

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con enfermedad celíaca

Menafrá, M.<sup>1\*</sup>; Meroño, T.<sup>1</sup>; Matoso, M.D.<sup>2</sup>; Boero, L.<sup>1</sup>; Gómez Rosso, L.<sup>1</sup>; Saez, M.S.<sup>3</sup>; Sorroche, P.<sup>3</sup>; De Paula, P.<sup>2</sup>; Brites, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Dpto. de Bioquímica Clínica, INFIBIOC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. CONICET. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Consultorio de Celiaquía, Servicio de Gastroenterología, Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio Central, Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

**Correspondencia:** Bioq. Martín Menafrá.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Dpto. de Bioquímica Clínica.

Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956 (1113). Buenos Aires. Argentina.

E-mail: martinmenafrá@gmail.com - Tel.: 54-11-4964-8297

## RESUMEN

En pacientes con enfermedad celíaca (EC), se ha observado mayor incidencia de eventos cardiovasculares que en controles, sin la presencia de factores de riesgo aterogénico clásicos. El objetivo de este estudio fue evaluar los factores de riesgo novedosos y biomarcadores de inflamación y enfermedad cardiovascular en pacientes con EC, con presentación típica y atípica. Fueron seleccionados 14 pacientes con EC sin tratamiento y controles pareados por sexo y edad. Se determinaron parámetros hematológicos, indicadores del metabolismo de los hidratos de carbono, proteína C reactiva ultrasensible (PCRus), perfil lipoproteico y actividades de proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP) y fosfolipasa A<sub>2</sub> asociada a lipoproteínas [Lp-PLA<sub>2</sub>]. Los pacientes con EC presentaron niveles plasmáticos mayores de insulina (7,2 mU/l vs. 4,4 mU/l; p<0,05) y mayor índice HOMA-IR (1,45 vs. 0,98; p<0,05) que los controles. Por otro lado, se observó menor concentración de colesterol-HDL (50 vs. 62 mg/dl; p<0,05), mayor cociente triglicéridos/colesterol-HDL y niveles de PCRus más altos (4,56 vs. 1,17 mg/l; p<0,05) en los pacientes que en los controles. Al comparar a los pacientes con presentación típica (n=8) y atípica (n=6), aquellos con presentación típica mostraron menores niveles de apo A-I (128 vs. 178 mg/dl; p<0,01) y aumento del cociente apo B/apo A-I (0,72 vs. 0,43; p<0,05), así como mayor actividad de Lp-PLA<sub>2</sub> (7,9 umol/ml.h vs. 6,15 umol/ml.h; p<0,05). La interacción de las alteraciones descritas durante períodos de tiempo prolongados en una condición patológica crónica como la EC constituirían un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

**Palabras clave:** enfermedad celíaca; aterosclerosis; inflamación; enfermedad cardiovascular.

## SUMMARY

In patients with celiac disease (CD), it has been reported higher incidence of cardiovascular events than in controls, without the presence of classical atherogenic risk factors. The aim of this study was to evaluate the novel risk factors and biomarkers of inflammation and cardiovascular disease in patients with CD, with typical and atypical presentation. We selected 14 patients with CD without treatment and 14 healthy sex and age-matched controls. Haematological parameters, indicators of carbohydrates metabolism, high sensitive C reactive protein (hsCRP), lipoprotein profile and the activities of cholesteryl ester transfer protein (CETP) and lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> [Lp-PLA<sub>2</sub>] were determined. CD patients presented higher insulin plasma levels (7.2 mU/l vs. 4.4 mU/l, p<0.05) and increased HOMA-IR index (1.45 vs. 0.98, p<0.05) than controls. On the other hand, lower HDL-cholesterol concentration (50 vs. 62 mg/dl, p<0.05), higher TG/HDL-cholesterol ratio and increased hsCRP levels (4.56 vs. 1.17 mg/l, P<0.05) were observed in comparison with control subjects. When comparing patients with typical (n=8) and atypical (n=6) presentation, the former showed lower apo A-I levels (128 vs. 178 mg/dl, p<0.01), and higher apo B/apo A-I ratio (0.72 vs. 0.43, p<0.05) and Lp-PLA<sub>2</sub> activity (7.9 umol/ml.h vs. 6.15 umol/ml.h, p<0.05). The interaction among the alterations above described during long periods of time in a chronic pathological condition such as CD could constitute higher risk of development of atherosclerotic cardiovascular disease.

**Key words:** celiac disease; atherosclerosis; inflammation; cardiovascular disease.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) es una enfermedad multisistémica que afecta principalmente al aparato digestivo aunque no de manera exclusiva. Su característica fundamental es la inflamación crónica y difusa de la mucosa del intestino delgado, y se puede presentar con una variedad de manifestaciones clínicas<sup>1</sup>. Hasta el momento, la única opción terapéutica de la EC consiste en la implementación de una dieta libre de gluten, cuya eficacia depende de su adherencia estricta.

