

Proyecto EPIGENCELIAQ. Evolución de marcadores epigenéticos, de inflamación y de permeabilidad intestinal en población celiaca. Influencia de la dieta y el consumo de alimentos (ultra) procesados

Proyecto financiado por la Asociación de Celiacos y Sensibles al Gluten



Dña. Leticia Chivato Martín-Falquina: l.chivato@usp.ceu.es

Dra. Natalia Úbeda: nubeda@ceu.es

Dra. María Achón y Tuñon: achontu@ceu.es

Proyecto EPIGENCELIAQ. Evolución de marcadores epigenéticos, de inflamación y de permeabilidad intestinal en población celiaca. Influencia de la dieta y el consumo de alimentos (ultra) procesados

1. RESUMEN

Título del estudio	Proyecto EPIGENCELIAQ. Evolución de marcadores epigenéticos, de inflamación y de permeabilidad intestinal en población celiaca. Influencia de la dieta y el consumo de alimentos (ultra) procesados.
Tipo de estudio	Observacional de cohorte longitudinal.
Área de investigación	Nutrición y áreas específicas.
Investigadores principales	Dña. Leticia Chivato Martín-Falquina, Dra. Natalia Úbeda y Dra. María Achón y Tuñón.
Investigadores	Grupo de trabajo CEU NUTRIFOOD.
Objetivo principal	Valorar el patrón característico de miARN, como marcador epigenético clave en enfermedad celiaca, relacionándolo con el grado de inflamación y permeabilidad intestinal, y de acuerdo con el tipo de dieta sin gluten llevada a cabo, definida por su alta o baja ingesta de productos ultraprocesados y, específicamente, sin gluten.
Diseño del estudio	Tipo de estudio: Longitudinal y observacional. Selección de muestra: a través de servicios de pediatría y/o digestivo de centros médicos de la Comunidad de Madrid. Periodo de inclusión y seguimiento: El trabajo de campo del estudio tendrá una duración de 12 meses desde la inclusión del último paciente. Durante los primeros 3 meses se incorporarán los pacientes que cumplan los criterios de inclusión.
Población en estudio	En el estudio se incluirán pacientes con enfermedad celiaca, desde el diagnóstico y durante un año, y en comparación con un grupo control de similares características.
Calendario	<i>Fecha prevista de inicio y finalización del estudio:</i> El inicio del estudio está previsto para el primer trimestre del año 2024, una vez se tengan los centros acordados para el reclutamiento de pacientes. El trabajo de campo tendrá una duración de 12 meses desde la inclusión del último paciente, finalizando a mediados del 2025.

2. JUSTIFICACIÓN DE HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

Una dieta sin gluten (DSG) estricta es el único tratamiento para la enfermedad celiaca (EC), una de las enfermedades autoinmunes más frecuentes que afectan a la población infantil y adulta de todo el mundo. Sin embargo, algunos autores han informado de una dieta desequilibrada en términos de macro y micronutrientes debido a una inadecuada elección de alimentos y productos sin gluten. Algunos investigadores afirman que las deficiencias nutricionales de los pacientes con EC pueden deberse a la baja calidad nutricional de los productos sin gluten, los cuales se elaboran con harinas muy refinadas y altas cantidades de grasa y azúcar para conseguir una textura parecida a las propiedades viscoelásticas típicas y únicas aportadas por el trigo. De hecho, artículos recientes concluyen que la formulación de estos productos suele ser rica en azúcares libres, grasas y sal, y con menor contenido en proteína que sus equivalentes con gluten. De acuerdo con la clasificación NOVA, gran parte de los productos sin gluten podría asociarse a alimentos procesados y ultraprocesados con baja densidad nutricional.

La ingesta de alimentos ultraprocesados se relaciona con un aumento en el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles en niños y en adultos, como obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Estas patologías podrían potenciar las comorbilidades asociadas a la celiaquía, dando lugar a un peor pronóstico de la enfermedad. Recientemente, un estudio ha demostrado que los niños con EC que consumían más alimentos ultraprocesados y realizaban menos actividad física presentaban niveles más elevados de estrés oxidativo y de ciertas citoquinas proinflamatorias, independientemente del tiempo de seguimiento de la DSG.

