



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Oribe Bubica, Julieta; Castro Ocampo, Gerardo Enzo; Montañez,
Sergio Gabriel; Pérez Peterlin, Pablo Cesar; Ruiz, Bibiana Beatriz

Niveles de calprotectina fecal en pacientes con anticuerpos anti-transglutaminasa positivos y pacientes con dieta libre de gluten

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 54, núm. 1, 2020, -Marzo, pp. 29-38

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53563408007>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

Niveles de calprotectina fecal en pacientes con anticuerpos anti-transglutaminasa positivos y pacientes con dieta libre de gluten

► Julieta Oribe Bubica^{1a*}, Gerardo Enzo Castro Ocampo^{2b}, Sergio Gabriel Montañez^{3a}, Pablo Cesar Pérez Peterlin^{4c}, Bibiana Beatriz Ruiz^{2a}

¹ Licenciada en Bioquímica.

² Bioquímico/a. Especialista en Bioquímica Clínica área Inmunología.

³ Médico. Especialista en Clínica Médica y Gastroenterología.

⁴ Bioquímico.

^a Hospital Público Descentralizado Dr. Marcial V. Quiroga: Avenida Libertador Gral. San Martín, Oeste, Rivadavia, 5400 San Juan, Argentina.

^b Facultad de Ciencias Químicas y Tecnológicas. Universidad Católica de Cuyo. Av. José Ignacio de la Roza. Oeste. 1516 Rivadavia, 5400 San Juan, Argentina.

^c Laboratorio de análisis clínicos Pérez Navas: Avenida Córdoba, Este, 172, 5400 San Juan, Argentina.

* Autor para correspondencia.

Resumen

La calprotectina fecal se ha afianzado en los últimos años como un marcador útil de las patologías gastrointestinales. El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de calprotectina fecal (CPF), interleuquina-6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCR) en tres grupos de pacientes: con diagnóstico de *novo* de enfermedad celíaca, con diagnóstico previo y dieta libre de gluten (DLG) y un grupo control. Se colectaron muestras de 79 pacientes entre 18 y 65 años. A todos se les determinó CPF, IL-6 y PCR como marcadores de inflamación y anticuerpos anti-transglutaminasa IgA y anti-gliadinas desaminadas IgA e IgG como marcadores serológicos. Se encontraron valores significativamente incrementados de PCR en el grupo de *novo* (124,06 µg/g) comparados con el grupo con DLG (23,61 µg/g) y el grupo control (16,91 µg/g) respectivamente. No se encontraron diferencias entre el grupo con DLG y el negativo (control). Idéntico comportamiento se observó para IL-6 con valores en el grupo de *novo* de 2,39 µg/dL, 1,74 µg/dL en el grupo con DLG y 1,41 µg/dL en el control negativo. No se encontraron diferencias significativas en el análisis de resultados de PCR. Se encontró una excelente sensibilidad (98,0%) y especificidad (96,6%) en la capacidad de la CPF para diferenciar valores de anti-transglutaminasa IgA superiores o inferiores al punto de corte cuando se estimó el índice de Youden. Se podría considerar a la CPF como un posible marcador sensible para indicar inflamación intestinal de manera no invasiva en la enfermedad celíaca.

Palabras clave: Calprotectina fecal; Anticuerpos anti-transglutaminasa; Anticuerpos anti-gliadinas desaminadas; Interleuquina-6

Fecal calprotectin levels in patients with positive anti-transglutaminase antibodies and patients on a gluten free diet

Abstract

The determination of fecal calprotectin has been strengthened in recent years as a useful marker of gastrointestinal pathologies. The objective of this study was to determine the levels of fecal calprotectin (FCP), interleukin-6 (IL-6)

and C-reactive protein (CRP) in three groups of patients: with de novo diagnosis of celiac disease, with previous diagnosis and gluten-free diet (GFD) and a control group. Samples were collected from 79 patients between 18 and 65 years old. In all cases, FCP, IL-6 and RCP were determined as markers of inflammation and anti-transglutaminase IgA and deaminated anti-gliadin IgA and IgG antibodies as serological markers. Significantly more increased FCP values were found in the de novo group (124.06 µg/g) than in the group with DLG (23.61 µg/g) and the control group (16.91 µg/g). No differences were found between the group with GFD and the negative. The same trend was observed for IL-6 with values in the de novo group of 2.39 µg/dL, 1.74 µg/dL in the group with gluten free diet and 1.41 µg/dL in the negative control. No significant differences were found in the analysis of RCP results. Excellent sensitivity (98.0%) and specificity (96.6%) were found in the capability of the FCP to differentiate anti-transglutaminase IgA values higher or lower than the cut-off point when the Youden index was estimated. The FCP could be considered as a possible sensitive marker to indicate intestinal inflammation in a non-invasive manner in celiac disease.

