73 | 3 | 15

Annales Nestlé

Gluten: amigo o enemigo

Editores: R. Shamir, H. Szajewska

KARGER

Nestlé Nutrition Institute

Annales Nestlé

Gluten: ¿amigo o enemigo?

Editores
Raanan Shamir, Tel-Aviv
Hania Szajewska, Varsovia

Consejo Editorial
Jatinder Bhatia, Augusta, Ga.
Carlos Lifschitz, Buenos Aires
Maria Makrides, Adelaida
Etienne Nel, Ciudad del Cabo
Frank M. Ruemmele, París
Hania Szajewska, Varsovia

S. Karger
Editores médicos y científicos
Basel · Freiburg · Paris · London · New York · Chennai · New Delhi · Bangkok · Beijing · Shanghai Tokyo · Kuala Lumpur · Singapore · Sydney

KARGER

Patrocinado por
Nestlé Nutrition Institute

Nota del patrocinador
Esta publicación se llevó a cabo mediante fondos de una beca educativa sin restricciones por parte del Nestlé Nutrition Institute. El instituto es una asociación no lucrativa creada para proporcionar información médica y científica a profesionales de la salud en el campo de la nutrición pediátrica y adulta, lo cual incluye los padecimientos relacionados con ella (disponible en **www.nestlenutrition-institute.org).**

Cualquier responsabilidad de los patrocinadores por el contenido de estos artículos se excluye de manera expresa.

Declaración de conflictos de interés de los editores invitados
Las instituciones de ambos editores invitados recibieron una beca de la European Commission (FP6-2005-FOOD-4B-36383–PREVENTCD).

S. Karger
Medical and Scientific Publishers
Basel • Freiburg • Paris • London •
New York • Chennai • New Delhi •
Bangkok • Beijing • Shanghai • Tokyo •
Kuala Lumpur • Singapore • Sydney

Aviso de exención de responsabilidad
S. Karger AG no se hace responsable por errores u omisiones, o por cualquier consecuencia que surja del uso de la información aquí contenida.

Dosificación de medicamentos
Los autores y el editor han llevado a cabo todo esfuerzo para asegurarse de que la elección y dosificación de medicamentos contenidos en este texto concuerden con las recomendaciones y práctica al momento de la publicación. Sin embargo, en vista de la investigación continua, los cambios en las regulaciones gubernamentales y el flujo constante de información relacionada con la terapia farmacológica y las reacciones medicamentosas, se urge al lector que revise el inserto del paquete para cada fármaco en busca de cualquier cambio en las indicaciones y dosificación, así como para enterarse de precauciones y advertencias agregadas. Esto tiene una importancia particular cuando el medicamento recomendado es nuevo o se emplea de manera poco frecuente.

Todos los derechos reservados.
Ninguna parte de esta publicación puede traducirse a otros idiomas, reproducirse o utilizarse de cualquier manera o por cualquier medio, electrónico o mecánico, incluido el fotocopiado, grabación, microcopiado o por cualquier sistema de almacenamiento y recuperación de la información sin permiso por escrito del editor.

© Copyright 2015 por Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG
P.O. Box, CH–4009 Basel (Switzerland)
e-ISBN 978–3–318–02733–4

KARGER 125 YEARS

Correo electrónico: karger@karger.com

Vol. 73, No. 3, 2015

Annales Nestlé

Contenido

5 Editorial
Shamir, R. (Tel Aviv); Szajewska, H. (Varsovia)

7 Enfoque sobre: Efectos adversos del gluten de trigo
8 Efectos adversos del gluten de trigo
Koning, F. (Leiden)

15 Enfoque sobre: Sensibilidad al gluten
16 Sensibilidad al gluten
Catassi, C. (Ancona)

27 Enfoque sobre: Microbioma y gluten
28 Microbioma y gluten
Sanz, Y. (Valencia)

42 Enfoque sobre: Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana
43 Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana
Chmielewska, A. (Varsovia); Pieścik-Lech, M. (Varsovia); Szajewska, H. (Varsovia); Shamir, R. (Tel Aviv)

Los artículos se publicaron originalmente como un suplemento de *Annals of Nutrition and Metabolism* y son reimpresos aquí con permiso.

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico: karger@karger.com

Declaración

El Nestlé Nutrition Institute fue creado para proporcionar información actualizada a los profesionales en salud sobre nutrición y padecimientos relacionados con ella para permitirles mejorar de manera continua la atención del paciente con base en los últimos desarrollos médicos y científicos.

