

# Estudio preliminar de la prevalencia de anticuerpos antigliadina en pacientes cubanos con ataxia espinocerebelosa tipo 2

Almaguer Mederos LE,<sup>1</sup> Rodríguez Almira Y,<sup>1</sup> Martínes Góngora E,<sup>2</sup> Almaguer Gotay D,<sup>1</sup> González Zaldívar Y,<sup>1</sup> Sánchez Cruz G,<sup>1</sup> Coello Almarales D<sup>1</sup>

## RESUMEN

**Introducción:** La neurología de la sensibilidad al gluten es cada vez más compleja. En particular, ha sido sugerido que la ataxia asociada a la sensibilidad al gluten es una enfermedad distinta, que constituye la causa más frecuente de ataxias idiopáticas. Sin embargo, recientemente ha sido encontrada una prevalencia elevada de sensibilidad al gluten en pacientes con ataxias hereditarias. **Objetivo:** Comprobar si la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2) está asociada a la sensibilidad al gluten. **Sujetos y métodos:** Determinamos la prevalencia de anticuerpos antigliadina (AGA) en 30 pacientes con SCA2 y en 30 controles pareados por sexo y edad. Los resultados de prevalencia obtenidos fueron comparados a través de la prueba chi-cuadrado. Para comparar la severidad de la enfermedad en pacientes AGA+ y AGA- utilizamos la prueba U de Mann-Whitney. **Resultados:** El 23.3% de los pacientes fue AGA+, mientras que esto fue observado sólo en el 6.67% de los controles; se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos ( $\chi^2 = 13.39$ ;  $p < 0.001$ ). Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre los pacientes AGA+ y los AGA- en cuanto a la severidad de la enfermedad. **Conclusión:** Estos resultados sugieren que la presencia de anticuerpos antigliadina en la SCA2 podría ser un epifenómeno, cuya contribución al síndrome clínico necesita ser esclarecida.

**Palabras clave:** gluten, ataxia espinocerebelosa tipo 2, anticuerpos, antigliadina.

Rev Mex Neuroci 2006; 7(1): 76-79

## Preliminary study of the prevalence of antigliadin antibodies in Cuban patients with spinocerebellar ataxia type 2

## ABSTRACT

**Introduction:** Neurology of gluten sensitivity is increasingly complex. In particular, it has been suggested that gluten ataxia is a different disease entity, which represents the more frequent cause of idiopathic ataxias. Nevertheless, recently it has been found an elevated prevalence of gluten sensitivity in hereditary ataxia patients. **Objective:** To test if spinocerebellar ataxia type 2 is associated to gluten sensitivity. **Subjects and Method:** We determined the antigliadin antibodies (AGA) prevalence in 30 SCA2 patients and in 30 matched controls. The obtained prevalence results were compared using the chi-square. In order to compare the severity of the disease in AGA positive and AGA negative patients we used the Mann-Whitney U test. **Results:** 23.3% of patients were AGA positive, whereas this was observed only in the 6.67% of the controls; significant differences between the groups were obtained ( $\chi^2 = 13.39$ ;  $p < 0.001$ ). However, we failed to obtain significant differences in disease severity between AGA positive and AGA negative patients. **Conclusion:** These results suggest that antigliadin antibodies could be an epiphenomenon in SCA2, whose contribution to the clinical syndrome needs to be clarified.

**Key words:** Gluten, spinocerebellar ataxia type 2, antibodies, antigliadin.

Rev Mex Neuroci 2006; 7(1): 76-79

## INTRODUCCIÓN

La sensibilidad al gluten puede ser considerada como "un estado de elevada sensibilidad inmu-

nológica (basada en linfocitos T y B) a las proteínas del gluten ingeridas en individuos genéticamente predispuestos".<sup>1</sup> Se manifiesta con un amplio espectro clínico que incluye la enfermedad celíaca (enteropatía por sensibilidad al gluten), la dermatitis herpetiformis (dermatopatía por sensibilidad al gluten), y la ataxia por sensibilidad al gluten; y se caracteriza por la presencia de niveles elevados de anticuerpos antigliadina (AGA) circulantes.<sup>2,3</sup>

Recientemente fue encontrado que la ataxia por sensibilidad al gluten puede responder por el 12.5% al 41% de los pacientes con ataxias esporádicas

1. Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias "Carlos J. Finlay".

2. Hospital Clínico-Quirúrgico "Celia Sánchez Manduley".

Correspondencia:

Luis Enrique Almaguer Mederos

Carret. Central Km. 5<sup>1/2</sup>, vía La Habana.

