









Original

# Efecto de la dieta libre de gluten sobre los niveles de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en pacientes con enfermedad celíaca

Silvia Ferreira<sup>1</sup>, Jorge Barúja<sup>1</sup>, Jesús Ortiz<sup>2</sup>, José Masi<sup>3</sup>, María Elena Chamorro<sup>3</sup>, María Mercedes Carpinelli<sup>1</sup>, Vivian Giménez<sup>1</sup>, Patricia Langjahr<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Departamento de Inmunología, San Lorenzo, Paraguay.

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas, Hospital de Clínicas, Departamento de Gastroenterología y Endoscopia, San Lorenzo, Paraguay.

<sup>3</sup> Fundación Paraguaya de Celíacos (FUPACEL). Asunción, Paraguay.

## RESUMEN

### Fecha de envío

19/10/21

### Fecha de aprobación

01/12/21

### Palabras claves

enfermedad celíaca, dieta, libre de gluten, inflamación, citoquinas, interferón gamma.

### Autor para

### correspondencia

Correo electrónico:  
plangjahr@gmail.com  
(P. Langjahr)

**Introducción:** La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica autoinmune, con inflamación principal a nivel del intestino delgado, gatillada por la exposición al gluten de la dieta en individuos genéticamente susceptibles. Las citoquinas inflamatorias se encuentran implicadas en la patogénesis de la EC, entre ellas una citoquina relevante es el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ). Los niveles de esta citoquina se encuentran alterados en la EC y se relaciona con daños a la mucosa intestinal. La dieta libre de gluten (DLG) es el único tratamiento efectivo para la EC.

**Objetivo:** Determinar el efecto de una DLG sobre los niveles circulantes de IFN- $\gamma$  en pacientes adultos paraguayos con EC.

**Métodos:** Se incluyeron 40 pacientes con EC, de los cuales 20 no presentaban DLG debido a su diagnóstico reciente y 20 presentaban una DLG. Además, se incluyeron 15 sujetos controles aparentemente sanos.

**Resultados:** Los pacientes con EC sin DLG presentaron niveles séricos de IFN- $\gamma$  aumentados respecto al grupo control. Contrariamente, los pacientes con DLG no presentaron diferencias en los niveles de la citoquina al comparar con el grupo control.

**Conclusión:** Los niveles séricos de la citoquina pro-inflamatoria IFN- $\gamma$  se encontraron elevados en los pacientes adultos con EC sin una DLG en comparación a individuos controles, lo cual aporta información sobre el proceso inflamatorio presente en este grupo de pacientes.

## Effect of gluten-free diet on interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) levels in patients with celiac disease

## ABSTRACT

### Keywords

celiac disease, diet, gluten-free, inflammation, cytokines, interferon gamma.

**Introduction:** Celiac disease (CD) is a chronic autoimmune enteropathy, with inflammation mainly at the small intestine triggered by exposure to dietary gluten in genetically susceptible individuals. Inflammatory cytokines are implicated in the pathogenesis of CD, among them a relevant cytokine is interferon gamma (IFN- $\gamma$ ). Levels of this cytokine are altered in CD and its expression has been linked to intestinal mucosal damage. The gluten-free diet (GFD) is the only effective treatment for CD.

**Aim:** To determine the effect of GFD on circulating levels of IFN- $\gamma$  in adult Paraguayan patients with CD.

**Methods:** 40 patients with CD were included, of which 20 did not present GFD due to recent diagnosis and 20 presented a GFD. In addition, 15 apparently healthy controls were included.

**Results:** Patients with CD without GFD had increased serum IFN- $\gamma$  levels compared to the control group. In contrast, patients with GFD did not show differences in cytokine levels when compared to the control group.

**Conclusion:** Serum levels of the pro-inflammatory cytokine IFN- $\gamma$  were found to be elevated in adult CD patients without a GFD compared to controls, which provides information about the inflammatory process present in this group of patients.