Uno de los pilares clave del Nestlé Nutrition Institute es *Annales Nestlé*, una revista pediátrica que se ha publicado de manera regular desde 1942. Contiene artículos de revisión sobre práctica clínica e investigación en todos los campos de la pediatría con enfoque en nutrición.

Annales Nestlé comprende tres números anuales y, con alrededor de 50 000 copias por número, es una de las revistas pediátricas más leídas en el mundo.

Annales Nestlé se edita por un consejo editorial independiente de líderes de opinión en investigación pediátrica, lo que garantiza la imparcialidad médica y científica de la revista; de ahí el alto nivel de respeto y apreciación por parte de los círculos médicos y científicos. El consejo editorial establece las políticas editoriales, identifica tópicos a publicar, elige a los autores y se encarga del proceso de revisión de cada publicación.

Desde 2011, *Annales Nestlé* se publica como suplemento de *Annals of Nutrition and Metabolism* y está disponible mediante el acceso en línea en PubMed.

Nos complace ofrecerle nuestro diseño innovador, resultado de una cooperación creativa y efectiva con ***Karger Publishers, Suiza***.

Natalia Wagemans, MD
Presidente del
Nestlé Nutrition Institute
Vevey (Suiza)

KARGER 125 since 1890
© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico: karger@karger.com

Annales Nestlé

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):5–6
DOI: 10.1159/000440988

Editorial

Numerosos pasos definen la evolución de la humanidad desde su existencia primitiva hasta la vida moderna. Esto incluye la habilidad para producir fuego, la invención de la rueda, hasta las invenciones modernas como la electricidad y aquellas relacionadas con la Revolución Industrial. Entre estos pasos, la habilidad para cultivar granos y el uso del trigo como parte de nuestra dieta se consideran una parte integral del desarrollo humano al permitir el enriquecimiento de la dieta y la creación de soluciones tecnológicas para generar productos alimenticios y llevar a cabo su cocción.

Estas innovaciones, que datan de alrededor de 10 000 años (con hallazgos arqueológicos recientes que sugieren más de 20 000 años), mejoraron el sabor, textura y variedad de nuestra dieta; sin embargo, junto con ello trajeron una nueva enfermedad, la enfermedad celiaca (CD), la cual no existiría sin el consumo de gluten, la proteína del trigo, y sus prolaminas relacionadas presentes en la cebada y el centeno.

En años recientes, se ha vuelto evidente que el gluten contiene propiedades inmunitarias que pueden contribuir al desarrollo de CD, para lo cual es necesaria una predisposición genética. Es probable que estas propiedades también tengan un papel en una amplia gama de enfermedades atribuibles directamente al trigo (p. ej., alergia al trigo y sensibilidad no celiaca al gluten) o que respondan a la eliminación del gluten de la dieta debido a sus efectos tóxicos potenciales. Este número de *Annals of Nutrition and Metabolism* está dedicado a la fascinante proteína denominada gluten. Frits Koning describe con elegancia esta compleja proteína e informa los mecanismos inmunitarios conocidos mediante los cuales el gluten ejerce sus efectos tóxicos.

Carlo Catassi abre una ventana a una amplia gama de trastornos que pueden o no tener relación con el gluten, de los cuales la sensibilidad no celiaca al gluten destaca como la entidad más intrigante debido a las dificultades para obtener un diagnóstico objetivo y a su prevalencia potencial que posiblemente sea mayor que la de la CD. El tiempo dirá si todas o sólo algunas de las enfermedades detalladas en la revisión de Catassi tendrá una cura o mejoría con una dieta libre de gluten y cuál será el papel exacto de otros ingredientes en los alimentos (p. ej., α-amilasa/inhibidores de tripsina) en la patogenia de varios síntomas y enfermedades relacionados con el trigo.

Yolanda Sanz nos recuerda que nuestra microbiota puede tener un papel importante en la patogenia de la CD, ya que la disfunción inmunitaria observada en individuos con inflamación crónica y enfermedades autoinmunes causa cambios desfavorables en la microbiota, denominados disbiosis. Esto también se observa en pacientes con CD en quienes dichos cambios podrían explicar parte de los factores desencadenantes ambientales necesarios para iniciar la enfermedad además de la predisposición genética. Es factible que tales cambios sean parte de la patogenia de la CD y agraven la enfermedad manifiesta. Esta revisión elaborada brinda observaciones sobre los vínculos reportados entre las alteraciones de la microbiota intestinal y la CD. Inclusive, la dieta libre de gluten por sí misma tiene un efecto sobre la microbiota intestinal, y estas complicadas interacciones también se discuten aquí.

