los 15 pacientes que se decidió excluir, 5 tenían determinación de anticuerpos GAD y/o ICA's. Solo un enfermo tenía positividad para GAD; sin embargo, este sujeto había estado en tratamiento con hipoglucemiantes orales durante más de dos años y no había presentado episodios de cetoacidosis diabética.

Nueve pacientes (9/99=9.1%, 95% IC: 0.03-0.14) tuvieron una prueba positiva para los tTG. Cuando consideramos únicamente los pacientes con evidencia de DM1 la prevalencia de tTG positivos fue de 9/84=10.7% (95% IC: 0.04-0.17). Seis casos correspondieron a mujeres y tres a hombres. La media de la edad al momento del estudio en estos pacientes fue de 29.6 años (95% IC: 24.1-35.1). En promedio, la edad al momento del diagnóstico de la DM1 fue de 18.7 años (95% IC: 10.9-26.5). No hubo diferencia significativa entre el grupo con tTGA y el grupo sin tTGA en cuanto a tiempo de evolución de la diabetes o edad al momento del diagnóstico de la misma [evolución de diabetes: media 10.9 años, 95% IC: 6.3-15.5 grupo tTG (+) vs. media 12.1 años, 95% IC: 9.6-14.5, grupo tTG (-); NS y edad al diagnóstico de DM1: media 18.7 años, 95% IC: 10.9-26.5, grupo tTG (+) vs. media: 16.6 años, 95% IC: 15.2-18.1, grupo tTG (-); NS]. El IMC entre ambos grupos fue similar [media: 22.8, 95% IC: 21.63-24 grupo tTG (+) vs. media: 23.2, 95% IC: 22.4-24, grupo tTG (-); p= 0.55].

El grado de control de la diabetes definido por porcentaje de HbA1C fue similar en ambos grupos [media 10.6%, 95% IC: 9.7-11.4 grupo tTGA (+) vs. media 10.5%, 95% IC: 9.8-11.2 grupo tTGA (-); NS]. En el grupo con tTG (+) se encontraron dos pacientes con anemia y VGM baja (2/6=33.3%) mientras en el grupo sin anticuerpos positivos la proporción fue de 4/54= 7.4% (p=0.10). La media de la hemoglobina y volumen globular medio (VGM) fue similar en ambos grupos [hemoglobina, media: 14.25 g/L, 95% IC: 12.55-15.95 grupo tTGA (+) vs. media: 14.03 g/L, 95% IC: 13.49-14.57 grupo tTGA (-); p=0.70 y VGM, media: 82.6 fL, 95% IC: 75.5-89.7

grupo tTGA (+) vs. media: 86, 95% IC: 83.6-88.4 grupo tTGA (-); $p=0.15$]. La proporción de sujetos con hipotiroidismo autoinmune entre ambos grupos fue similar [22.2% tTGA (+) vs. 16% tTGA (-); NS]. Observamos un sujeto con enfermedad de Graves en el grupo de tTGA (+) ($1/9=11.1\%$) y cuatro en el grupo con tTGA (-) ($4/75=5.3\%$) ($p=0.44$).

Discusión

La EC es una enfermedad crónica que afecta principalmente a sujetos con predisposición genética. Cuando no es tratada se asocia con una importante morbilidad y mortalidad. La asociación entre EC y DM1 ha sido reconocida durante muchos años y distintos estudios de prevalencia han demostrado este fenómeno en distintas poblaciones. En una revisión sistemática reciente de la literatura se encontraron 26 estudios que reportan la prevalencia de EC en pacientes con DM1. Veintiún de estos estudios se realizaron en Europa, dos en Estados Unidos, dos en Canadá y uno en África. La prevalencia de EC corroborada por biopsia fue de 0.97-16% (20). Interesantemente la prevalencia mas alta fue reportada en la población de Algeria lo cual indica que la EC probablemente sea un problema de salud global.

La prevalencia en una muestra de 1009 donadores de sangre mexicanos sanos recientemente fue estudiada por Remes-Troche et al. en el INNSZ (datos no publicados). Su grupo encontró una prevalencia de 2.7% en donadores de sangre sanos en este mismo Instituto y con el mismo ensayo. Existen pocos estudios en Latinoamérica que analicen la prevalencia de EC en población abierta y al momento ninguno que estudie pacientes con DM1. En México este es el primer trabajo sobre la prevalencia en esta población en riesgo. Si bien este estudio esta limitado a sujetos atendidos en una clínica de especialidad, creemos que la información será útil de manera preliminar para el diseño de investigaciones más grandes. La prevalencia observada en nuestro estudio sugiere que la EC es casi cinco veces mas frecuente en pacientes con DM1 que en población sana.