Keywords: *Fecal calprotectin; Anti-transglutaminase IgA; Deaminated anti-gliadin IgA; Interleukin-6*

Níveis de calprotectina fecal em pacientes com anticorpos anti-transglutaminase positivos e pacientes com dieta livre de glúten

Resumo

A calprotectina fecal se consolidou nos últimos anos como um marcador útil das patologias gastrointestinais. O objetivo deste estudo foi determinar os níveis de calprotectina fecal (CPF), interleucina-6 (IL-6) e proteína C-reativa (PCR) em três grupos de pacientes; com diagnóstico de novo de doença celíaca, com diagnóstico prévio e dieta livre de glúten (DLG) e um grupo controle. Foram coletadas amostras de 79 pacientes entre 18 e 65 anos. Em todos os casos CPF, IL-6 e PCR foram determinadas como marcadores de inflamação e anticorpos anti-transglutaminase IgA e anti-gliadinas desaminadas IgA e IgG como marcadores sorológicos. Valores significantemente mais altos de PCR foram detectados no grupo de novo (124,06 µg/g) comparados com o grupo com DLG (23,61 µg/g) e o grupo controle (16,91 µg/g) respectivamente. Não foram encontradas diferenças entre o grupo com DLG e o negativo (controle). O mesmo comportamento foi observado para IL-6 com valores no grupo de novo de 2,39 µg/dL, 1,74 µg/dL no grupo com DLG e 1,41 µg/dL no controle negativo. Na análise de resultados da PCR não foram encontradas diferenças significativas. Foram detectadas uma sensibilidade excelente (98,0%) e especificidade (96,6%) na habilidade da CPF para diferenciar valores de anti-transglutaminase IgA superiores ou inferiores ao ponto de corte quando o índice de Youden foi estimado. Poderia ser considerada a CPF como um possível marcador sensível para identificar inflamação intestinal de forma não invasiva na doença celíaca.

Palavras-chave: *Calprotectina fecal; Anticorpos anti-transglutaminase; Anticorpos anti-gliadinas desaminadas; Interleucina-6*

Introducción

Para arribar al diagnóstico de ciertas enfermedades inflamatorias intestinales y establecer la severidad del cuadro, se recurre rutinariamente a un abordaje invasivo para el paciente mediante la colonoscopía, radiografía de contraste, etc. Debido a la lógica resistencia que genera someterse a prácticas de este tipo, y teniendo en cuenta que entre los pacientes se incluye un porcentaje importante de población pediátrica en estudio, sumando al hecho de que es difícil armonizar los resultados clínicos, endoscópicos e histológicos, se hacía imperativo contar con un marcador que formara parte de una prueba no invasiva y lo más objetiva posible y reproducible para evaluar este tipo de patologías (1). La presencia de múltiples proteínas y enzimas liberadas por

los granulocitos neutrófilos durante el proceso inflamatorio, fue un buen punto de partida para evaluar tales eventos (2). Se descubrió así una proteína que se denominó calprotectina, presente en las heces donde su concentración es muy superior si se la compara con los niveles plasmáticos (aproximadamente unas 6 veces). La misma presenta alta afinidad por el calcio y zinc, lo que aumenta su estabilidad permaneciendo inmodificable hasta 7 días a temperatura ambiente (3). Su actividad inmunológica es antimicrobiana de tipo directo, así como movilizadora y activadora de los leucocitos granulocíticos (especialmente de los neutrófilos) (4).

La determinación de la concentración de la calprotectina fecal se está afianzando en los últimos años como un nuevo marcador útil de las patologías gastrointestinales. Diversos estudios demuestran que exis-

te una asociación entre los niveles de calprotectina y el grado de inflamación, por lo que puede usarse para monitorear la respuesta al tratamiento y predecir el riesgo de recidivas (5).

Otra enfermedad caracterizada por alteraciones histopatológicas en la mucosa del intestino delgado es la enfermedad celíaca (EC), de mecanismo inmune, desencadenada por el gluten y otras prolaminas, que afecta a individuos susceptibles genéticamente caracterizados por la presencia de determinados haplotipos del sistema mayor de histocompatibilidad, concretamente los fenotipos HLA DQ2 y DQ8 (6). La enfermedad celíaca se caracteriza por la presencia en pacientes, con mayor o menor expresión clínica, de anticuerpos contra la enzima transglutaminasa tisular (Ac TGt) y de anticuerpos contra las formas desaminadas de péptidos de la gliadina (fracción tóxica del gluten rica en glutamina) (AGA) (7). Según el consenso de Oslo de 2013, la EC se clasifica en clásica, no clásica, subclásica, asintomática, sintomática y potencial (8). La forma clásica se caracteriza por la presencia de manifestaciones clínicas e histológicas, la no clásica por ausencia de síntomas de malabsorción, la asintomática por la presencia de lesiones histológicas en ausencia de manifestaciones clínicas, la forma sintomática con síntomas clínicamente evidentes gastrointestinales o extraintestinales, la subclínica por la presencia de anticuerpos positivos, en ausencia de lesiones intestinales y manifestaciones clínicas y finalmente la forma potencial se caracteriza por presentar serología positiva pero con biopsia de intestino delgado normal (9).

El objetivo de este trabajo fue determinar el comportamiento de la calprotectina fecal (CPF) e interleuquina-6 (IL-6) en pacientes con serología positiva para el diagnóstico de enfermedad celíaca.

Materiales y Métodos

Población de estudio

El estudio de tipo comparativo se realizó entre el mes de marzo de 2018 y diciembre de 2019. Se incluyeron tres grupos de pacientes adultos entre 18 y 65 años de dos centros de salud, el Hospital Público Descentralizado Dr. Marcial V. Quiroga y el Laboratorio de Análisis Clínicos Pérez Navas.

- Grupo 1. Lo integraron 40 pacientes adultos con resultado positivo (valor de corte mayor de 20 U/mL) *de novo* para transglutaminasa IgA, sin estar sometidos a dieta.
- Grupo 2. Estuvo formado por 17 pacientes adultos sanos y fue considerado como el grupo control.
- Grupo 3. Compuesto por 22 pacientes adultos con diagnóstico previo de enfermedad celíaca que realizaban dieta libre de gluten.