**Corresponding author**

Email:  
plangjahr@gmail.com  
(P. Langjahr)

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica autoinmune, con inflamación principal a nivel del intestino delgado, gatillada por la exposición al gluten de la dieta en individuos genéticamente susceptibles<sup>1</sup>. En los países occidentales, la prevalencia se sitúa entre 0,6% -1%<sup>2</sup>.

La digestión incompleta del gluten genera fragmentos de gliadina que sufren una reacción de desaminación por la enzima transglutaminasa tisular (tTG) y de esa forma son presentados a linfocitos T CD4+ induciendo su activación, proliferación y liberación de citoquinas pro-inflamatorias. Las citoquinas inflamatorias se encuentran implicadas en la patogénesis de la EC, tanto a nivel intestinal como sistémico<sup>3</sup>. En el tejido intestinal inflamado las citoquinas son producidas por los linfocitos T y otras células. Además, en pacientes con EC se encuentran alterados los patrones de citoquinas circulantes con respecto a individuos sanos<sup>4</sup>. Los niveles de citoquinas circulantes alterados pueden llevar a manifestaciones extra-intestinales en la EC<sup>5,6</sup>.

La respuesta inmune de tipo TH1 característica de la EC da lugar a la producción de la citoquina interferón gamma (IFN- $\gamma$ )<sup>7</sup>. En un estudio que evaluó el perfil de citoquinas en la mucosa duodenal, se observó que los niveles de ARN mensajero de IFN- $\gamma$  en la EC activa se encuentran elevados respecto a controles sanos, EC inactiva y EC refractaria<sup>8</sup>. Además, al realizar análisis del transcriptoma de muestras de biopsia intestinal de pacientes con EC, se determinó que el IFN- $\gamma$  puede diferenciar con claridad entre pacientes celíacos e individuos sin la patología<sup>9</sup>. En pacientes celíacos sin y con deficiencia selectiva de IgA, se detectaron niveles séricos elevados de IFN- $\gamma$  respecto a controles sanos, lo que podría ser útil en el diagnóstico en estos casos, debido a los falsos negativos de las pruebas serológicas basados en IgA que se presentan en pacientes con deficiencia de IgA<sup>10</sup>.

Los niveles séricos de citoquinas pro-inflamatorias, entre ellos IFN- $\gamma$ , se correlacionan con la densidad de linfocitos T regulatorios (Tregs) FOXP3+ en la lámina propia de la mucosa del intestino delgado, sugiriendo el papel de estas citoquinas en el mantenimiento periférico de las Tregs FOXP3+<sup>11</sup>.

El único tratamiento efectivo de la EC es una dieta libre de gluten (DLG) estricta de por vida. La DLG resuelve los síntomas, mejora las lesiones histológicas y la calidad de vida, y previene las complicaciones asociadas a la patología, en la mayoría de los pacientes<sup>2</sup>.

En niños con EC activa (sin DLG), que presentaban niveles séricos elevados de citoquinas inflamatorias y anti-inflamatorias respecto a controles sanos, posterior a una DLG los niveles de citoquinas se normalizaron casi en su totalidad<sup>4</sup>.

En individuos con EC tratada con DLG y sometidos a un desafío de consumo de gluten a corto plazo, se demostró un aumento significativo del número de células periféricas productoras de IFN- $\gamma$ <sup>12</sup>. Además, frente al desafío con gluten en pacientes con EC se detectaron elevaciones tempranas de interleuquina (IL)-2, IL-17, IL-22, IL-8 e IFN- $\gamma$ , lo cual implica una activación rápida de los linfocitos T productores de citoquinas<sup>13,14</sup>.