Uno de los retos principales de los estudios de prevalencia de EC en grupos de riesgo es la definición de las enfermedades: tal es el caso de la definición operativa de DM1. El hecho de incluir sujetos con "uso temprano" de insulina, es decir tratamiento con insulina dentro de los primeros 12 meses del diagnóstico aparentemente fue útil. Por ejemplo, la diferencia en edad fue significativa entre los pacientes catalogados como DM1 y los excluidos. De la misma manera la diferencia entre proporciones de pacientes con historia de cetoacidosis entre estos dos grupos fue

significativa; de hecho, ningún paciente del grupo excluido tenía historia de cetoacidosis. De esta manera, nuestros criterios de inclusión y exclusión pudieron haber logrado distinguir dos grupos de sujetos con procesos fisiopatológicos distintos.

Las pruebas serológicas utilizadas en la actualidad han alcanzado una sensibilidad y especificidad importante en el diagnóstico de EC; sin embargo, se deben tomar en cuenta las siguientes consideraciones. La prevalencia de la EC en la población de estudio tiene un impacto importante en los parámetros diagnósticos de estas pruebas. Por ejemplo, la sensibilidad de las pruebas de escrutinio es más baja cuando la EC aun se encuentra en etapa leve o silente. Se piensa que la sensibilidad puede disminuir hasta un 30% en estas situaciones (19).

Existen reportes de factores de riesgo para el desarrollo de EC en sujetos con DM1. Por ejemplo se ha encontrado que los pacientes en quienes se diagnostica la DM1 a edades más tempranas tienen mayor riesgo de desarrollar EC. También se ha postulado que las mujeres con DM1 tienen mayor riesgo para desarrollar EC (21). En nuestra muestra no encontramos ninguna diferencia en estos dos parámetros. De hecho, no hubo diferencias significativas entre aquellos con anticuerpos tTGA positivos y tTGA negativos. Es importante mencionar que la anemia por deficiencia de hierro y la deficiencia de vitamina D son frecuentes en pacientes con EC (22). Estos parámetros no fueron medidos en esta muestra; las variables bioquímicas fueron tomadas de los expedientes clínicos y su antigüedad podía variar, por ejemplo, de una semana hasta 1 año.

La prevalencia de EC detectada por anticuerpos tTGA en nuestra población es similar a la reportada en la literatura y casi cinco veces más alta que en la población mexicana sana. Aunque la correlación entre estos anticuerpos es elevada, la confirmación histológica de la enfermedad es necesaria para establecer la sensibilidad y especificidad del ensayo utilizado así como ofrecer tratamiento en los casos positivos.

Conclusión

En este estudio preliminar se encontró una prevalencia de EC definida por anticuerpos tTGA similar a la reportada en grupo de riesgo en la literatura mundial. Es necesario efectuar estudios adicionales como biopsia intestinal en este grupo de sujetos para confirmar la sensibilidad y especificidad de nuestro ensayo y proponer tratamiento a los enfermos con EC corroborada. Asimismo, este estudio se podría extender para incluir un mayor número de sujetos y así poder establecer la utilidad del tratamiento dietético y su impacto en diferentes parámetros tales como el grado de control de la diabetes y la frecuencia de hipoglucemia.

Tabla 1. Características de pacientes con DM1.

Variable	medias y proporciones
Edad (años)	28.9 (95% IC:26-30.8)
Mujeres (%)	73.8% (95% IC: 0.64-0.83)
Edad al diagnóstico de DM1	16.8 (95% IC: 15.3-18.4)
Historia de cetoacidosis diabética	31% (26/84)
Tiempo de evolución de DM1 (años)	11.9 (95% IC: 9.7-14.2)
Anticuerpos anti-GAD (+)	42% (13/31)
Anticuerpos anti-islole pancreático	42% (13/31)
Creatinina serica (mg/dl)	0.83 (0.72-0.94)
%HbA1C	10.5% (95% IC: 9.9-11.1)
Historia de enfermedad de Graves	5.95% (95% IC:0.001-0.11)
<i>Anticuerpos anti-tTG positivos</i>	10.7% (95% IC: 0.04-0.17)

Tabla 2. Características de pacientes con tTG positivos vs. tTG negativos.