Para la realización del trabajo de investigación se contó con la autorización de la jefatura del Servicio de Laboratorio del Hospital Público Descentralizado Dr. Marcial V. Quiroga y del Laboratorio de Análisis Clínicos Pérez Navas. Además, se dispuso del apoyo del Jefe de Servicio de Gastroenterología y del consentimiento informado de los pacientes que participaron en el estudio.

El trabajo fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación del Hospital Público Descentralizado Dr. Marcial V. Quiroga y por el Comité de Ética de la Universidad Católica de Cuyo.

• Recolección de muestras

Las muestras de sangre se obtuvieron en todos los casos por punción venosa y se recolectaron en tubos de plástico marca Vacutainer de tapa amarilla.

La muestra a utilizar, el suero, se obtuvo por centrifugado de sangre entera.

Las muestras de materia fecal fueron recolectadas por el paciente en recipientes estériles de polivinilo.

En ambos centros la técnica de recolección fue la misma.

Determinación de calprotectina fecal

La calprotectina contenida en una muestra de heces fue liberada con un medio de extracción o *buffer* (proteína estabilizadora y TBS), luego la calprotectina extraída en tubos especiales estandarizados fue analizada por el equipo de ELISA automatizado Alegria (Orgentec, Chicago, EE.UU.) utilizando tiras del *kit* ELISA calprotec pertenecientes a la misma marca.

La determinación se basa en una reacción inmunológica indirecta: la calprotectina obtenida luego de ser extraída de la muestra de materia fecal se une a los anticuerpos que se encuentran adsorbidos en el pocillo de reacción. Después de la incubación a 37 °C el lavado permite quitar el exceso de calprotectina. El paso siguiente consiste en colocar el conjugado que contiene a la enzima que se liga al complejo antígeno-anticuerpo ya formado. Tras la incubación y un segundo ciclo de lavado para eliminar el exceso de conjugado, se adiciona el sustrato de la enzima para generar color durante la incubación. Se incorpora un ácido que detiene la reacción generando un color amarillo. Finalmente se lee en espectrofotómetro a 450 nm.

Determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa IgA (TTA-IgA)

La técnica consiste en una reacción inmunológica indirecta (Orgentec, Alemania): los anticuerpos presentes en el suero del paciente se ligan al antígeno

que se encuentra recubriendo el pocillo de reacción y forman el complejo antígeno-anticuerpo. Se realiza el primer paso de incubación y el primer ciclo de lavado para eliminar el exceso de moléculas no ligadas. Se incorpora el conjugado que contiene la enzima. Ésta se va a unir al complejo antígeno anticuerpo que se formó anteriormente. Se realiza un segundo ciclo de incubación y lavado. Se adiciona el sustrato de la enzima que va a generar hidrólisis y como resultado la obtención de color durante un último ciclo de incubación. Se agrega el ácido para frenar la reacción donde el color que se obtiene es amarillo. Finalmente se lee en el espectrofotómetro a 450 nm.

En el Hospital Marcial Quiroga la técnica se realizó de forma manual, en el Laboratorio Pérez Navas la técnica se encuentra automatizada y se utilizó el equipo Alegria® (Orgentec, Alemania).

Determinación de anticuerpos anti-gliadinas desaminadas IgA e IgG

La técnica se basa en una reacción inmunológica indirecta (Orgentec, Alemania): los anticuerpos presentes en el suero del paciente se ligan al antígeno que se encuentra recubriendo el pocillo de reacción, formando el complejo antígeno-anticuerpo. Se realiza el primer paso de incubación y el primer ciclo de lavado para eliminar el exceso de moléculas no ligadas. Se incorpora el conjugado que contiene la enzima. Ésta se va a unir al complejo antígeno anticuerpo que se formó anteriormente, se realiza un segundo ciclo de incubación y lavado. Se adiciona el sustrato de la enzima que va a generar hidrólisis y, como resultado, la obtención de color durante un último ciclo de incubación. Se agrega el ácido para frenar la reacción donde el color que se obtiene es amarillo. Finalmente se lee en el espectrofotómetro a 450 nm.

En el Hospital Marcial Quiroga, la técnica se realizó de forma manual; en el Laboratorio Pérez Navas la técnica se realizó en forma automatizada con el equipo Alegria® (Orgentec, Alemania).

Determinación de IL-6

La IL-6 participa en la inducción de proteínas de fase aguda y en la inducción de fiebre.

La reacción se realizó con un *kit* de ELISA *home*, (BD Biosciences, Nueva Jersey, EE.UU.) (valor de corte 3,2 pg/mL) donde se debe efectuar en un primer paso la sensibilización de los pocillos de la placa con el antígeno de captura. Se diluye el mismo en *buffer coating* (NaHCO_3 y Na_2CO_3), se logra un pH de 9,5. Se deja reposar durante 24 h a 4 °C y el exceso de anticuerpos de captura se elimina con solución de lavado.

El antígeno (IL-6) es captado por el anticuerpo de captura formando el complejo antígeno-anticuerpo. Se

realiza el primer paso de incubación y el primer ciclo de lavado para eliminar el exceso de moléculas no ligadas. Se incorpora el conjugado que contiene la enzima uniéndose al complejo formado anteriormente. Se incuba luego a temperatura ambiente y se elimina el exceso mediante sucesivos lavados. Se adiciona el sustrato de la enzima que va a generar hidrólisis de la misma y como resultado se verifica la obtención de color durante un último ciclo de incubación. Se agrega el ácido para frenar la reacción donde el color que se obtiene es amarillo. Finalmente se lee en el espectrofotómetro a 450 nm.