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel
0250–6807/15/0676–0005$39.50/0

Correo electrónico: karger@karger.com

Por último, debido a que la CD es tan común y conlleva el riesgo de complicaciones, por mucho tiempo se consideraron varias estrategias de nutrición infantil como un medio para prevenir la CD o retrasar la presentación de ésta. Después de la epidemia sueca, se pensó que la lactancia materna previene o retrasa la presentación de la CD y que la introducción temprana del gluten (entre los 4 y 6 meses de edad) mientras el lactante aún recibe leche materna tiene un efecto protector o retardante. Anna Chmielewska *et al*., resumen la evidencia disponible sobre estas estrategias y muestran, para nuestra decepción, que la lactancia materna no protege a los niños contra el riesgo de desarrollar CD y que la introducción temprana del gluten tampoco es protectora.

Estamos seguros de que el lector curioso encontrará respuestas actualizadas a numerosas preguntas sobre el consumo del gluten, la sensibilidad al mismo, la patogenia de la CD y los tratamientos dietéticos; con optimismo, estas preguntas respondidas iniciarán estudios prospectivos sobre numerosas preguntas nuevas y abiertas en el campo.

Raanan Shamir
Hania Szajewska

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):5–6
DOI: 10.1159/000440988

ENFOQUE

El reconocimiento del HLA-DQ-gluten está mediado por un conjunto relativamente conservado de receptores de las células T que predominan en los pacientes y parecen no encontrarse en los individuos sanos

Reimpreso con permiso de: Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14

Efectos adversos del gluten del trigo

por Frits Koning

Mensajes clave

La enfermedad celiaca es una enteropatía autoinmune crónica que recibe influencia de factores tanto genéticos como ambientales. Es la única afección gastrointestinal en la cual se ha establecido con claridad la implicación del gluten. Debido a su gran contenido de prolina, el gluten es resistente a la degradación en el tracto gastrointestinal. Un evento patogénico clave en la enfermedad celiaca es la respuesta aberrante de las células T dirigida contra los fragmentos de gluten. Estos fragmentos antigénicos son capaces de activar a las células inmunes en el intestino, reclutar células T infiltrantes e iniciar eventos de señalización proinflamatoria que, con el tiempo, provocan la remodelación profunda de los tejidos intestinales.

Conocimiento actual

El gluten de trigo consiste en dos clases de proteínas, las gliadinas y las gluteninas. Las gluteninas confieren elasticidad y viscosidad a varios productos alimenticios, pero los fragmentos peptídicos inmunogénicos que desencadenan los síntomas en pacientes con enfermedad celiaca provienen de la familia de las gliadinas. La mayoría de los pacientes con enfermedad celiaca expresa HLA-DQ2.5 y/o HLA-DQ8. Bajo condiciones normales, estas moléculas se unen a péptidos derivados de antígenos y los presentan a las células T. En la enfermedad celiaca, las respuestas aberrantes de las células T están dirigidas contra los fragmentos de gluten unidos a HLA-DQ2.5 y/o HLA-DQ8. Dichos fragmentos inmunogénicos provienen de la degradación parcial de las proteínas del gluten en el tracto gastrointestinal, que luego se modifican por la enzima transglutaminasa tisular (TG2).

Resumen de la patogenia de la enfermedad celiaca.

Implicaciones prácticas

Los pacientes con enfermedad celiaca deben evitar los productos alimenticios que contienen trigo, cebada o centeno. En general, la avena se considera segura para pacientes con enfermedad celiaca. Los suplementos orales de enzimas digestivas posprolina (prolil endopeptidasas y prolil endoproteasas) representan una estrategia para reforzar la degradación del gluten. Aunque esto por sí solo no permitirá a los pacientes el consumo de una dieta normal que contenga gluten, el uso de estas enzimas puede ser eficaz para contrarrestar los efectos de la exposición inadvertida al gluten.

Lectura recomendada

Tjon JM, van Bergen J, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics. 2010;62:641-651.