Correo electrónico: leam@cristal.hlg.sld.cu.

idiopáticas.<sup>4-6</sup> Sin embargo, también ha sido encontrada sensibilidad al gluten en pacientes con atrofia múltiple sistémica, con la enfermedad de Huntington, o con ataxias hereditarias cuya causa genética es bien conocida. No obstante, esta asociación parece no tener una expresión clínica significativa, por lo que ha sido sugerida la posibilidad de que los AGA en las ataxias esporádicas y hereditarias puedan representar un epifenómeno no directamente vinculado al proceso patogénico.<sup>5,7-9</sup>

Los estudios previos acerca de la prevalencia de anticuerpos antigliadina en pacientes con ataxias hereditarias fueron realizados considerando a las ataxias dominantes como grupo, debido a la discreta representación de variantes moleculares específicas. Por tanto, el objetivo de nuestro estudio fue comprobar si la ataxia espinocerebelosa tipo 2, en particular, está asociada a la sensibilidad al gluten.

## SUJETOS Y MÉTODO

### Sujetos estudiados

Fue realizado un estudio de casos y controles en el que fueron incluidos 30 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de ataxia espinocerebelosa tipo 2, que ingresaron en la Clínica para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH) en el mes de abril del año pasado, y 30 controles sanos pareados por sexo y edad con los pacientes. El grupo de los pacientes estuvo integrado por 20 individuos masculinos y 10 féminas, con una edad que varió entre los 29 y 68 años (media  $\pm$  DE] = 42,1 [ $\pm$  9,85]). Similarmente, 20 individuos masculinos y 10 féminas conformaron el grupo control, con una edad que varió entre los 22 y 78 años (media  $\pm$  DE] = 42,7 [ $\pm$  10,48]).

El diagnóstico de SCA2 estuvo basado en la existencia de una historia familiar positiva, en la presencia de ataxia cerebelosa, disartria, disidiococinesia, disfagia y enlentecimiento de los movimientos oculares, y en la identificación de una secuencia repetitiva de CAG por encima de 31 unidades en el SCA2, como ha sido descrito anteriormente.<sup>10</sup>

### Análisis del ADN y determinación del número de repeticiones de CAG

Fue extraído ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica a través de protocolos estándar.<sup>11</sup> La secuencia repetitiva de CAG fue amplificada por PCR con los primers UH10 y UH13 previamente publicados,<sup>12</sup> utilizando el kit "PureTaq Ready-to-go PCR beads" (Amersham Biosciences). Luego fue determinado el número de repeticiones de CAG a través de un análisis de fragmentos en un aparato ALF Express II (Amersham Biosciences), en comparación con marcadores de pesos moleculares

internos y externos usando el software Allele Links 1.0 software (Amersham Biosciences).

### Examen clínico

Cada individuo fue interrogado en busca de síntomas de compromiso del sistema nervioso central o periférico y posteriormente se le realizó un examen neurológico completo. El examen clínico se realizó teniendo en cuenta los parámetros utilizados en la Clínica Mayo para el examen neurológico. La evaluación de la severidad de la enfermedad fue realizada a través de la determinación de la edad de inicio, definida como el momento a partir del cual el individuo comenzó a manifestar síntomas neurológicos que representaron un cambio permanente en su estado de salud, y a través del puntaje total obtenido con la aplicación de la Escala Cooperativa Internacional para la Evaluación de Ataxia (ICARS).<sup>13</sup> También fue determinada la duración de la enfermedad, entendida como el tiempo transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta el momento en que se realiza el estudio.

### Detección de anticuerpos antigliadina

La detección de anticuerpos antigliadina (AGA) en muestras de suero fue realizada con el uso del kit comercial AutoBioDot Antigliadin Antibodies (Center for Genetics Engineering and Biotechnology, Sancti Spiritus, Cuba), siguiendo las instrucciones del productor.

### Análisis estadístico

Para la descripción de las variables clínicas y moleculares estudiadas se utilizaron la media aritmética y la desviación estándar. Para determinar la normalidad de la distribución de las variables clínicas estudiadas y del número de repeticiones de CAG, se utilizó la prueba W de Shapiro-Wilk. La prevalencia de positividad a AGA (AGA+) en pacientes y controles, fue comparada a través de la prueba  $\chi^2$ . Fue utilizada la prueba U de Mann-Whitney para comparar la edad de inicio, la duración de la enfermedad, el puntaje total para la ICARS, y el número de repeticiones de CAG entre los paciente AGA+ y AGA-.

El protocolo de investigación fue aprobado por el Consejo Científico de nuestra institución, y fue obtenido el consentimiento informado de cada uno de los sujetos incluidos en el estudio.