En ambos centros la técnica se realizó de forma manual.

Determinación de IgA sérica total

La IgA constituye el 13% de las inmunoglobulinas plasmáticas. Es la inmunoglobulina que predomina en secreciones corporales tales como el calostro, la saliva y el sudor. La IgA secretada sirve de defensa contra infecciones locales y juega un papel importante en la fijación de抗ígenos provenientes de alimentos en el intestino.

Concentraciones elevadas de IgA policlonal se observan en hepatopatías crónicas, infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico), en la sarcoidosis y el síndrome de Wiscott-Aldrich. La concentración de IgA monoclonal aumenta en los mielomas a IgA.

Principio del *test*: Prueba inmunoturbidimétrica (Roche, Basilea, Suiza).

Los anticuerpos anti-IgA reaccionan con el antígeno de la muestra para formar un complejo antígeno-anticuerpo. La aglutinación resultante se mide turbidimétricamente (autoanalizador COBAS-501 Roche, Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Alemania). Al añadir PEG, la reacción avanza rápidamente hacia el punto final, y se incrementa así la sensibilidad de la prueba y se reduce simultáneamente el riesgo de obtener resultados falsos negativos por muestras que contienen un exceso de antígeno.

Reactivos: soluciones de trabajo R1 tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 200 mmol/L; polietilenglicol al 3,6%; conservante; estabilizadores R2 anticuerpo anti-IgA humana (cabra), dependiente del título; tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 150 mmol/L; conservante R1 está en la posición B y R2 está en la posición C.

En ambos centros se realizó la misma técnica.

Determinación de la proteína C reactiva (PCR)

La PCR es el reactante de fase aguda más sensible y su concentración aumenta muy rápidamente en

procesos inflamatorios. Los complejos de PCR activan la vía clásica del complemento. Se sintetizan en el hígado y se componen de cinco cadenas polipeptídicas idénticas. Son muy útiles para reconocer procesos inflamatorios sistémicos ya sean infecciosos o enfermedades inflamatorias crónicas. El valor de corte utilizado es de hasta 5 mg/L.

Principio del test: prueba inmunoturbidimétrica potenciada con partículas.

La PCR humana se aglutina con las partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-PCR. El precipitado se determinó por turbidimetría con el autoanalizador COBAS 501 (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Alemania).

Reactivos: soluciones de trabajo R1, tampón TRIS con albúmina de suero bovino; conservantes. R2 partículas de látex recubiertas con anticuerpos de ratón

anti-PCR en tampón de glicina, inmunoglobulinas (de ratón); conservante.

En ambos centros se realizó la misma técnica.

Análisis estadístico

Antes de realizar el análisis estadístico de los datos correspondientes, se llevó a cabo el análisis de la existencia de datos aberrantes mediante el *test* de Grubbs.

Se calcularon las medias, la desviación estándar (DE) y el intervalo de confianza (IC) para todos los analitos. Para comparar las medias de las variables de respuesta se realizó un análisis de la varianza (ANOVA). En los casos en que se obtuvo un valor de $p < 0,05$, se realizó el método de comparaciones múltiples, la prueba de Tukey. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico Med Calc.

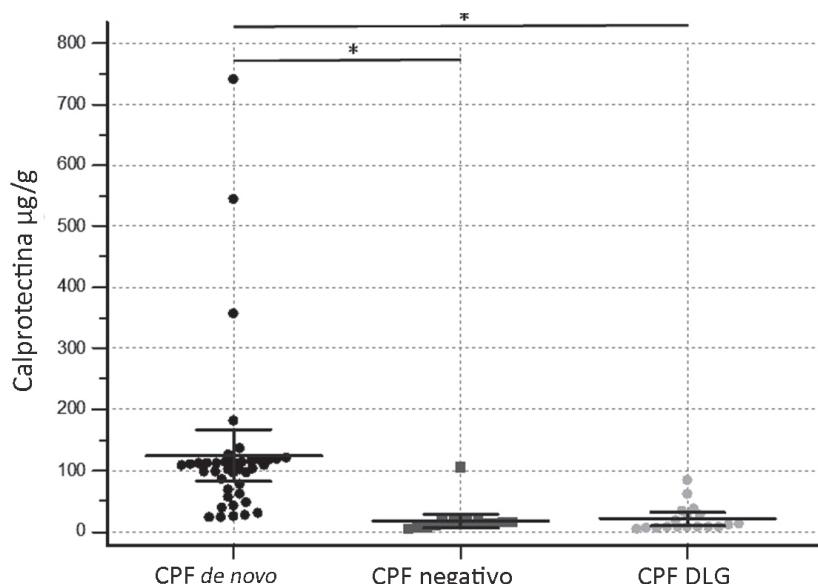


Figura 1. Comparación de medias e intervalo de confianza de calprotectina fecal (CPF) en los tres grupos, con diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el grupo 1 con respecto al grupo 2 y 3.

DLG: dieta libre de gluten

Tabla I. Valores de calprotectina fecal e IL-6 obtenidos en los tres grupos en estudio.

	Calprotectina fecal ($\mu\text{g/dL}$)			IL-6 ($\mu\text{g/dL}$)		
	Grupo 1 (TTA-IgA de novo)	Grupo 2 (control negativo)	Grupo 3 (dieta libre de gluten)	Grupo 1 (TTA-IgA de novo)	Grupo 2 (control negativo)	Grupo 3 (dieta libre de gluten)
n	40	17	22	40	17	22
Media	124,06	16,91	23,61	2,39	1,41	1,74
DE	134,56	28,64	22,65	1,01	0,25	0,18
IC 95%	81,03-167,10	5,26-28,56	10,91-36,31	2,06-2,71	1,28-1,55	1,65-1,82

n = número de pacientes; DE: desviación estándar.