Es destacable que la mayor parte de los casos de EC diagnosticados actualmente carecen de los síntomas gastrointestinales típicos y, en cambio, son muy frecuentes otras formas de presentación denominadas atípicas o extraintestinales, representando uno de los principales desafíos para el profesional de la salud<sup>2</sup>.

Muy frecuentemente, la EC ha sido asociada a ciertas condiciones fisiopatológicas que no están estrechamente vinculadas a la ingestión de gluten<sup>3</sup>. Entre estas causas, es destacable la escasa evidencia que existe sobre su relación con la enfermedad cardiovascular. Es sabido que los pacientes con EC no presentan factores de riesgo clásicos de enfermedad cardiovascular, sino que, por el contrario, la hipertensión arterial y la hipercolesterolemia son menos frecuentes en pacientes con EC que en la población general<sup>4,5</sup>. Sin embargo, diversos trabajos han mostrado que el riesgo de estos pacientes de desarrollar enfermedad cardiovascular tampoco resultó significativamente menor que en sujetos sanos como era esperado<sup>4</sup>. Más aun, en un importante estudio llevado a cabo en Suecia en aproximadamente 14.000 pacientes con EC hospitalizados, se observó mayor riesgo de infarto agudo de miocardio, de angina de pecho, de insuficiencia cardíaca,

de hemorragia cerebral y de accidente cerebrovascular isquémico que en controles pareados por sexo y edad<sup>6</sup>.

Estos hechos sugieren que la EC se encontraría asociada a otros factores de riesgo aterogénico no identificados hasta el momento. De hecho, la inflamación y la anemia, entre otros signos que caracterizan a la EC, podrían constituir un nexo entre esta patología y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

En la actualidad, la aterosclerosis es concebida como una enfermedad inflamatoria crónica, en la cual la disfunción endotelial y los biomarcadores de inflamación están presentes desde las etapas más tempranas de la patología<sup>7</sup>. Hasta el momento, el proceso inflamatorio de la EC no ha sido caracterizado en relación al riesgo de aterosclerosis.

El objetivo del presente estudio fue evaluar los factores de riesgo nóveles y biomarcadores de inflamación y enfermedad cardiovascular en pacientes con EC, tanto con presentación típica como atípica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sujetos

Fueron seleccionados 14 pacientes adultos con diagnóstico reciente de enfermedad celíaca, que concurren al Consultorio de Celiaquía del Servicio de Gastroenterología, del Hospital Italiano de Buenos Aires, durante 2011 y 2012. Fueron comparados con un grupo de controles voluntarios sanos seleccionados de acuerdo con el sexo y la edad de los pacientes. El diagnóstico de enfermedad celíaca se realizó sobre la base del hallazgo histopatológico y los marcadores serológicos (anticuerpos anti-gliadina IgG e IgA y anti-transglutaminasa IgA). De acuerdo con las características de los síntomas, los pacientes fueron clasificados en aquellos con

**Tabla 1:** Características clínicas y bioquímicas generales de los pacientes con enfermedad celíaca y los sujetos controles.

Variable	Pacientes (n = 14)	Controles (n = 14)	P
Edad (años)	50 [25-58]	47 [30-60]	ns
Hombres/Mujeres	2/12	2/12	ns
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	21,9 [20,4-28,0]	22,9 [21,7-23,8]	ns
Glucosa (mg/dl)	86 ± 11	88 ± 10	ns
Insulina (mU/l)	7,2 [5,9-11,3]	4,4 [2,7-6,7]	<0,05
HOMA-IR	1,45 [1,31-2,24]	0,98 [0,53-1,45]	<0,05
QUICKI	0,29 [0,26-0,3]	0,33 [0,29-0,4]	<0,05
Urea (mg/dl)	27 [19-30]	35 [33-35]	<0,01
Acido úrico (mg/dl)	4,9 ± 1,3	4,2 ± 1,5	ns
Bilirrubina total (mg/dl)	0,7 [0,5-0,8]	0,6 [0,5-0,9]	ns
ASAT (U/l)	24 ± 6	17 ± 5	<0,01
ALAT (U/l)	20 ± 6	19 ± 4	ns
FAL (U/l)	69 [58-92]	116 [50-169]	ns

IMC, índice de masa corporal; HOMA-IR, *Homeostasis model assessment insulin resistance*; QUICKI, *Quantitative insulin sensitivity check index*; ASAT, aspartato aminotransferasa; ALAT, alanina aminotransferasa; FAL, fosfatasa alcalina; ns, no significativo. Los resultados se expresan como media ± D.E. o mediana (rango intercuartilo) acorde a la distribución paramétrica o no paramétrica de las variables, respectivamente.