Escasos estudios han evaluado los niveles de esta citoquina inflamatoria en pacientes adultos<sup>15</sup>. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de una DLG sobre los niveles circulantes de IFN- $\gamma$  en pacientes adultos paraguayos con EC.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes y controles

El presente estudio corresponde a un diseño observacional descriptivo con componente analítico, transversal. Se incluyeron pacientes adultos (con 18 años cumplidos o mayor), de ambos sexos, con diagnóstico de EC realizado por un gastroenterólogo siguiendo criterios clínicos, serológicos e histológicos, provenientes de distintos centros hospitalarios y reclutados con la colaboración de la Fundación Paraguaya de Celíacos (FUPACEL). De ellos, 20 eran pacientes celíacos sin DLG y 20 pacientes celíacos con DLG. Estos últimos presentaron un mínimo de 6 meses de duración de la dieta y manifestaron realizar la dieta en forma correcta y recibir asesoramiento nutricional por un nutricionista sobre alimentos certificados libres de gluten. Se excluyeron pacientes con otras enfermedades autoinmunes, deficiencia de IgA total, cáncer o embarazo. Además, se incluyó un grupo de 15 individuos controles aparentemente sanos. Los criterios de inclusión para controles fueron: adultos (con 18 años cumplidos), de ambos sexos, que refirieron no presentar enfermedad y una dieta normal incluyendo gluten. Todos los participantes incluidos recibieron información sobre el estudio y firmaron un consentimiento informado

Se realizó un cuestionario a todos los participantes incluidos en el estudio, con el fin de recoger información sobre sus características clínicas y demográficas. Se obtuvieron muestras de suero de los pacientes y controles, las cuales se conservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del análisis.

El trabajo contó con la aprobación del Comité Científico y de Ética del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción (UNA) y del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Químicas, UNA.

### Determinación de IgA anti-transglutaminasa

Los niveles séricos de anticuerpos IgA anti-tTG se determinaron utilizando el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) en pacientes celíacos (AESKULISA, Wendelsheim), según las instrucciones del fabricante. Los niveles séricos de anticuerpos IgA anti-tTG se clasificaron en positivos ( $>18\text{ U/mL}$ ), indeterminados ( $12\text{--}18\text{ U/mL}$ ) y negativos ( $<12\text{ U/mL}$ ), de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

### Determinación de IFN- $\gamma$

La cuantificación de la citoquina IFN- $\gamma$  en suero se

realizó mediante el método de ELISA (DuoSet ELISA, R&D Systems), de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism 8, calculando la mediana, IC95%. Para determinar la distribución de las variables se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov y para establecer si existen diferencias entre los niveles séricos de IFN- $\gamma$  de pacientes y controles, se aplicó la prueba de Mann-Whitney.

El cálculo de correlación entre los niveles de IFN- $\gamma$  y los de anticuerpo IgA anti-t(TG) se realizó utilizando la prueba de Spearman. En todos los análisis se consideró estadísticamente significativo  $p<0,05$ .

## RESULTADOS

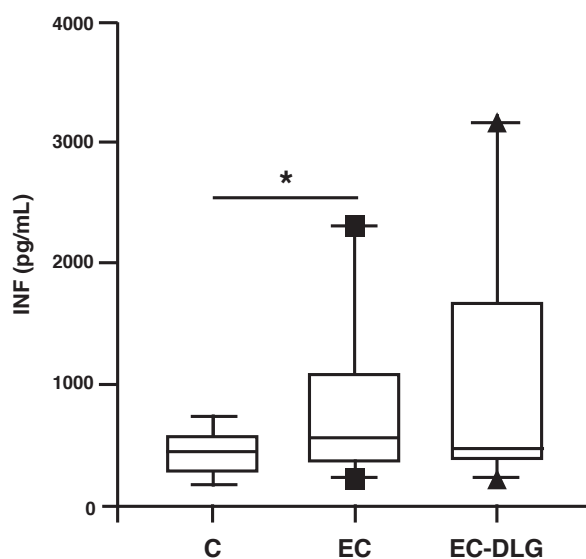
Se incluyeron 40 pacientes con EC, de los cuales 20 no presentaban DLG debido a su diagnóstico reciente (EC activa) y 20 presentaban una DLG de mínimo 6 meses de duración. Además, se incluyeron 15 sujetos controles aparentemente sanos. Las características demográficas y laboratoriales de los sujetos de estudio se representan en la Tabla 1. En los pacientes analizados se observó un predominio del sexo femenino. Respecto a la edad, los pacientes recién diagnosticados presentaron una edad promedio de 36,05 años, con un rango comprendido entre los 19 y 65 años.