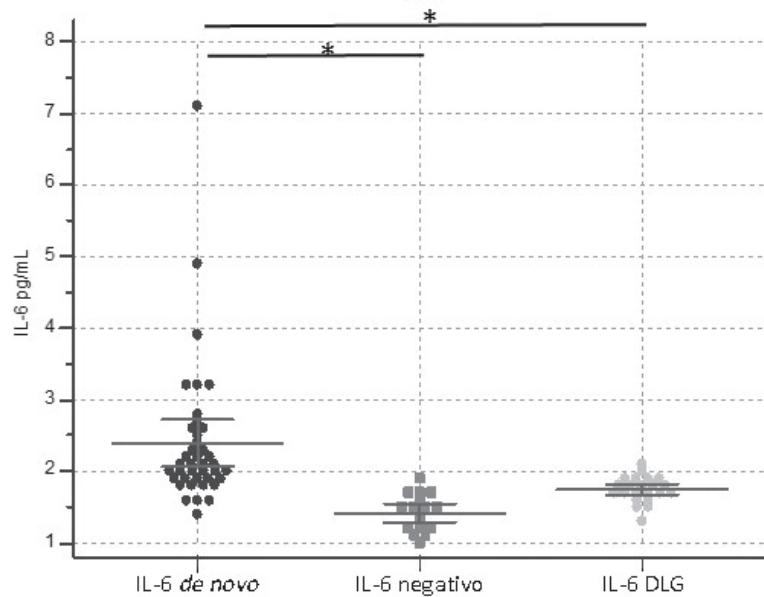


Figura 2. Comparación de medias e intervalo de confianza de IL-6 en los tres grupos, con diferencias significativas ($p<0,0001$) entre el grupo 1 con respecto al grupo 2 y 3.

DLG: dieta libre de gluten.

Resultados

Se estudió un total de 79 pacientes que fueron distribuidos en tres grupos. En la Tabla I se muestra el número de casos, la media, la DE y el IC para calprotectina e IL-6 en cada grupo de estudio.

Al realizar el *test* de Grubbs no se encontraron datos aberrantes.

Para la calprotectina fecal, la comparación entre las medias del grupo de pacientes del grupo *de novo* y las del grupo control y el grupo que realizaba la dieta libre de gluten arrojó diferencias significativas. En cambio no se obtuvieron diferencias significativas al comparar el grupo control con el grupo en tratamiento. En la Figura 1 se observan las diferencias entre los valores de calprotectina fecal para los tres grupos.

Para la IL-6 se compararon las medias de los tres grupos en estudio y no se observaron diferencias significativas entre los grupos 2 y 3 con respecto al grupo 1. El gru-

po control y el grupo de pacientes que realizaban la dieta libre de gluten no presentaron cambios significativos. En la Figura 2 se observa la diferencia entre los valores de IL-6 para los tres grupos.

Para la PCR se comparó la media, la DE y el IC que se obtuvieron en el análisis de los grupos y no se observaron diferencias significativas. En la Figura 3 se observan los valores obtenidos.

En la Tabla II se realizó un análisis de datos de los tres grupos en estudio donde se observa el número de pacientes que incluye cada uno. Además se indica la media, la DE y el IC y para los anticuerpos anti-transglutaminasa (IgA), anticuerpos anti-gliadinas desaminadas (IgA e IgG) en los tres grupos.

Para la determinación de TTA-IgA se realizó la comparación de medias de los grupos, y se observó una marcada diferencia entre los valores del grupo *de novo* con respecto al grupo control y en tratamiento. La comparación entre el grupo 2 y el 3 no presentó diferencias

Tabla II. Valores obtenidos del análisis de anti-transglutaminasa IgA (TTA-IgA) y antigliadinas desaminadas IgA e IgG (DPG-IgG y DPG-IgA) en los tres grupos de estudio.

	TTA-IgA (U/mL)			DPG-IgA (U/mL)			DPG-IgG (U/mL)		
	MEDIA	DE	IC 95%	MEDIA	DE	IC95%	MEDIA	DE	IC95%
Grupo 1 (n=40)	113,45	50,23	100-163,25	37,83	17,74	32,16-43,50	42,82	21,29	36,01-49,62
Grupo 2 (n=17)	2,0	0,90	1,60-2,30	5,38	4,59	3,02-7,74	4,524	3,341	2,80-6,24
Grupo 3 (n=22)	2,90	13,98	1,19-23,50	4,98'	4,25	3,09-6,86	12,39	9,863	8,01-16,76