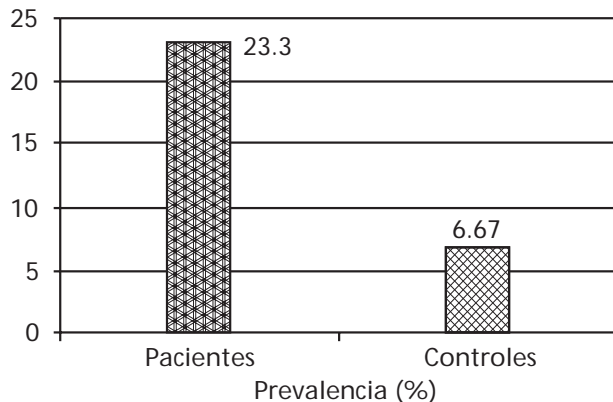
## RESULTADOS

### Descripción de las variables clínicas y moleculares estudiadas

La estadística descriptiva de las variables clínicas estudiadas se muestra en la tabla 1. El número

**Tabla 1**  
**Estadística descriptiva de las variables clínicas estudiadas**

	Edad de inicio (años)				Duración de la enfermedad (años)			ICARS (puntaje total)		
	N	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE
Pacientes	30	14-50	28.9	7.09	1-28	13.2	7.13	6-89	35.1	14.4



**Figura 1.** Prevalencia de anticuerpos antigliadina en pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2 y sujetos controles.

de repeticiones de CAG en el locus SCA2 varió entre 35 y 53 unidades, con una media [ $\pm$  DE] de 40.6 [ $\pm$  3.21]. Debido a que ninguna de las variables estudiadas mostró una distribución normal, utilizamos el coeficiente de correlación por rangos de Spearman para evaluar la asociación entre esta variable y la edad de inicio y el puntaje total para la ICARS. De esto obtuvimos una asociación inversa altamente significativa entre el número de repeticiones de CAG y la edad de inicio de la enfermedad ( $r = -0.61$ ;  $p < 0.001$ ); sin embargo, no encontramos asociación significativa con el puntaje total para la ICARS ( $r = 0.16$ ;  $p = 0.41$ ). Tampoco encontramos asociación significativa entre el puntaje total para la ICARS y la duración de la enfermedad ( $r = 0.21$ ;  $p = 0.26$ ).

#### Prevalencia de anticuerpos antigliadina en pacientes y controles

Fueron detectados anticuerpos antigliadina en 15% de la muestra total estudiada. La prevalencia de estos anticuerpos en pacientes y controles se muestra en la figura 1. La comparación estadística puso en evidencia la existencia de diferencias altamente significativas entre los dos grupos ( $\chi^2 = 13.39$ ;  $p < 0.001$ ).

No encontramos diferencias significativas entre los pacientes AGA+ y AGA-, en cuanto a la edad de inicio ( $28.3 \pm 4.82$  vs.  $29.0 \pm 7.74$ ;  $p = 0.98$ ), la duración de la enfermedad ( $13.9 \pm 9.37$  vs.  $13.0 \pm 6.55$ ;  $p$

$= 0.92$ ), el puntaje total para la ICARS ( $37.7 \pm 3.99$  vs.  $34.3 \pm 16.4$ ;  $p = 0.26$ ), o en cuanto al número de repeticiones de CAG ( $40.9 \pm 2.41$  vs.  $40.5 \pm 3.46$ ;  $p = 0.42$ ).

#### DISCUSIÓN

La ataxia por sensibilidad al gluten ha sido cuestionada como entidad patológica independiente, a partir de la detección de elevados niveles de anticuerpos antigliadina en pacientes afectados por enfermedades neurológicas bien conocidas. Así, Pellecchia *et al.* (2002),<sup>8</sup> reportaron la ocurrencia de elevados niveles de anticuerpos antigliadina en 18.7% de pacientes con atrofia múltiple sistémica, mientras que en un estudio norteamericano fue reportada una prevalencia del 37% en pacientes con ataxias hereditarias;<sup>7</sup> sin embargo, ninguno de estos estudios incluyó un grupo de controles sanos. Para solventar este problema, Abele *et al.* (2003),<sup>5</sup> determinaron la prevalencia de AGA en 95 pacientes atáxicos y en 73 controles sanos, habiendo obtenido que el 8% de los controles, el 19% de los pacientes con ataxia esporádica, el 8% de los pacientes con ataxias recesivas y el 15% de los pacientes con ataxias dominantes fueron AGA+; no existieron diferencias significativas de prevalencia entre estos grupos. Además, Hadjivassiliou *et al.* (2003),<sup>6</sup> reportan una prevalencia de AGA del 32% al 41% en pacientes con ataxia esporádica idiopática que no muestran características clínicas sugestivas de una atrofia múltiple sistémica en su variante cerebelosa (MSA-C); mientras que ésta fue de tan sólo un 14% en pacientes con ataxias hereditarias, muy similar a lo encontrado en los controles (12%). Más recientemente fue reportada una prevalencia de AGA del 44% en pacientes con la enfermedad de Huntington, muy superior a la reportada para la población general de los Estados Unidos,<sup>9</sup> de modo que la controversia continúa.