Además, la dieta en general, y los alimentos ultraprocesados en particular, son responsables de modificaciones epigenéticas que pueden regular la expresión de genes y, por ende, modular el riesgo de enfermedad. Así, se sabe que modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN, la modificación química de histonas o los miARN, son comunes en muchas enfermedades, como obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, resistencia a la insulina, cáncer y, más recientemente, también se han estudiado en celiaquía. Estas alteraciones pueden darse en respuesta a una determinada exposición ambiental, lo que ayuda a entender cómo la interacción entre los genes y el ambiente (exposición al gluten) puede contribuir al desarrollo de ciertas enfermedades. Se han detectado diferentes patrones de expresión de ciertas variantes de miARN en biopsias duodenales, en suero y en heces, de pacientes celíacos en comparación con sujetos sanos, lo que puede estar implicado en la patogénesis de la disfunción de la barrera intestinal y sus manifestaciones clínicas: inflamación y atrofia vellositaria. Los miARN son ARN no codificantes cortos (18-22 nucleótidos) que, en el citoplasma celular, regulan la expresión génica a nivel postranscripcional. La complementariedad parcial o total del miARN con el ARN mensajero (ARNm) diana

regula la expresión de los genes diana de forma negativa, lo que conduce a la regulación a la baja o a la represión de la traducción, respectivamente. Por lo tanto, la regulación al alza de un miARN específico conduce generalmente a una menor expresión de su ARNm diana y de la proteína correspondiente, mientras que la regulación a la baja de un miARN específico podría aumentar la expresión de genes/proteínas diana. Además, los miARN pueden actuar como "actores" de la comunicación intercelular transmitiendo su "mensaje" a otras células distantes. Así, se ha observado que en pacientes con EC existe una alteración en algunos miARN que regulan genes implicados en el proceso de inmunidad innata y adquirida, inflamación, diferenciación, proliferación y comunicación celular, etc., siendo todos ellos procesos implicados en la etiopatogenia de la celiaquía.

Hasta la fecha, son pocas las investigaciones que han valorado estas biomoléculas en pacientes con EC que ya siguen una DSG, y las existentes indican que estas moléculas podrían desempeñar un papel importante en la caracterización de la enfermedad y del estado de la mucosa, para el diagnóstico de la EC o como predictores del resultado del seguimiento de la DSG.

Por otro lado, la Dieta Mediterránea (DM) se asocia con menor expresión posprandial de genes que codifican proteínas implicadas en la inflamación, estrés oxidativo y aterogénesis. Una mayor ingesta de ácidos grasos monoinsaturados a través del consumo de aceite de oliva está relacionada con la reducción de la expresión de genes inflamatorios, gracias a la hipermetilación inhibitoria de genes proinflamatorios y de genes de almacenamiento de lípidos. Los ácidos grasos poliinsaturados regulan positivamente la expresión de genes neuropéptidos que modulan la homeostasis de energía mediante la expresión de miRNAs específicos que inhiben genes lipogénicos y oncogénicos.

Por tanto, el patrón de consumo de ciertos alimentos y nutrientes y el tipo de dieta llevada a cabo influye decisivamente en marcadores inflamatorios que tienen relación con determinadas patologías. En el caso de la celiaquía puede ser decisivo para la total recuperación del paciente o, por el contrario, mantener un cierto nivel de autoinmunidad y alteraciones intestinales que no son totalmente revertidas. En base a todo lo anterior, planteamos como hipótesis de trabajo que los miARN pueden ser marcadores biológicos indicativos de la eficacia y la calidad de la dieta seguida por las personas con enfermedad celiaca, así como del estado de la mucosa digestiva. La identificación de distintos patrones de miARN permitiría establecer recomendaciones alimentarias personalizadas.

2.2 Hipótesis general

El seguimiento de una dieta sin gluten (DSG) por parte de la población con enfermedad celiaca (EC) constituye un reto para el cumplimiento de las recomendaciones dietético-nutricionales y el mantenimiento de la salud y, a pesar de una buena adherencia, no

revierte la atrofia vellositaria en un número significativo de personas. El grado de recuperación del estado inflamatorio e inmunológico, así como de la barrera intestinal, puede depender de modificaciones epigenéticas mediadas por el tipo de dieta y el consumo de alimentos ultraprocesados, entre ellos, productos sin gluten. La caracterización de miARN circulantes y del efecto que tienen sobre ellos la dieta sin gluten y los alimentos ultraprocesados, permitiría diseñar dietas personalizadas, normalizando la inflamación y el restableciendo la homeostasis de la barrera intestinal del individuo con EC.