presentación típica ( $n = 8$ ) o atípica ( $n = 6$ )<sup>2</sup>. Se consideran síntomas de presentación típica las manifestaciones gastrointestinales como: diarrea, distensión, pérdida de peso y síndrome de malabsorción. Se consideran síntomas de presentación atípica las manifestaciones extradigestivas como: anemia, aftas orales, osteoporosis y alteraciones del hepatograma. En todos los pacientes y controles, se registraron peso, altura y circunferencia de cintura, y se realizó una anamnesis exhaustiva. Se excluyeron a los individuos que presentaban alteraciones tiroideas, renales, hepáticas, antecedentes de eventos cardiovasculares, a todo aquel que se encontrara bajo tratamiento farmacológico que afectase el metabolismo lipídico y/o glucídico, a los fumadores y alcohólicos. Todos los participantes del estudio firmaron un Consentimiento Informado. El proyecto fue aprobado por el comité de Ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (Res. Nro. 376, Expte. N° 734056/10) y por el Comité de Ética y Protocolos de Investigación (CEPI) del Hospital Italiano de Buenos Aires.

#### Protocolo de estudio y muestras

Se obtuvieron muestras de sangre de la vena antecubital después de 12 horas de ayuno. Las muestras fueron recolectadas en tubos secos y con EDTA. Las primeras fueron centrifugadas a 1500 x g durante 15 minutos a 4° C. Se separó el suero, que fue conservado a 4° y -70° C.

#### Medida de parámetros bioquímicos generales

Se determinaron las concentraciones plasmáticas de glucosa, urea, ácido úrico y bilirrubina total, las actividades de las enzimas aspartato aminotransferasa (ASAT), alanina aminotransferasa (ALAT) y fosfatasa alcalina (FAL) y el perfil hematológico completo, incluyendo ácido fólico y vitamina B12, mediante métodos estandarizados. Se midieron los niveles de insulina por RIA (*Diagnostics Products Corp.*, Los Angeles, CA, USA). Se calcularon los índices HOMA-IR,

(*Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance*) mediante la fórmula  $[\text{Glucosa (mmol/l)} \cdot \text{Insulina } (\mu\text{U/ml})] / 22,5$  y QUICKI (*Quantitative Sensitivity Check Index*) mediante la fórmula  $1 / [\ln \text{Glucosa (mmol/l)} + \ln \text{Insulina (mU/l)}]$ . Los niveles de la proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) fueron determinados por un método inmuniturbidimétrico (Roche, Mannheim, Alemania) en un autoanalizador Hitachi 917.

#### Determinación del perfil de lípidos, lipoproteínas y apoproteínas

Se cuantificaron los niveles plasmáticos de colesterol total y triglicéridos mediante métodos estandarizados (Roche, Mannheim, Alemania) en un autoanalizador Hitachi 917. Los CV intraensayo para las determinaciones de colesterol total y triglicéridos fueron 1,1% y 1,3%, respectivamente. Los CV interensayo fueron 1,5% y 2,4%, respectivamente. Se aislaron las HDL en el sobrenadante obtenido luego de la precipitación selectiva de las lipoproteínas con apo B utilizando reactivo precipitante 0,44 mmol/l ácido fosfotúngstico en presencia de iones magnesio<sup>8</sup>. Los CV intraensayo e interensayo para C-HDL fueron 3,2% y 3,8%, respectivamente. Se evaluó el nivel de C-LDL como la diferencia entre el colesterol total y el colesterol contenido en el sobrenadante obtenido después de la precipitación selectiva de LDL con 10 g/l polivinil sulfato en polietilenglicol (600 Da; 2,5% P/V; pH 6,7)<sup>9</sup>. Los CV intra e interensayo fueron 4,7% y 5,0%, respectivamente. Se calculó el colesterol no-HDL como la diferencia entre el colesterol total y el C-HDL. Se obtuvo el C-VLDL por diferencia entre el colesterol de los sobrenadantes de las precipitaciones de C-LDL y de C-HDL. Se realizó el dosaje de apo B y apo A-I por inmuniturbidimetría (Roche, Mannheim, Alemania) en un autoanalizador Selectra 2 (Wiener, Argentina). Los CV intra e interensayo para la determinación de apo B fueron 1,2 y 2,1%, respectivamente y, para apo A-I 1,9 y 2,4%, respectivamente. Se expresaron los resultados en mg/dl. Se estimaron los siguientes cocientes: triglicérido