variable	tTG positivo n=9	tTG negativo n=75	valor de p
Edad	29.6 (95% IC: 24.1-35.1)	28.8 (95% IC: 26.8-30.8)	NS
Mujeres(%)	66.7%	74.7%	NS
Edad al dx. de DM1	18.7 (95% IC: 10.9-26.5)	16.6 (95% IC:15.2-18.1)	NS
Evolución de DM1	10.9 (95% IC: 6.3-15.5)	12.1 (95% IC: 9.6-14.5)	NS
%HbA1C	10.6 (95% IC: 9.7-11.4)	10.48 (95% IC:9.8-11.2)	NS
IMC	22.8 (95% IC: 21.63-24)	23.2 (95% IC: 22.4-24)	NS
Hemoglobina (g/L)	14.25 (95% IC: 12.55-15.95)	14.03 (95% IC: 13.5-14.6)	NS
VGM (fL)	82.0 (95% IC: 75.5-89.1)	80 (95% IC: 83.0-88.4)	NS
Enf. de Graves	1/9	4/75	NS
Hipotiroidismo AI	2/9	12/75	NS
Anticuerpos anti-GAD	3/4	10/27	NS

Citas bibliográficas

1. Goggins M, Kelleher D. Celiac Disease and other nutrient related injuries to the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 1994;89:Suppl:S2-S17.
2. Collin P, Kaukinen K, Valimaki M, Salmi, J. Endocrinological Disorders and Celiac Disease. *Endocrine Review* 2002;23:264-283.
3. Fasano, A. Where have all the American celiacs gone? *Acta Paediatr* 1996;412:20.
4. Fasano A et al. Prevalence of Celiac Disease in At-Risk and Not-At-Risk Groups in the United States. *Arch Intern Med* 2003;163:286-292.
5. Rewers M, Liu E, Simmons J, Redondo M et al. Celiac Disease associated with type 1 diabetes mellitus. *Endocrinol Metabol Clin N Am* 2004; 33:197-214.
6. Houlston RS, Tomlinson IP, Ford D et al. Linkage analysis of candidate regions for coeliac disease genes. *Hum Mol Genet* 1997; 6:1335.
7. Freemark M, Levitsky L. Screening for Celiac Disease in Children With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:1932-1939.
8. Verkasalo M, Kuitunen P, Leisti S, Perheentupa J. Growth failure from symptomless celiac disease: a study of 14 patients. *Helv Paediatr Acta* 1978;33:489-495.
9. Ashkenazi A. Occult celiac disease: a common cause of short stature. *Growth, Genetics and Hormones*.1989;5:1-4.
10. Westman E, Ambler GR, Royle M, Peat J, Chan A. Children with coeliac disease and insulin dependent diabetes mellitus: growth, diabetes control and dietary intake. *J Pediatr Endocrinol Metabol* 1999;12:433-442.
11. Amin R, Murphy N, Edge J, Ahmed ML et al. A longitudinal study of the effects of a gluten-free diet on glycemic control and weight gain in subjects with diabetes type 1 and celiac disease. *Diabetes Care* 2002;25:1117-1122.
12. Cacciari, Corazza GR, Salardi S, Pascucci MG, Tacconi M et al. What will be the adult height of coeliac patients? *Eur J Pediatr* 1991;150:407-409.
13. Bode SH, Bachmann EH, Gudmand-Hoyer E, Jensen GB. Stature of adult coeliac patients: no evidence for decreased attained height. *Eur J Clin Nutr* 1991;45:145-149.
14. Mohn A, Cerruto M, Lafusco D, Prisco F, Tumini et al. Celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes: importance of hypoglycemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32:37-40.
15. Pelaez-Luna M, Montaña-Loza A, Remes-Troche JM. Conceptos actuales en la fisiopatología de la enfermedad celiaca. *Rev Invest Clin* 2003;55:569-576.

16. AGA Technical Review on Celiac Sprue. *Gastroenterology* 2001;120:1526-1540.
17. Alaedini A, Green P. Narrative Review: Celiac Disease: Understanding a complex autoimmune disorder. *Ann Intern Med* 2005; 142: 289-298.
18. Rostom A, Dube C, Cranney A, Salooje N et al. Celiac Disease. Evidence Report/Technology Assessment No. 104. Agency for Healthcare Research and Quality;2004: AHRQ publication no. 04-E029-2.
19. Cranney, A, Rostom A, Richmond A, Dubé C et al. Consequencies of Testing for Celiac Disease. *Gastroenterology* 2005;128:S109-S120.
20. Holmes GKT. Screening for coeliac disease in type 1 diabetes. *Arch Dis Child*;87:495-499.
21. Cerutti F, Bruno G, Chiarelli F, Lorini R et al. Younger Age at Onset and Sex Predict Celiac Disease in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:1294-1298.
22. Buysschaert M, Tomasi JP, Hermans MP. Prospective screening for biopsy proven coeliac disease, autoimmunity and malabsorption markers in Belgian subjects with Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2005;22:889-892.