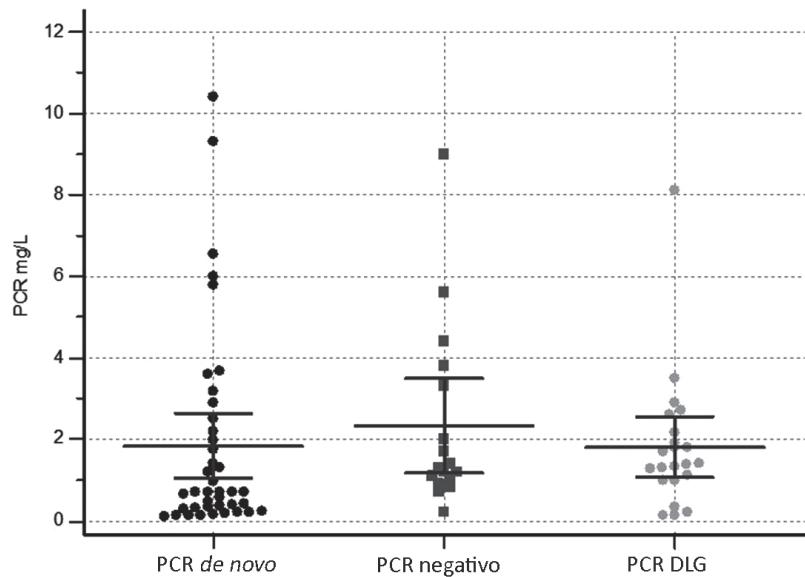


Figura 3. Comparación de medias y desviación estándar para el analito proteína C reactiva (PCR), donde no se observan diferencias significativas ($p<0,1324$) entre los grupos en estudio.
DLG: dieta libre de gluten

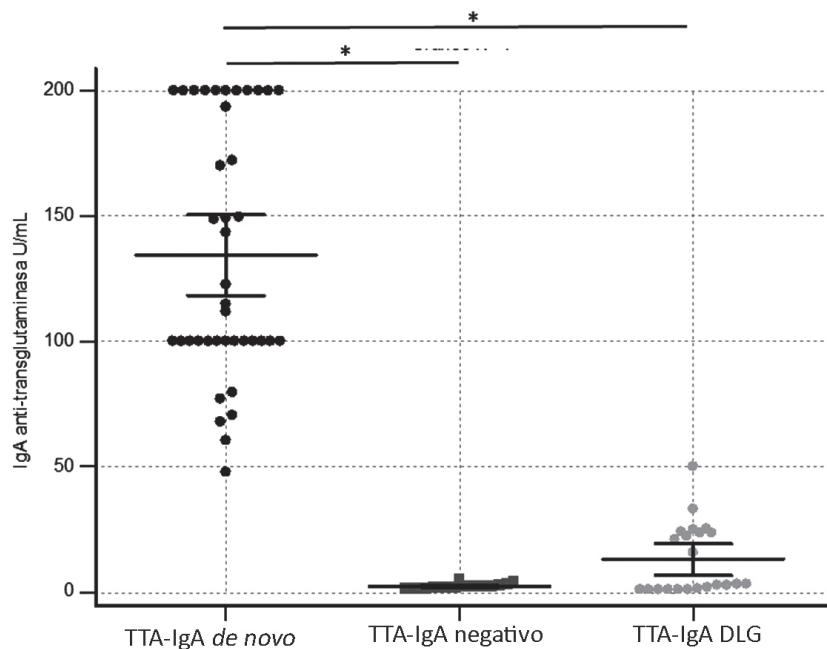


Figura 4. Comparación de medias e intervalo de confianza entre los grupos en cuestión, se observan diferencias significativas entre el grupo 1 con respecto a los grupos 2 y 3.
TTA-IgA: anti-transglutaminasa IgA-DLG: dieta libre de gluten

significativas. En la Figura 4 se observan las diferencias entre los grupos.

Se realizó la determinación de anticuerpos anti-gliadinas desaminadas en IgA e IgG (DPG) para los tres grupos y se obtuvieron diferencias significativas entre

el grupo *de novo* con respecto al grupo control y en tratamiento. En las Figuras 5 y 6 se expresan las variaciones obtenidas entre los grupos.

Se analizó el rendimiento diagnóstico de calprotectina para diferenciar pacientes con valores posi-

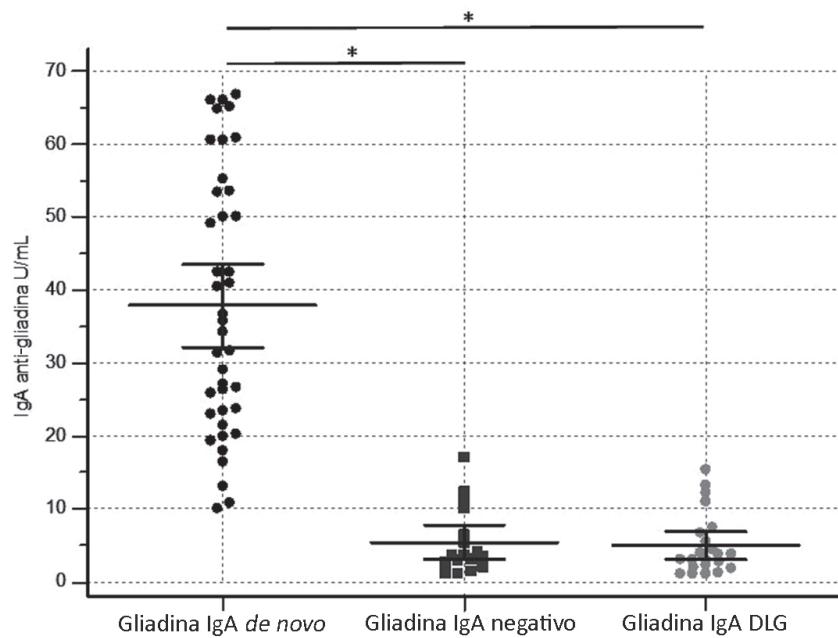


Figura 5. Comparación de medias e intervalo de confianza entre los grupos en estudio. Se observaron diferencias significativas ($p<0,0001$) entre el grupo con determinación de novo con respecto a los grupos negativos y en tratamiento.
DLG: dieta libre de gluten