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico karger@karger.com

Gluten: ¿amigo o enemigo?

Annales Nestlé

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

Efectos adversos del gluten de trigo

Frits Koning

Departamento de Inmunohematología y Transfusión Sanguínea, Leiden University Medical Center, Leiden, Países Bajos

Mensajes clave

- **La enfermedad celiaca (y su dermatitis herpetiforme relacionada) es la única afección (gastrointestinal) en la cual se ha establecido la implicación clara del gluten.**
- **Las propiedades exclusivas de las proteínas del gluten explican sus propiedades inductoras de enfermedad.**
- **El trigo y el gluten seguros aún no están al alcance, pero el conocimiento actual permite estrategias alternativas para satisfacer las necesidades de los pacientes.**

Palabras clave

Enfermedad celiaca · Trigo · Gluten · Toxicidad

Resumen

El ser humano comenzó a consumir cereales hace alrededor de 10 000 años, cuando los cazadores-recolectores se establecieron en el Creciente Fértil del Medio Oriente. Desde entonces, el gluten ha sido una parte integral del tipo de dieta occidental, y el consumo de trigo también es común en el Medio Oriente, partes de India y China, así como Australia y África. De hecho, el suministro de alimentos en el mundo depende en gran medida de la disponibilidad de alimentos basados en cereales, de los cuales el trigo es la cosecha más grande en el mundo. Parte de esto se debe a las propiedades singulares del gluten de trigo, el cual tiene un elevado valor nutricional y es crucial para la preparación de masa de alta calidad. No obstante, en los últimos 10 años, el trigo y el gluten han recibido atención negativa considerable. Muchos creen que estos son inherentemente malos para la salud e intentan evitar el consumo de cereales que contienen gluten; por decir, llevan un estilo de vida con poco contenido de gluten. Esto se ha avivado por una serie de publicaciones populares, como *Trigo Belly*; *Lose the Wheat*, *Lose the Weight*, y *Find Your Path Back to Health*. Sin embargo, en la realidad, sólo hay una afección de la cual el gluten es el culpable definitivo: la enfermedad celiaca (CD), que afecta a alrededor de 1% de la población occidental. Aquí se describe la complejidad de los cereales de los cuales deriva el gluten, las propiedades especiales del gluten por las que ha sido ampliamente usado en la industria alimenticia, la base para su toxicidad en pacientes con CD y el potencial para el desarrollo tanto de gluten seguro como de alternativas para la dieta libre de gluten.

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Trigo, cebada y centeno: tres cereales que contienen gluten

El trigo, la cebada y el centeno son cereales que están estrechamente relacionados, los cuales pertenecen al género Triticeae [1]. La avena es filogenéticamente más distante, mientras que el arroz, el maíz y el sorgo derivan de subfami-

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel
0250–6807/15/0676–0008$39.50/0

Correo electrónico karger@karger.com

Frits Koning
Departamento de Inmunohematología y Transfusión Sanguínea
Leiden University Medical Center
PO Box 9600, NL–2300 RC Leiden (The Netherlands)
Correo electrónico: f.koning@lumc.nl

lias diferentes (Fig. 1). En consecuencia, el gluten de trigo y las hordeínas y secalinas tipo gluten de la cebada y el centeno, respectivamente, son más similares entre sí, y esto provoca su toxicidad en pacientes con enfermedad celiaca (CD). Las aveninas de la avena tienen menor similitud de secuencia y un bajo perfil de toxicidad. Por último, las proteínas tipo gluten en el arroz, el maíz, el sorgo y el teff son bastante distintas del gluten de trigo y carecen de toxicidad [2].

El trigo es muy complejo: hay más de 10 000 variedades conocidas alrededor del mundo. Empero, sólo unas cuantas de ellas se utilizan con frecuencia para la producción de alimentos; la mayoría son trigos duros tetraploides (trigo pasta) y trigos de pan hexaploides (Fig. 2). Los trigos tetraploides, también conocidos como *Triticum durum*, contienen dos genomas completos y se originan de la hibridación natural de dos especies diploides [1] (Fig. 2). Después, el trigo hexaploide de pan, que incluye las especies *T. aestivum* y *T. spelta*, se desarrolló de modo espontáneo por otro evento de hibridación [1]. Debido a la presencia de dos y tres genomas en las variedades de trigo tetraploides y hexaploides, respectivamente, éstas producen más proteínas de gluten, que son favorables para la producción de masa de alta calidad. La tecnología convencional de cultivo se ha utilizado para optimizar el rendimiento de la cosecha durante varios miles de años.