**Tabla 2:** Parámetros hematológicos de los pacientes con enfermedad celíaca y los sujetos controles.

Variable	Pacientes (n = 14)	Controles (n = 14)	P
Eritrocitos (10 <sup>6</sup> /ml)	4,19 ± 0,42	4,55 ± 0,22	<0,05
Leucócitos (10 <sup>3</sup> /ml)	5,78 ± 1,40	6,25 ± 1,28	ns
Hematocrito (%)	36,9 ± 3,5	40,0 ± 2,5	<0,05
Hemoglobina (g/dl)	12,5 ± 1,2	13,2 ± 0,9	0,07
Ferremia (μg/dl)	71 ± 37	105 ± 61	ns
Ferritina (ng/dl)	32,6 [24,3-76,8]	92 [43-117]	ns
Transferrina (mg/dl)	275 ± 55	293 ± 59	ns
Sat. transferrina (%)	24 ± 15	29 ± 14	ns
Vitamina B12 (pg/ml)	388 ± 192	332 ± 101	ns
Acido fólico (ng/ml)	6,6 ± 3,0	11,8 ± 4,3	<0,01

Sat, saturación; ns, no significativo. Los resultados se expresan como media ± D.E. o mediana (rango intercuartilo) acorde a la distribución paramétrica o no paramétrica de las variables, respectivamente.

dos / C-HDL, colesterol total / C-HDL, C-VLDL / triglicéridos, C-LDL / apo B, apo B / apo A-I y C-HDL / apo A-I.

### Medida de la actividad de la proteína transportadora de colesterol esterificado

Se determinó la actividad de la proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP) en muestras de suero siguiendo el método radiométrico previamente descrito con pequeñas modificaciones<sup>10</sup>. Para ello, se evaluó la capacidad del suero para promover la transferencia de colesterol esterificado tritado desde la fracción de HDL<sub>3</sub> marcada biosintéticamente (<sup>3</sup>H-CE-HDL<sub>3</sub>) (NEN Life Science Products, Boston, EE.UU.) hacia las lipoproteínas con apo B presentes en el suero. Se incubaron las muestras séricas con <sup>3</sup>H-CE-HDL<sub>3</sub> (50 μmol/l de colesterol) e iodoacetato (1,5 mmol/l) en buffer TBS (pH=7,4) durante 3 horas a 37° C. Luego de la incubación, se separaron las lipoproteínas con apo B de las HDL mediante el método de precipitación selectiva utilizando ácido fosfotúngstico (0,44 mmol/l) en presencia de iones magnesio. Se midió la radioactividad en la mezcla de reacción y en el sobrenadante que contenía la fracción de HDL en un contador de centelleo líquido (Packard 210 TR; Packard Instruments, Meridians, CT). Los resultados fueron expresados como porcentaje de colesterol esterificado tritado transferido desde la fracción de HDL<sub>3</sub> hacia las lipoproteínas con apo B, por ml, por hora. Todas las muestras fueron procesadas en el mismo ensayo. El CV intraensayo fue 4,9%.

### Medida de la actividad de fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas

La actividad de la fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA<sub>2</sub>) fue evaluada empleando el ensayo radiométrico

descrito por Blank y col.<sup>11</sup> con algunas modificaciones. La extracción del acetato marcado, liberado luego de la acción de la enzima sobre el sustrato lipídico, fue realizada mediante partición líquido-líquido y para su cuantificación se midió la radioactividad de la fase acuosa. Brevemente, la mezcla de reacción estaba compuesta de 50 μl de suero diluido 1/50 y de 10 μmol/l 1-hexadecil-2-[<sup>3</sup>H]acetil-glicero-3-fosfocolina (actividad específica 25 uCi/μmol), disueltos en un volumen total de 0,5 ml de *buffer* fosfato salino (PBS), pH 7,4. El sustrato presente en el medio de reacción constituyó una mezcla entre las especies fría y marcada con tritio. Estos sustratos se encontraban disueltos en sus respectivos solventes, por lo cual fueron sometidos a evaporación secuencial bajo corriente de N<sub>2</sub> para luego ser redisueltos juntos en *buffer* PBS. A continuación, se realizó un paso de sonicación consistente en 1 ciclo de 5 minutos. Se llevó a cabo la incubación de la mezcla de reacción a 37° C durante 5 minutos. Se detuvo la reacción enzimática ubicando los tubos en baño de hielo y adicionando rápidamente 1,5 ml de cloroformo y se agitó vigorosamente. Posteriormente, se agregaron 0,5 ml de solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se agitó nuevamente. Fueron centrifugados los tubos a baja velocidad durante 15 minutos, luego se recuperó la fase acuosa y se la lavó dos veces con cloroformo utilizando los pasos de agitación y centrifugación en ambos casos. Finalmente, se midió la radioactividad de la fase acuosa de cada muestra y de los blancos en un contador de centelleo líquido (Packard 210 TR; Packard Instruments, Meridians, CT, EE.UU.). También se midió la radioactividad del *buffer* sustrato. Se expresaron los resultados como μmol de factor activador de plaquetas liberado por mililitro de suero por hora de reacción. Todas las muestras fueron procesadas en el mismo ensayo. El CV intraensayo fue 5,1%.