Aquí, nosotros aportamos nueva evidencia acerca de la asociación entre la sensibilidad al gluten y las ataxias hereditarias. A través del estudio de pacientes afectados específicamente por la ataxia espinocerebelosa tipo 2 (SCA2), demostramos la existencia de una prevalencia de AGA significativamente mayor en estos pacientes (23.3%) en comparación con sujetos sanos (6.67%) (Figura 1). Los valores de prevalencia obtenidos concuerdan con los previamen-

te reportados internacionalmente para pacientes afectados por ataxias hereditarias; además, la prevalencia de AGA en nuestro grupo control (~7%), estuvo en el mismo rango que la reportada por varios extensos estudios poblacionales (del 2 al 12%).<sup>6,14-16</sup> Estos resultados sugieren la existencia de una asociación entre la sensibilidad al gluten y la SCA2.

Otra cuestión es la significación clínica de los AGA en pacientes con enfermedades neurodegenerativas de etiología bien conocida. Al igual que ha sido reportado para la enfermedad de Huntington,<sup>9</sup> nosotros no encontramos diferencias significativas para la edad de inicio ni en cuanto al puntaje total para la ICARS, entre pacientes AGA+ y pacientes AGA-, incluso cuando estos grupos no se diferenciaban significativamente en el número de repeticiones de CAG ni en la duración de la enfermedad. Estos resultados también coinciden con lo reportado por Abele *et al.* (2003)<sup>5</sup> en pacientes con ataxias, y sugieren que la sensibilidad al gluten en pacientes con SCA2 debe ser interpretada como un epifenómeno. Sin embargo, y a pesar de no haber encontrado diferencias significativas en el fenotipo neurológico entre pacientes AGA+ y pacientes AGA-, sentimos que no debe ser descartada la posibilidad de que la presencia de AGA represente un factor agravante de la SCA2, y sugerimos la realización de estudios más extensos para lograr una más cabal comprensión de la significación clínica de la sensibilidad al gluten en pacientes con SCA2.

## REFERENCIAS

1. Marsh MN. The natural history of gluten sensitivity: defining, redefining and re-defining. *Q J Med* 1995; 85: 9-13.
2. Muller AF, Donnelly MT, Smith CM, Grundman MJ, Holmes GK, Toghiani PJ. Neurological complications of celiac disease: a rare but continuing problem. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1430-5.
3. Hadjivassiliou M, Grünewald RA, Chattopadhyay AK, Davies-Jones GAB, Gibson A, Jarratt JA, Kandler RH, Lobo A, Powell T, Smith CML. Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *The Lancet* 1998; 352(9140): 1582-5.
4. Pellecchia MT, Scala R, Filla A, De Michele G, Ciacci C, Barone P. Idiopathic cerebellar ataxia associated with celiac disease: lack of distinctive neurological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 32-5.
5. Abele M, Schols L, Schwartz S, Klockgether T. Prevalence of antigliadin antibodies in ataxia patients. *Neurology* 2003; 60: 1674-5.
6. Hadjivassiliou M, Grünewald RA, Sharrack B, Sanders DS, Lobo A, Williamson C, et al. Gluten ataxia in perspective: epidemiology, genetic susceptibility and clinical characteristics. *Brain* 2003; 126: 685-91.
7. Bushara KO, Goebel SU, Shill H, Goldfarb LG, Hallet M. Gluten sensitivity in sporadic and hereditary cerebellar ataxia. *Ann Neurol* 2001; 49: 540-3.
8. Pellecchia MT, Abrosio G, Salvatore E, Vitale C, De Michele G, Barone P. Possible gluten sensitivity in multiple system atrophy. *Neurology* 2002; 59: 1114-5.
9. Bushara KO, Nance M, Gomez CM. Antigliadin antibodies in Huntington disease. *Neurology* 2004; 62: 132-3.
10. Santos N, Aguiar J, Fernández J, Vázquez M, Auburger J, Gispert S, et al. Diagnóstico molecular de una muestra de la población cubana con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Biotech Apl* 1999; 16(4): 219-22.
11. Kunkel LM, Smith KD, Boyer SM, Borgaonkar DS, Wachtel SS, Miller OS, et al. Analysis of human Y-chromosome-specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc Nat Acad Sci USA* 1977; 74: 1245-9.
12. Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier J-M, et al. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. *Nature Genet* 1996; 14: 285-91.
13. Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, Currier RD, Subramony SH, Wessel K, et al. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci* 1997; 145(2): 205-11.
14. Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magazzu G, Fasano A. Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33(5): 494-8.
15. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(3): 689-92.
16. Shahbazkhani B, Malekzadeh R, Sotoudeh M, Moghadam KF, Farhadi M, Ansari R, et al. High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15(5): 475-8.



www.medigraphic.com