Gluten: una mezcla compleja de proteínas

El gluten es una mezcla de proteínas de almacenamiento presente en el endospermio de las semillas de trigo, cebada y centeno, donde proporciona nutrición a las semillas en germinación. El gluten de trigo consta de dos clases de proteínas: las gliadinas y las gluteninas [1]. Las primeras pueden subdividirse en α, γ y ω-gliadinas, y las segundas en gluteninas de peso molecular bajo (LMW) y alto (HMW). Docenas de genes de gliadina se expresan en cualquier variedad de trigo, pero se encuentran mucho menos genes de glutenina. Mientras que las gluteninas, en particular las de HMW, son fundamentales para la formación de masa de alta calidad que tiene propiedades óptimas de panificación [1], las gliadinas contienen la mayor parte de los fragmentos tóxicos que causan síntomas en pacientes con CD [3]. El gluten proporciona elasticidad y viscosidad a la masa, lo cual se debe a la formación de enlaces disulfuro intercatenarios entre las proteínas del gluten y los enlaces de hidrógeno entre los residuos de glutamina abundantes en todas las clases de proteína del gluten. La red viscoelástica resultante brinda propiedades especiales a la masa que hacen que se convierta en un insumo de gran versatilidad en la industria alimenticia.

El centeno también contiene moléculas tipo gliadina y glutenina de HMW; las primeras también se conocen como secalinas (del secale; Fig. 1). En la cebada no se encuentran

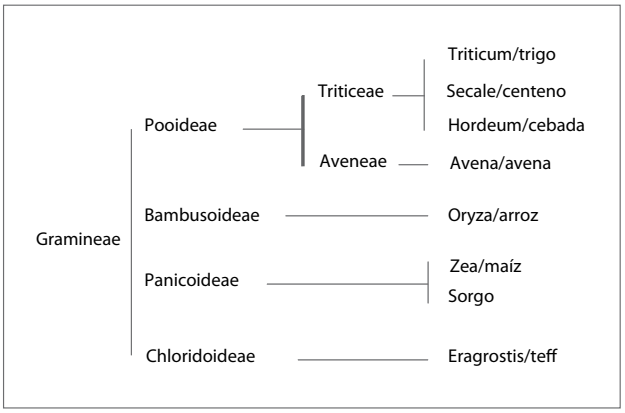


Fig. 1. Resumen de las relaciones entre los cereales de consumo frecuente.

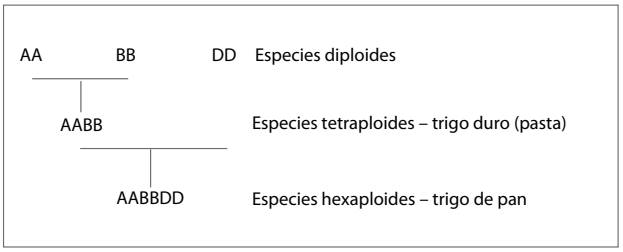


Fig. 2. La hibridación natural de las especies diploides ha dado paso a la formación de especies tetraploides de trigo. La hibridación adicional ha dado origen al trigo hexaploide.

gluteninas HMW, pero sí contiene hordeínas tipo gliadina (del hordeum; Fig. 1).

Toxicidad del gluten: conlleva una multitud de fragmentos inmunoestimuladores

Una gran cantidad de estudios han valorado la toxicidad del gluten en pacientes con CD [4-11]. Virtualmente todos los pacientes expresan HLA-DQ2.5 y/o HLA-DQ8 [12, 13]. En condiciones normales, estas moléculas se unen a péptidos derivados de antígenos proteicos y los presentan a las células T que inspeccionan el organismo en busca de patógenos invasores. La detección de péptidos derivados de proteínas de patógenos alerta al sistema inmune, un paso crucial para la erradicación del patógeno. De este modo, la fuerte relación entre HLA-DQ2.5/8 y CD indicó que es factible que las respuestas aberrantes de las células T dirigidas contra los fragmentos de gluten unidos a las moléculas HLA-DQ2.5 y/o DQ8 sean la base de la patogenia. De hecho, las células T específicas contra gluten pueden aislarse en las biopsias de intestino delgado de pacientes con CD, pero no de los controles [3-11]. Además, en cuanto al reto con gluten, es posible detectar dichas células T de modo temporal en sangre [8, 11, 14]. La especificidad de estas células T se ha investigado a detalle, lo cual reveló que