**Tabla 3:** Perfil de lípidos, lipoproteínas y apolipoproteínas de los pacientes con enfermedad celíaca y los sujetos controles.

Variable	Pacientes (n = 14)	Controles (n =14)	P
TG (mg/dl)	81 (65-112)	61 (55-91)	0,09
CT (mg/dl)	194 ± 26	199 ± 43	ns
C-VLDL (mg/dl)	15 ± 6	17 ± 7	ns
C-LDL (mg/dl)	142 (112-150)	105 (90-147)	ns
C-HDL (mg/dl)	50 ± 14	62 ± 16	<0,05
C-no-HDL (mg/dl)	153 (130-167)	137 (112-171)	ns
Apo A-I (mg/dl)	141 ± 31	161 ± 29	ns
Apo B (mg/dl)	88,2 ± 19,5	84,8 ± 22,1	ns
TG/C-HDL	1,83 (1,13-2,87)	1,23 (0,98-1,54)	<0,05
CT/C-HDL	4,17 ± 1,18	3,28 ± 0,67	<0,05
C-VLDL/TG	0,14 ± 0,10	0,25 ± 0,13	<0,05
C-LDL/apo B	1,39 ± 0,11	1,45 ± 0,2	ns
apo B/apo A-I	0,65 ± 0,18	0,54 ± 0,16	ns
C-HDL/apo A-I	0,36 ± 0,07	0,39 ± 0,06	ns

TG, triglicéridos; C, colesterol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad; apo, apolipoproteína; ns, no significativo. Los resultados se expresan como media ± D.E. o mediana (rango intercuartilo) acorde a la distribución paramétrica o no paramétrica de las variables, respectivamente.

### Análisis estadístico

El tamaño muestral para obtener diferencias estadísticamente significativas y potencia de 80% no debió ser inferior a 12 pacientes. Se analizó la distribución de los datos mediante el test de Shapiro-Wilks y los mismos fueron expresados como media±desvío estándar si la distribución era paramétrica o como mediana (rango intercuartil) en el caso de distribución no paramétrica. Para evaluar diferencias entre grupos, se empleó el test T de *student* para las variables paramétricas y el test U de Mann-Whitney para aquellas variables con distribución no paramétrica. Los tests fueron considerados significativos con un  $p < 0,05$  en la situación bilateral (2 colas). Para la realización del análisis estadístico, se utilizó el programa Infostat (Universidad Nacional de Córdoba) y el software SPSS 17.0 (IBM, Chicago, EE.UU.).

### RESULTADOS

En este estudio fueron evaluados pacientes con EC recién diagnosticada en comparación con controles sanos pareados por sexo y edad. Los grupos no se diferenciaron en el índice de masa corporal, ni en la concentración de glucosa. No obstante, los pacientes con EC presentaron niveles plasmáticos de insulina e índice HOMA-IR significativamente más elevados, e índice QUICKI significativamente menor que los controles (Tabla 1). A su vez, la uremia se encontró disminuida y la actividad de ASAT aumentada en los pacientes con respecto a los controles.

La evaluación de distintos parámetros hematológicos evidenció una tendencia hacia valores menores de los niveles de hemoglobina y disminución significativa de la concentración de ácido fólico en los pacientes; el 50% de ellos presentó diagnóstico de anemia, lo cual es frecuente en la EC (Tabla 2).

En relación al perfil de lípidos y lipoproteínas, se observó una tendencia hacia mayores niveles de triglicéridos y una disminución significativa de la concentración de C-HDL en los pacientes (Tabla 3). A partir de los parámetros lipoproteicos evaluados, se calcularon distintos índices. De esta manera, el cociente triglicéridos/C-HDL, propuesto como indicador de resistencia insulínica y de la proporción de partículas de LDL pequeñas y densas estaba aumentado en los pacientes con EC. El índice C-VLDL/triglicéridos mostró valores menores en el grupo de pacientes, lo cual es sugestivo de presencia de partículas de VLDL atípicas por estar muy enriquecidas en triglicéridos, y el índice de riesgo aterogénico colesterol total/C-HDL resultó ser mayor en los pacientes que en los controles. A su vez, la actividad de la CETP fue mayor, aunque de manera no significativa, en el grupo de pacientes con EC (135,0%/ml.h vs. 114,8%/ml.h;  $p=0,06$ ; respectivamente).

La evaluación de los marcadores de inflamación mostró un incremento en los niveles de PCRus de los pacientes con EC y valores similares de actividad de Lp-PLA<sub>2</sub> en ambos grupos, la cual es considerada un marcador específico de

inflamación vascular (Fig. 1).