A fin de determinar el efecto de la DLG sobre los niveles séricos de la citoquina inflamatoria IFN- $\gamma$ , se cuantificó la citoquina en los grupos de pacientes con EC que presentaban o no DLG, así como en el grupo control.

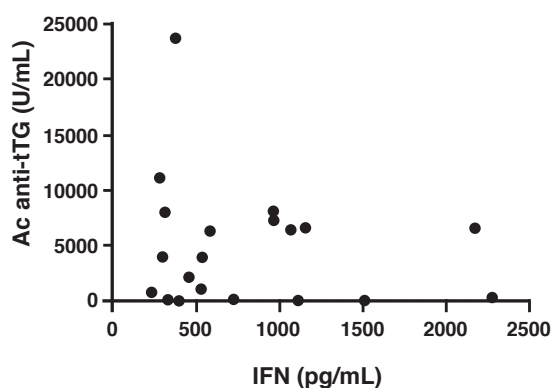
Tabla 1 Características de los sujetos de estudio.

	C (n=15)	EC	EC-DLG
<b>Edad, años</b>			
- (promedio $\pm$ DE)	35,93 $\pm$ 14,47	36,05 $\pm$ 12,96	37,95 $\pm$ 16,04
<b>Sexo, n (%)</b>			
- Femenino	11 (73,33)	15 (75)	16 (80)
- Masculino	4 (26,67)	5 (25)	4 (20)
<b>Ac IgA anti-tTG, n (%)</b>			
- Negativo	15 (100)	-	15 (75)
- Positivo	-	20 (100)	-
- Indeterminado	-	-	5 (25)
<b>Duración de la DLG, n (%)</b>			
- 0,5-1 año	-	-	2 (10)
- >1 año	-	-	18 (90)

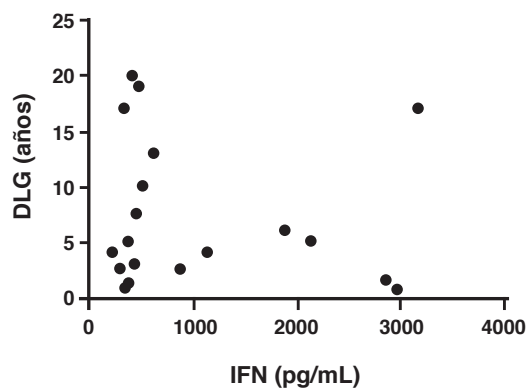
C: control, EC: Enfermedad celíaca, EC-DLG: Enfermedad celíaca y dieta libre de gluten, Ac anti-tTG: anticuerpo anti transglutaminasa tisular, DLG: dieta libre de gluten, DE: desviación estándar.



**Figura 1** Niveles séricos de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en controles (C) (n=15), pacientes con enfermedad celíaca sin dieta libre de gluten (EC) (n=20), pacientes con enfermedad celíaca con dieta libre de gluten (EC-DLG) (n=20). Test de Mann-Whitney, \* $p=0,0497$ . La línea horizontal representa la mediana de cada grupo.



**Figura 2** Análisis de correlación entre los niveles séricos de IgA anti-transglutaminasa tisular (tTG) con los niveles de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en pacientes celíacos sin dieta libre de gluten (DLG) (n=20). Prueba de correlación de Spearman,  $r=-0,1444$ ,  $p=0,5437$ .



**Figura 3** Análisis de correlación entre los niveles séricos de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y la duración de la dieta libre de gluten (DLG) en años en pacientes con EC (n=20). Prueba de correlación de Spearman,  $r=0,02640$ ,  $p=0,9120$ .

La mediana (IC 95%) de los niveles séricos de IFN- $\gamma$  en pacientes con EC sin y con DLG fue de 562,9 (374,2-1073) pg/mL y 468,8 (374,4-1136) pg/mL, respectivamente, y en el grupo control fue de 449 (270,4-594,3) pg/mL.