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

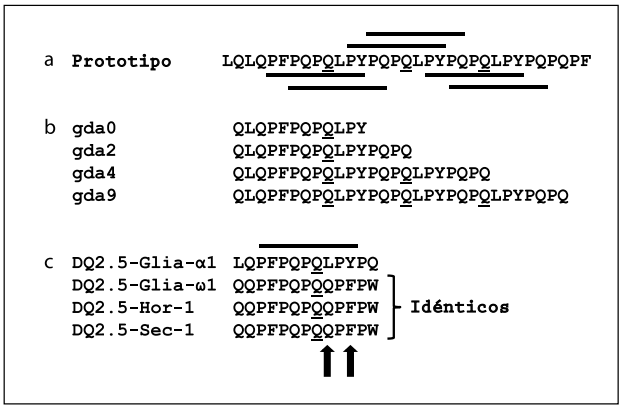


Fig. 3. Nueve epítopes de aminoácidos de células T en las gliadinas y sus homólogos en las hordeínas y secalinas indicados por las líneas horizontales. **a** El fragmento 33-mer de la α-gliadina que contiene seis epítopes superpuestos de células T. **b** La longitud y la cantidad de los epítopes de células T del "33-mer" son variables. **c** Secuencias homólogas en las gliadinas, hordeínas y secalinas. Símbolos de los aminoácidos: L = leucina; Q = glutamina; P = prolina; Y = tirosina; F = fenilalanina; W = triptófano. Q = objetivo de la transglutaminasa tisular.

los fragmentos inmunogénicos del gluten están presentes en todos los tipos de proteína del gluten. No obstante, algunos fragmentos de gluten son inmunodominantes, ya que las células T específicas para estos fragmentos se encuentran en casi todos los pacientes [3, 8, 9, 11]. En particular, una secuencia repetitiva rica en prolina en la porción N-terminal de las α-gliadinas y una secuencia homóloga en las ω-gliadinas presentan inmunogenicidad elevada. Esta secuencia contiene seis epítopes parcialmente superpuestos en las células T (Fig. 3a) conocidos como DQ2.5-glia-α1a, DQ2.5-glia-α1b y DQ2.5-glia-α2 [3, 4]. Sin embargo, la longitud de esta secuencia N-terminal repetitiva varía entre los genes de α-gliadina y, en consecuencia, también la cantidad de copias de las secuencias inmunogénicas [15] (Fig. 3b). Además, la porción C-terminal de las α-gliadinas contiene DQ8-glia-α1, una secuencia inmunodominante en pacientes positivos para HLA-DQ8 [6, 16]. Debido a la potente homología de secuencia entre las α y ω-gliadinas y entre las gliadinas y las hordeínas y secalinas se encuentran secuencias muy similares o incluso idénticas [15] (Fig. 3c). Así, las células T tienden a responder por igual a la estimulación con estos tres cereales. Además, otras células T pueden tener una gran especificidad para las secuencias encontradas sólo en uno de estos cereales [11].

La composición especial de aminoácidos del gluten tiene un fuerte vínculo con su capacidad para inducir enfermedad. Todas las proteínas del gluten son ricas en glutamina (símbolo Q) y prolina (símbolo P). Juntos, estos dos aminoácidos conforman casi 50% de las proteínas del gluten. Debido a su naturaleza rica en prolina, las proteínas del gluten son difíciles de degradar, por lo que persisten en el tracto gastrointestinal [4]. Además, numerosos epítopes de gluten restringido a HLA-DQ2.5 tienen una prolina en la posición 8 relativa, que es crucial para el reconocimiento de las células T [17, 18]. Sin embargo, y quizá de mayor importancia, su naturaleza rica en prolina y glutamina convierte al gluten en un sustrato perfecto para la enzima transglutaminasa tisular [5], que genera fragmentos de gluten que se unen con gran afinidad a HLA-DQ2.5 o HLA-DQ8, un prerrequisito para el reconocimiento de las células T de la mayoría de los fragmentos inmunogénicos del gluten.