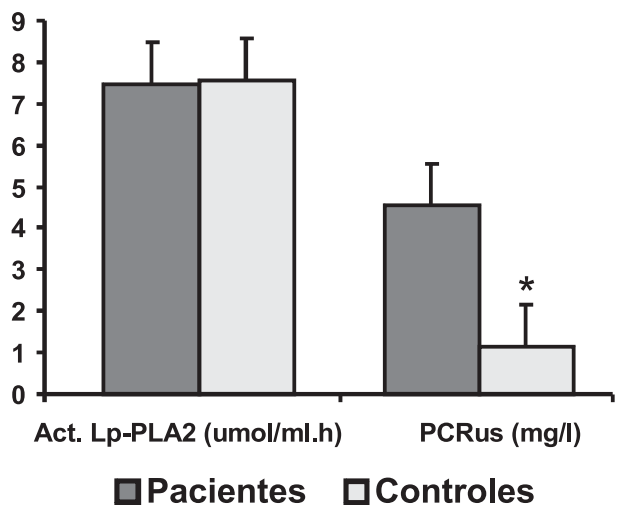
La comparación efectuada entre pacientes con sintomatología típica y atípica sólo permitió detectar niveles plasmáticos de apo A-I 28% más bajos ( $128\pm 11$  vs.  $178\pm 28$  mg/dl;  $p<0,01$ ; respectivamente), aumento del cociente apo B / apo A-I ( $0,69\pm 0,12$  vs.  $0,47\pm 0,12$ ;  $p<0,05$ ; respectivamente) y una actividad de la Lp-PLA<sub>2</sub> 28% mayor ( $7,9\pm 0,9$  umol/ml.h vs.  $6,15\pm 0,7$  umol/ml.h;  $p<0,05$ ; respectivamente), sin observarse diferencias en los otros parámetros bioquímicos evaluados.

### DISCUSIÓN

Los pacientes con diagnóstico de EC evaluados en este estudio en comparación con controles sanos pareados por sexo y edad presentaron alteración del metabolismo de los hidratos de carbono, un perfil de lípidos y lipoproteínas más aterogénico, y aumento del marcador de inflamación PCRus. Más aún, al subclasificar a los pacientes, aquellos con presentación típica mostraron evidencias de mayor riesgo aterogénico y de inflamación vascular específica que los pacientes con presentación extradigestiva.

Si bien en los pacientes los niveles de insulina y los índice HOMA-IR y triglicéridos/C-HDL se encontraban aumentados, así como el índice QUICKI disminuido, el análisis de los valores absolutos no permite efectuar el diagnóstico de un estado de resistencia insulínica franco empleando los valores de referencia obtenidos a partir del estudio de poblaciones generales y de pacientes con síndrome metabólico o con diabetes tipo 2<sup>12-15</sup>. No obstante, de acuerdo con nuestro conocimiento, aún no se ha descrito la causa de esta modificación en el metabolismo de los hidratos de carbono en individuos con EC.

**Figura 1.** Marcadores de inflamación de los pacientes con enfermedad celíaca y los sujetos controles: fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA<sub>2</sub>) y proteína C reactiva ultrasensible (PCRus).



Act., actividad. \*  $p<0,05$ .

En relación al perfil lipoproteico, los pacientes con EC mostraron una tendencia hacia niveles mayores de triglicéridos, aunque comprendidos dentro de los valores de referencia, y una disminución de la concentración de C-HDL, lipoproteína ateroprotectora por excelencia<sup>16</sup>. Este perfil más aterogénico es compatible con la propensión al incremento observado en la actividad de CETP, la cual es responsable de intercambiar triglicéridos y colesterol esterificado entre lipoproteínas con apo B y HDL<sup>10,17</sup>, acción que favorecería el enriquecimiento en triglicéridos de la VLDL, sugerido, a su vez en este estudio, por el menor índice C-VLDL/triglicéridos. Más aún, existe también relación entre el aumento de la insulinemia y la actividad de CETP<sup>18</sup>. Por otro lado, distintos autores han sugerido presencia de hipocolesterolemia en pacientes con EC no tratada<sup>19-24</sup>, aunque el tema resulta controvertido por los valores de corte empleados y el hecho de incluir niños en las poblaciones estudiadas. De hecho, trabajos como los de Brar y col.<sup>25</sup>, Lewis y col.<sup>5</sup> y Capristo y col.<sup>26</sup> reportaron cifras de colesterol total y C-LDL normales para la población general.

Por otro lado, un estado proinflamatorio a nivel sistémico fue evidenciado a través de un aumento significativo de los niveles plasmáticos de PCRus. De acuerdo con las Guías de la *American Heart Association*<sup>27</sup>, valores por encima de 3 mg/l, como los observados en los pacientes con EC estudiados, serían indicativos de riesgo cardiovascular elevado.