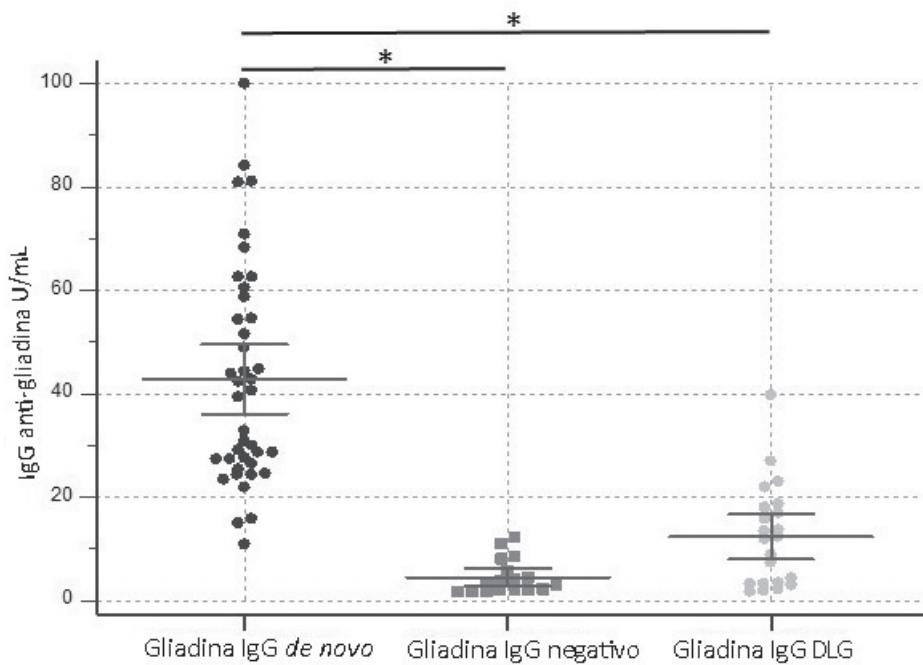


Figura 6. Comparación de medias e intervalo de confianza de Anticuerpos anti Gliadina IgG en los tres grupos, con diferencias significativas ($p<0,0001$) entre el grupo 1 con respecto al grupo 2 y 3.
DLG: dieta libre de gluten

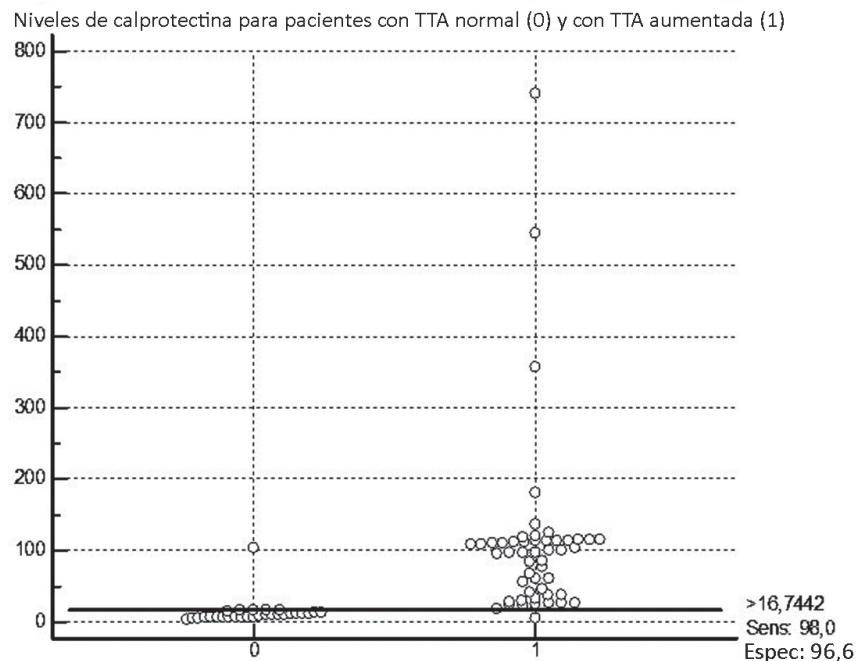


Figura 7. Valores de calprotectina fecal en pacientes con TTA-IgA positivas y negativas.

tivos y negativos de TTA-IgA. Se realizó un gráfico de puntos donde se observa que valores superiores a 16,7 µg/g diferenciaron valores positivos o negativos de TTA-IgA con una sensibilidad del 98% y una especificidad del 96%.

En la Figura 7 se observan estas diferencias.

Discusión y Conclusiones

Al analizar los resultados de calprotectina fecal obtenidos, se observa que los pacientes con anticuerpos anti-transglutaminasa IgA positivos (valor de corte 20 U/mL), mostraron valores bastante más elevados que los pacientes que estaban realizando la dieta libre de gluten y los del grupo control. El grupo 1 (TTA-IgA *de novo*) mostró valores de calprotectina fecal media de 124,06 µg/g, comparado con los valores de media del grupo 2 (control negativo) 16,91 µg/g y del grupo 3 (dieta libre de gluten) 23,61 µg/g que no mostraron diferencias significativas entre sí. En los últimos años ha quedado demostrado que la CPF es útil para la determinación de inflamación a lo largo del tracto gastrointestinal pues indica la migración de neutrófilos a través de la pared intestinal. Es un marcador no específico de enfermedad, aunque valores elevados de CPF (>1.000 ng/dL) son indicativos de enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y una herramienta confiable tanto para el diagnóstico como para el seguimiento.

miento de la misma sin tener que acceder a métodos invasivos (10).