Tanto HLA-DQ2.5 como HLA-DQ8 unen de manera preferencial los péptidos con los aminoácidos de carga negativa en la posición relativa 4, 6 o 7 (HLA-DQ2.5) o en la posición 1 y/o 9 (HLA-DQ8), pero el gluten no contiene aminoácidos con carga negativa. Esta discrepancia se resolvió cuando se comprendió que los péptidos inmunogénicos del gluten contenían uno o más residuos de glutamina en posiciones críticas y que reemplazar dichos aminoácidos por ácido glutámico, que tiene carga negativa, permitía la unión de gran afinidad de los péptidos modificados a HLADQ2.5 o DQ8. Es importante señalar que se demostró que dicha modificación de los péptidos de gluten está mediada por la enzima tisular transglutaminasa (TG2), que en condiciones normales tiene una localización intracelular, donde carece de actividad enzimática, pero se vuelve activa cuando se libera en el sitio del daño tisular [7, 16]. Inclusive, se encontró que las secuencias QLPY y QLPF, abundantes en las proteínas del gluten, son un sustrato ideal para TG2 y se convierten en ELPY y ELPF, donde la E significa ácido glutámico con carga negativa [5]. En consecuencia, en 33-mer, tres residuos Q se convierten en un E, produciendo seis péptidos que se unen con gran afinidad a HLADQ2.5 debido a la introducción de una carga negativa en la posición 4 o 6 (Figs. 3, 4). De modo similar, TG2 puede introducir cargas negativas en la posición 1 y/o 9 en otros péptidos del gluten, lo cual genera péptidos que se unen con gran afinidad a HLA-DQ8, como en el caso del péptido DQ8-glia-α1 [16] (Cuadro 1). Así, la composición única de aminoácidos del gluten explica su naturaleza inmunogénica. Mientras que es claro que la mayor parte de la toxicidad del gluten se relaciona con las α y ω-gliadinas, también se han identificado epítopes de las células T en las γ-gliadinas y en las gluteninas de LMW y HMW. De hecho, las respuestas de las células T a las γ-gliadinas se detectan con bastante frecuencia en los pacientes, en tanto que las gluteninas parecen tener un perfil de toxicidad mucho menor. Es notable que los epítopes identificados de γ-gliadina y glutenina tienen menor cantidad de prolina (2 a 3 por epítope) en comparación con los epítopes en las α y ω-gliadinas (cuatro por epítope). Esto provoca una mayor

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

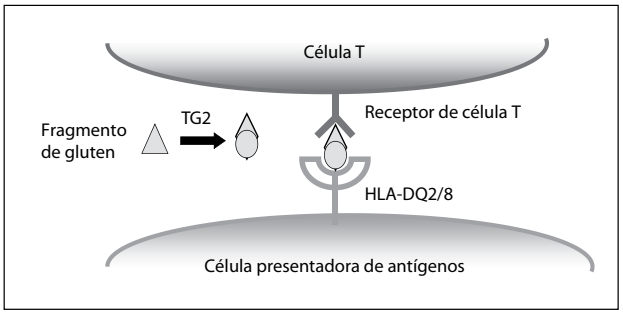


Fig. 4. La modificación de la transglutaminasa tisular (TG2) crea epítopes de gluten que se unen a HLA-DQ2/8 con gran afinidad.

Cuadro 1. Resumen de la presencia de tres fragmentos de HLA-DQ2.5 y un fragmento de gliadina HLA-DQ8 en los genomas A, B y D del trigo

Epítope	Secuencia	Genoma A	Genoma B	Genoma D
DQ2.5-glia-α1a	PFPQPQLPY	466	–	520
DQ2.5-glia-α2	PQPQLPYPQ	–	–	607
DQ2.5-glia-α3	FRPQQPYPQ	650	–	449
DQ8-glia-α1	QGSFQPSQQ	–	186	381

Se muestra el número de "hits" dentro de los genomas indicados.

susceptibilidad de los epítopes de γ-gliadina y glutenina a la degradación enzimática que podría relacionarse con su menor inmunogenicidad.