Un aumento del riesgo de desarrollo de aterosclerosis, actualmente concebida como una enfermedad inflamatoria crónica<sup>7</sup>, en pacientes con EC explicaría la asociación de esta patología con mayor ocurrencia de eventos cardiovasculares<sup>6,28</sup>.

En relación al otro marcador de inflamación evaluado, la Lp-PLA<sub>2</sub>, no se observaron diferencias entre pacientes y controles. No obstante, resulta de interés destacar que la actividad de esta enzima, considerada indicador específico de inflamación vascular, se halló incrementada en los pacientes con presentación típica, cuya sintomatología predominante es digestiva<sup>2</sup>. Además, este subgrupo de pacientes mostró niveles plasmáticos de apo A-I más bajos que aquellos con presentación atípica, siendo esta la apoproteína mayoritaria de las HDL y responsable del mantenimiento de su estructura y de varias de sus funciones antiaterogénicas<sup>29</sup>. Esta disminución sería atribuible a una menor síntesis y secreción debido a la alteración de la mucosa intestinal, dado que junto con el hígado, el intestino constituye la principal fuente de apo A-I<sup>30</sup>. Consecuentemente, los pacientes con presentación típica mostraron mayor índice apo B/apo A-I que, de acuerdo con el estudio INTERHEART, posee elevado valor pronóstico de enfermedad cardiovascular<sup>31</sup>.

Si bien las conclusiones de los estudios efectuados en modelos animales no son completamente extrapolables a los seres humanos, resulta de interés tener en cuenta el trabajo de Soares y col.<sup>32</sup> quienes reportaron que la dieta libre de gluten, único tratamiento indicado para todo paciente con EC, mejoraría la adiposidad, la inflamación y la sensibi-

lidad a la insulina a través de una mayor expresión de los receptores endonucleares PPAR- y PPAR- . Por otro lado, la inducción de los receptores PPAR- se asocia a mayor expresión de la enzima lipoproteína lipasa, responsable de degradar triglicéridos de quilomicrones y VLDL, y a mayor síntesis de apo A-I<sup>33</sup>. Sobre la base de las alteraciones anteriormente descriptas, se puede deducir que estos efectos resultarían altamente beneficiosos para los pacientes con EC.

De acuerdo con los resultados mostrados en el presente trabajo, los pacientes con EC presentarían modificaciones a nivel del metabolismo de los hidratos de carbono y de las lipoproteínas, así como un estado proinflamatorio. A pesar de que las alteraciones descriptas no sean de magnitud muy elevada, su interacción y presencia a lo largo de períodos de tiempo prolongados en una condición patológica crónica como la EC constituirían un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

## AGRADECIMIENTOS

Martín Menafrá es becario estímulo de la Universidad de Buenos Aires y Tomás Meroño es becario doctoral de CONICET. La Dr. María Dolores Matoso es becaria estímulo de la Fundación Florencio Fiorini y parte de los fondos fueron destinados a la compra de reactivos e insumos. Este trabajo fue realizado con subsidios de la Universidad de Buenos Aires (UBACYT CB-23 2012- 2015) y PIP 0931 y PIP 11220110100516 (CONICET).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Tack, G.J., Verbeek, W.H., Schreurs, M.W. y Mulder, C.J. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010; 7: 204-13.
- 2 Katz, K.D., Rashtak, S., Lahr, B.D. *et al.* Screening for celiac disease in a North American population: sequential serology and gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol*, 2011; 106: 1333-9.
- 3 Armstrong, M.J., Hegade, V.S. y Robins, G. Advances in coeliac disease. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012; 28: 104-12.
- 4 West, J., Logan, R.F., Card, T.R., Smith, C. y Hubbard, R. Risk of vascular disease in adults with diagnosed coeliac disease: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004; 20: 73-9.
- 5 Lewis, N.R., Sanders, D.S., Logan, R.F. *et al.* Cholesterol profile in people with newly diagnosed coeliac disease: a comparison with the general population and changes following treatment. *Br J Nutr*, 2009; 102: 509-13.
- 6 Ludvigsson, J.F., de Faire, U., Ekbom, A. y Montgomery, S.M. Vascular disease in a population-based cohort of individuals hospitalised with coeliac disease. *Heart*, 2007; 93: 1111-5.
- 7 Libby, P., Ridker, P.M. y Hansson, G.K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Na-*