2.3 Objetivos del estudio

El objetivo general de este proyecto es valorar el patrón característico de miARN, como marcador epigenético clave en enfermedad celiaca (EC), relacionándolo con el grado de inflamación y permeabilidad intestinal, y de acuerdo con el tipo de dieta sin gluten (DSG) llevada a cabo, definida por su alta o baja ingesta de productos ultraprocesados y, específicamente, sin gluten (PSG).

Para comprobar nuestra hipótesis, el presente proyecto tiene los siguientes objetivos específicos:

- Caracterizar el patrón de miARN circulantes propio de la población con EC, tanto al diagnóstico, como al final del periodo de seguimiento. Se comparará con un grupo control pareado por edad y sexo.
- Determinar, en los mismos periodos de estudio, marcadores inmunológicos/de inflamación y de permeabilidad intestinal en ambos grupos.
- Evaluar pormenorizadamente la dieta llevada a cabo por los pacientes durante el estudio mediante el análisis mensual de diferentes cuestionarios dietéticos:
 - Un registro dietético de 3 días
 - Un cuestionario de frecuencia de consumo de productos ultraprocesados y productos comercializados sin gluten (PSG)
 - Un cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea.
- Analizar la composición nutricional de la dieta, así como los ingredientes y aditivos de todos los productos procesados consumidos por los voluntarios.
- Comprobar si existe asociación entre los miARN expresados y los distintos biomarcadores analizados, de acuerdo con un patrón de dieta determinado en función del tipo de alimentos y productos consumidos.

3. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

3.1 Criterios de inclusión y exclusión

3.1.1 Criterios de inclusión

Pacientes con EC incluyen diagnóstico médico confirmado de enfermedad celiaca (EC) en el último mes; ausencia de enfermedades asociadas (otras enfermedades autoinmunes, trastornos neurológicos y psiquiátricos y otros síndromes); no embarazo ni lactancia.

En el caso del grupo control, se incluirán aquellas personas sanas que se encuentren en rango de edad de los sujetos con EC. También se irán incluyendo por pareamiento de sexo.

Respecto a la edad de los sujetos, se considera entre 4 y 60 años.

3.1.2 Criterios de exclusión

No cumplir los criterios de inclusión y/o serán presentar enfermedades graves (hepática, renal, cáncer etc.) o disfunción gastrointestinal (patologías malabsortivas diferentes a la celiacía) así como sujetos con demencia, enfermedad mental o disminución de la función cognitiva.

4. DESARROLLO DEL ESTUDIO

4.1 Variables del estudio

- Composición de la dieta y evaluación del estado nutricional
- MicroARN circulante y marcadores de inflamación
- Niveles de zonulina y péptidos inmunogénicos (GIP) en heces
- Composición corporal

4.2 Descripción de la visita

4.2.1 Evaluación inicial presencial (celiacos al diagnóstico y controles)

Tras el reclutamiento de la población, un dietista-nutricionista entrenado se reunirá con los voluntarios en las instalaciones de la Unidad de Metabolismo y Composición Corporal

de la Facultad de Farmacia de la USPCEU o en su centro médico. Igualmente, personal autorizado del Servicio de Enfermería extraerá una muestra de sangre venosa tras ayuno de 8 horas.

En esta primera visita, un dietista entrevistará a los participantes para recopilar sus datos personales, corroborar que cumplen los criterios de inclusión y proceder, en caso positivo, a la firma del consentimiento informado. Cuando se entreviste a los voluntarios más jóvenes, se pedirá ayuda a los familiares/tutores adultos.

- **Evaluación del estado nutricional**
- **Análisis en suero de miARN circulantes y marcadores de inflamación.**
- **Análisis en heces de zonulina**
- **Determinación de péptidos del gluten (GIP) excretados en heces**
- **Evaluación de la composición corporal**

4.2.2 Evaluación intermedia y final presenciales de los voluntarios (EC y controles)

Se hará una evaluación de los parámetros mencionados previamente en la evaluación inicial (T0) (dieta, inflamación, permeabilidad intestinal, miARN) transcurridos seis meses (evaluación intermedia, T1) y un año (evaluación final, T2), respectivamente.

4.2.3 Evaluaciones telefónicas cada mes y medio

Seguimiento cada mes y medio vía telefónica de las variables relacionadas con la evaluación del estado nutricional registro de alimentos de 3 días, cuestionario de adherencia a la DM, cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos ultraprocesados y cuestionario de frecuencia de consumo de productos ultraprocesados comercializados sin gluten