Los pacientes con EC sin DLG presentaron niveles séricos de IFN- $\gamma$  aumentados respecto al grupo control ( $p=0,0497$ ) (Figura 1). No se encontró diferencia entre los niveles de IFN- $\gamma$  de los pacientes con EC con DLG y el grupo control ( $p=0,139$ ). Al comparar los niveles de la citoquina de pacientes sin DLG con los de pacientes bajo una DLG (EC tratados), no se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,476$ ).

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentaron niveles de IgA total dentro del rango de referencia. A su vez, todos los pacientes con EC sin DLG presentaron niveles de anticuerpos IgA anti-tTG positivos, con una mediana (IC 95%) de 3986 (324,1-6620) U/mL. Se analizó la relación entre los niveles séricos de IFN- $\gamma$  y los niveles del auto-anticuerpo IgA anti-tTG en los pacientes con EC sin DLG, no encontrándose correlación entre ambos parámetros ( $p=0,5437$ ) (Figura 2).

Además, se analizó la relación entre los niveles séricos de IFN- $\gamma$  y la duración de la dieta en los pacientes tratados con DLG. Se determinó que la duración de la DLG no se correlaciona con los niveles séricos de IFN- $\gamma$  detectados en estos pacientes ( $p=0,9120$ ) (Figura 3).

## DISCUSIÓN

En este estudio se analizaron pacientes paraguayos adultos con EC sin y con DLG. La mayoría de los pacientes con EC fueron del sexo femenino, en concordancia con lo reportado en esta patología<sup>2</sup>.

Se encontraron niveles séricos de IFN- $\gamma$  aumentados en pacientes con EC sin DLG respecto al grupo control. Hasta nuestro conocimiento, ningún estudio previo se enfocó en el análisis del efecto de la DLG sobre los niveles de IFN- $\gamma$  en pacientes latinoamericanos. Este resultado, concuerda con lo reportado en otras poblaciones, tanto en pacientes adultos<sup>16</sup> como en pacientes pediátricos<sup>4</sup>. Un resultado similar también fue reportado en pacientes con EC y deficiencia selectiva de IgA<sup>10</sup>.

Los niveles de IFN- $\gamma$  a nivel intestinal aumentan frente al consumo de gluten<sup>9</sup>. Esto provocaría el aumento a nivel periférico de la citoquina, como se observó en este estudio en los pacientes que se encontraban con-

sumiendo gluten (grupo de pacientes con EC sin DLG). Al analizar los niveles de IFN- $\gamma$  en pacientes tratados con DLG, no se encontró diferencia con los niveles del grupo control.

Estos resultados, en conjunto, muestran que la citoquina se encuentra elevada en los pacientes con enfermedad activa y los pacientes bajo una DLG presentan niveles similares a los del grupo control. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en otro estudio<sup>10</sup>. Sin embargo, en otra población se encontraron valores de la citoquina significativamente elevados en pacientes con DLG respecto al grupo control<sup>16</sup>, lo cual podría deberse al tamaño de muestra o población estudiada diferente con respecto a nuestro estudio. Además, en el grupo de pacientes con DLG se observó mayor dispersión de los valores de IFN- $\gamma$ , de forma similar a otros estudios<sup>4,16</sup>.

A fin de evaluar el efecto del tiempo de duración de la DLG y los niveles séricos de IFN- $\gamma$ , se realizó un análisis de correlación. No se encontró correlación entre ambos parámetros, en concordancia a lo reportado anteriormente<sup>16</sup>.