- ture, 2011; 473: 317-25.
- 8 Warnick, G.R., Benderson, J. y Albers, J.J. Dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem*, 1982; 28: 1379-88.
  - 9 Assmann, G., Jabs, H.U., Kohnert, U., Nolte, W. y Schriewer, H. LDL-cholesterol determination in blood serum following precipitation of LDL with polyvinylsulfate. *Clin Chim Acta*, 1984; 140: 77-83.
  - 10 Lagrost, L., Gandjini, H., Athias, A. *et al.* Influence of plasma cholesteryl ester transfer activity on the LDL and HDL distribution profiles in normolipidemic subjects. *Arterioscler Thromb*, 1993; 13: 815-25.
  - 11 Blank, M.L., Hall, M.N., Cress, E.A. y Snyder, F. Inactivation of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine by a plasma acetylhydrolase: higher activities in hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983; 113: 666-71.
  - 12 Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985; 28: 412-9.
  - 13 Radziuk, J. Insulin sensitivity and its measurement: structural commonalities among the methods. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 4426-33.
  - 14 Skrha, J., Haas, T., Sindelka, G. *et al.* Comparison of the insulin action parameters from hyperinsulinemic clamps with homeostasis model assessment and QUICKI indexes in subjects with different endocrine disorders. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89: 135-41.
  - 15 McLaughlin, T., Reaven, G., Abbasi, F. *et al.* Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol*, 2005; 96: 399-404.
  - 16 Murphy, A.J., Chin-Dusting, J.P., Sviridov, D. y Woollard, K.J. The anti inflammatory effects of high density lipoproteins. *Curr Med Chem*, 2009; 16: 667-75.
  - 17 Guerin, M., Le Goff, W., Lassel, T.S. *et al.* Atherogenic role of elevated CE transfer from HDL to VLDL(1) and dense LDL in type 2 diabetes: impact of the degree of triglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001; 21: 282-8.
  - 18 Coniglio, R.I., Merono, T., Montiel, H. *et al.* HOMA-IR and non-HDL-C as predictors of high cholesteryl ester transfer protein activity in patients at risk for type 2 diabetes. *Clin Biochem*; 45: 566-70.
  - 19 West, J., Logan, R.F., Hill, P.G. *et al.* Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut*, 2003; 52: 960-5.
  - 20 Vuoristo, M., Tarpila, S. y Miettinen, T.A. Serum lipids and fecal steroids in patients with celiac disease: effects of gluten-free diet and cholestyramine. *Gastroenterology*, 1980; 78: 1518-25.
  - 21 Ciacci, C., Cirillo, M., Giorgetti, G. *et al.* Low plasma cholesterol: a correlate of nondiagnosed celiac disease in adults with hypochromic anemia. *Am J Gastroenterol*, 1999; 94: 1888-91.
  - 22 Ciampolini, M. y Bini, S. Serum lipids in celiac children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1991; 12: 459-60.
  - 23 Bai, D., Brar, P., Holleran, S., Ramakrishnan, R. y Green, P.H. Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men. *Scand J Gastroenterol*, 2005; 40: 183-7.
  - 24 Rosenthal, E., Hoffman, R., Aviram, M. *et al.* Serum lipoprotein profile in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1990; 11: 58-62.
  - 25 Brar, P., Kwon, G.Y., Holleran, S. *et al.* Change in lipid profile in celiac disease: beneficial effect of gluten-free diet. *Am J Med*, 2006; 119: 786-90.
  - 26 Capristo, E., Malandrino, N., Farnetti, S. *et al.* Increased serum high-density lipoprotein-cholesterol concentration in celiac disease after gluten-free diet treatment correlates with body fat stores. *J Clin Gastroenterol*, 2009; 43: 946-9.
  - 27 Pearson, T.A., Mensah, G.A., Alexander, R.W. *et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 2003; 107: 499-511.
  - 28 Wei, L., Spiers, E., Reynolds, N. *et al.* The association between coeliac disease and cardiovascular disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008; 27: 514-9.
  - 29 Gordon, S.M., Hofmann, S., Askew, D.S. y Davidson, W.S. High density lipoprotein: it's not just about lipid transport anymore. *Trends Endocrinol Metab*; 22: 9-15.
  - 30 Floren, C.H. y Alm, P. Defective synthesis of apolipoprotein A-I in jejunal mucosa in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*, 1988; 23: 856-60.
  - 31 Lanas, F., Avezum, A., Bautista, L.E. *et al.* Risk factors for acute myocardial infarction in Latin America: the INTERHEART Latin American study. *Circulation*, 2007; 115: 1067-74.
  - 32 Soares, F.L., de Oliveira Matoso, R., Teixeira, L.G. *et al.* Gluten-free diet reduces adiposity, inflammation and insulin resistance associated with the induction of PPAR-alpha and PPAR-gamma expression. *J Nutr Biochem*, 2012.
  - 33 Fruchart, J.C., Duriez, P. y Staels, B. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 1999; 10: 245-57.