Con respecto a la determinación de IL-6, los resultados obtenidos fueron significativamente variables entre el grupo 1 con respecto a los de los grupos 2 y 3. Estos dos grupos no presentaron diferencias significativas a nivel estadístico. La IL-6 es producida por diversos grupos celulares, donde los principales estímulos para su síntesis y liberación son los procesos inflamatorios e infecciosos. Su acción es dual, tanto proinflamatoria como antiinflamatoria. La IL-6 es la principal citoquina inductora de proteínas inflamatorias de fase aguda.

En el caso de la determinación de PCR no se mostraron cambios estadísticamente significativos entre los grupos de estudio ($p<0,1324$).

No se han realizado estudios similares en adultos, pero sí en niños, donde se observa comportamiento similar de la calprotectina fecal, entre los trabajos publicados y éste.

En uno de los estudios pediátricos publicado por Berni-Canani *et al.* (11), en el que se incluyó un total de 38 niños celíacos, se hallaron cifras elevadas de calprotectina fecal en pacientes recién diagnosticados que presentaron valores elevados de anticuerpos anti-transglutaminasa, que se normalizaban al cabo de 4 semanas de dieta sin gluten.

Ertekin *et al.* encontraron resultados similares (12) en 11 pacientes celíacos de reciente diagnóstico, con cifras de calprotectina significativamente más altas en

los pacientes en contacto con gluten: 13,4 frente a 4,6 µg/g con dieta sin gluten ($p>0,001$).

En 2014 Clemete Yago *et al.* (13) publicaron un trabajo realizado en una población pediátrica donde se llegaron a las mismas conclusiones que los grupos de investigación anteriores. Observaron un comportamiento similar de la calprotectina fecal en pacientes con valores elevados de transglutaminasa IgA, donde se encontró una media de 119,2 frente a pacientes con dieta libre de gluten donde la media fue de 21,5.

Además de la determinación de TTA-IgA, se realizó la determinación de anticuerpos anti-gliadinas desminadas, y se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos.

Al analizar el rendimiento de la calprotectina fecal diferenciando valores positivos y negativos de TTA-IgA se encontró una excelente sensibilidad y especificidad. Sin embargo, a partir de este resultado no se puede arribar a conclusiones determinantes en cuanto al rendimiento diagnóstico de la calprotectina fecal, ya que en este trabajo no se incluyeron pacientes con otro tipo de enfermedades inflamatorias intestinales, situaciones en las cuales se podrían esperar valores incrementados.

Por todo lo observado en este trabajo y la correlación que presenta con trabajos ya publicados se puede establecer que los pacientes con niveles elevados de TTA-IgA, es decir aquellas personas que están en contacto con el gluten, presentan valores elevados de calprotectina fecal con respecto a los pacientes sanos y los pacientes que realizan la dieta libre de gluten.

Se podría considerar a la calprotectina fecal como un posible marcador sensible, pero con baja especificidad para indicar inflamación intestinal de manera no invasiva en la enfermedad celíaca, como así también en pacientes que no realizan de forma correcta la dieta libre de gluten.

Fuente de financiación

Para llevar a cabo el proyecto de investigación se contó con ayuda económica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba y aportes privados.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en el presente trabajo.

Correspondencia

Lic. JULIETA ORIBE BUBICA
Cereceto este 147
5400 SAN JUAN, Argentina
Correo electrónico: julietaoribe@outlook.com

Referencias bibliográficas

- Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Gray ES, Olson S, Golden BE. Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33 (Pt1): 14-22.
- Guerrant RL, Araujo V, Soares E, Kotoff K, Lima AM, Cooper W, *et al.* Measurement of faecal lactoferrin as a marker for faecal leukocytes. *J Clin Microbiol* 1992; 30 (Pt5): 1.238-42.
- Fagerberg UL, Lööf L, Merzoug RD, Hansson LO, Finkel Y. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 468-72.
- Rodrigo L. Calprotectina fecal. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99 (Pt12): 683-88.
- Bonnín T, Vila Vidal M, Rosell A. Calprotectina fecal como marcador entre patología gastrointestinal orgánica y funcional. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99 (Pt2): 689-93.
- Lindorfs K, Ciacchi C, Kurppa K, Lundin KEA, Makharia GK, Mearin ML, *et al.* Coeliac disease. *Nat Rev Dis Primers* 2019 Jan 10; 5 (1): 3.
- Documento de Consenso de Enfermedad Celíaca. Dirección Nacional de Promoción de la Salud y control de Enfermedades Crónicas no Transmisibles. Ministerio de Salud de la Nación, 2017.
- Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, *et al.* The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013; 62 (Pt1): 43-52.
- Cecilio LA, Bonatto MW. The prevalence of HLA DQ2 and DQ8 in patients with celiac disease, in family in and general population. *Arq Bras Cir Dig* 2015; 28 (Pt3): 183-5.
- Van Rhenne PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ* 2010; 341: c3369.
- Canani RB, Rapacciuolo L, Romano MT, Tanturri de Horatio L, Terrin G, Manguso F, *et al.* Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 467-70.
- Ertekin V, Selimoglu MA, Turgut A, Bakan N. Fecal calprotectin concentration in celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 544-6.
- Clemente Yago F, Clemente Bellido F, Manrique Moral O, Pérez Lledó E. Utilidad de la calprotectina fecal en la enfermedad celíaca pediátrica. *Acta Pediatr Esp* 2014; 72 (Pt9): 182-6.

Recibido: 22 de agosto de 2019

Aceptado: 2 de octubre de 2019