## CONCLUSIÓN

En conclusión, los niveles séricos de la citoquina pro-inflamatoria IFN- $\gamma$  se encontraron elevados en los pacientes adultos con EC sin tratamiento con una DLG en comparación a individuos controles, lo cual aporta información sobre el efecto de la DLG sobre el proceso inflamatorio en pacientes con EC.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

JB, JO, JM, MECH, MMC, VG: contribuyeron a la adquisición de datos y la interpretación. SF: contribuyó a la adquisición de datos y la interpretación, escritura del manuscrito. PL: concibió y diseñó el estudio, realizó los análisis, escritura del manuscrito. Todos los autores contribuyeron a la revisión y aprobación del manuscrito final.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, et al. Celiac disease: A comprehensive current review. *BMC Med*. 2019;17(1):1–20.
2. Al-toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United Eur Gastroenterol J*. 2019;7(5):583–613.
3. Voisine J, Abadie V. Interplay Between Gluten, HLA, Innate and Adaptive Immunity Orchestrates the Development of Coeliac Disease. *Front Immunol*. 2021;12:1–13.
4. Björck S, Lindehammer SR, Fex M, Agardh D. Serum cytokine pattern in young children with screening detected coeliac disease. *Clin Exp Immunol*. 2015;179(2):230–5.
5. Fabris M, Visentini D, De Re V, Picierno A, Maieron R, Cannizzaro R, et al. Elevated B cell-activating factor of the tumour necrosis factor family in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2007;42(12):1434–9.
6. Romero-Adrián TB, Leal-Montiel J, Fernández G. Celiac disease: Participation of Cytokines and Other Factors in the Immune Response. *J Gastrointest Disord Liver Funct*. 2015;1(1):15–23.
7. Dunne MR, Byrne G, Chirido FG, Feighery C. Coeliac Disease Pathogenesis: The Uncertainties of a Well-Known Immune Mediated Disorder. *Front Immunol*. 2020;11:1–14.
8. Caruso R, Marafini I, Sedda S, Del Vecchio Blanco G, Giuffrida P, Macdonald TT, et al. Analysis of the cytokine profile in the duodenal mucosa of refractory coeliac disease patients. *Clin Sci*. 2014;126(6):451–8.
9. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Söderman J. Celiac disease biomarkers identified by transcriptome analysis of small intestinal biopsies. *Cell Mol Life Sci*. 2018;75(23):4385–401.
10. Cataldo F, Lio D, Marino V, Scola L, Crivello A, Corazza GR, et al. Plasma cytokine profiles in patients with celiac disease and selective IgA deficiency. *Pediatr Allergy Immunol*. 2003;14(4):320–4.
11. Vorobjova T, Tagoma A, Oras A, Alnek K, Kisand K, Talja I, et al. Celiac disease in children, particularly with accompanying type 1 diabetes, is characterized by substantial changes in the blood cytokine balance, which may reflect inflammatory processes in the small intestinal mucosa. *J Immunol Res*. 2019;2019:11–17.
12. Camarca A, Radano G, Di Mase R, Terrone G, Maurano F, Auricchio S, et al. Short wheat challenge is a reproducible in-vivo assay to detect immune response to gluten. *Clin Exp Immunol*. 2012;169(2):129–36.
13. Goel G, Daveson AJM, Hooi CE, Tye-Din JA, Wang S, Szymczak E, et al. Serum cytokines elevated during gluten-mediated cytokine release in coeliac disease. *Clin Exp Immunol*. 2020;199(1):68–78.
14. Tye-Din JA, Skodje GI, Sarna VK, Dzuris JL, Russell AK, Goel G, et al. Cytokine release after gluten ingestion differentiates coeliac disease from self-reported gluten sensitivity. *United Eur Gastroenterol J*. 2020;8(1):108–18.
15. Heydari F, Rostami-Nejad M, Moheb-Alian A, Mollahoseini MH, Rostami K, Pourhoseingholi MA, et al. Serum cytokines profile in treated celiac disease compared with non-celiac gluten sensitivity and control: A marker for differentiation. *J Gastrointest Liver Dis*. 2018;27(3):241–7.
16. Manavalan JS, Hernandez L, Shah JG, Konikkara J, Naiyer AJ, Lee AR, et al. Serum cytokine elevations in celiac disease: Association with disease presentation. *Hum Immunol*. 2010;71(1):50–7.