El repertorio sesgado de receptores de células T en pacientes con CD

Estudios recientes han investigado el repertorio de los receptores de las células T expresados en células T específicas para gliadina [19-23]. Esto ha revelado que se encuentran receptores muy similares de las células T en todos los pacientes examinados (los denominados receptores públicos de células T). Debido a que el repertorio de receptores potenciales de las células T es inmenso, esto indica que la selección y la expansión de las células T que expresan dichos receptores públicos de las células T ocurre en los pacientes. Incluso, debido a que las células T específicas para gluten no se encuentran en los controles sanos, esto indica que la presencia de células T que expresan receptores públicos de tales células tiene una relación estrecha con el desarrollo de la enfermedad.

Estudios recientes han revelado la base molecular para la interacción entre los receptores públicos de las células T y el HLADQ-gluten [21-23]. Tanto en la enfermedad por HLA-DQ2 como por HLA-DQ8 se observó que esta interacción está mediada por numerosas interacciones clave entre los receptores de las células T, el HLA-DQ y el péptido de unión del gluten. De manera sorprendente, en todos los casos se encontró que un residuo de arginina del receptor de la célula T juega un papel crucial. Así, el reconocimiento de gran afinidad del HLA-DQ gluten está mediado por un conjunto relativamente conservado de receptores de las células T que predominan en los pacientes y parece estar ausente en los individuos sanos. La eliminación de dichas células T tal vez sea una opción terapéutica efectiva para los pacientes con CD.

Avena: la excepción

En tanto el trigo, la cebada y el centeno pertenecen al mismo género, la avena tiene una relación más distante. En consecuencia, en comparación con las hordeínas y secalinas, las aveninas tipo gluten de la avena son menos similares al gluten del trigo. De hecho, en la investigación sobre homología entre gliadinas y aveninas se encontró que son bastante diferentes [3, 15]. Por ejemplo, los únicos homólogos conocidos de avenina de la secuencia DQ2-glia-α1 PFPQPQLPY son PYPEQQEPF y PYPEQQQPF, donde sólo se comparten 4 de los 9 aminoácidos, y la reacción cruzada de las células T es infrecuente entre estos péptidos de gliadina y avenina [15]. Además, la avena contiene sólo unos cuantos genes de avenina. En consecuencia, el contenido de avenina en la avena es mucho menor en comparación con el contenido de gluten en el trigo. En conjunto, esto implica que el consumo de avena por pacientes con CD lleva a una exposición limitada a los fragmentos de avenina que representan un potencial estimulador de las células T significativamente más bajo. Es muy probable que esto explique la observación de que, pese a las excepciones reportadas [24], la vasta mayoría de los pacientes con CD están en condiciones de consumir avena de modo seguro mientras no esté contaminada con otros cereales que contengan gluten [25].

Gluten y sistema inmune innato

Junto con la naturaleza inmunogénica bien establecida del gluten, se cuenta con bibliografía bastante extensa sobre los efectos del gluten en el sistema inmune innato, en particular del impacto del péptido p31-43 derivado de α-gliadina. Este péptido, que es N-terminal del 33-mer inmunogénico, se ha implicado en la inducción de la expresión de CD25, COX-2 e IL-15, además de presentar actividad tipo factor de crecimiento, entre otras [26, 27]. No obstante, hasta ahora no se han identificado receptores a los cuales se una p31-43, por lo que el mecanismo a través del cual este péptido induciría estos efectos biológicos aún se desconoce. Como se ha discutido antes [28], es probable que los efectos del péptido p31-43 se basen en un mecanismo que no se ha investigado de manera apropiada. Se sabe que los anticuerpos específicos contra gluten se encuentran tanto en pacientes con CD como en los controles. Estos anticuerpos están dirigidos contra una secuencia repetitiva en el gluten: QPFXXQXPY, donde X puede

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

ser cualquier aminoácido [29]. Dicha secuencia también se encuentra en el péptido p31-43: 31-LGQQQPFPPQQPY-43, lo cual implica que es factible que el péptido 33 sea el blanco de los anticuerpos específicos contra el gluten. Debido a que el péptido p31-43 se encuentra directamente adyacente al 33-mer inmunogénico, la captación de los fragmentos grandes de gliadina que contienen tanto p31-43 como 33-mer podría facilitarse por dichos anticuerpos expresados en las células B específicas para gliadina o por células presentadoras de antígenos que expresan receptores Fc. En ambos casos, esto provocaría el procesamiento intracelular del fragmento de gliadina internalizado, lo que permitiría la unión a HLA-DQ y el transporte de los complejos HLA-DQ-gluten a la superficie celular. De este modo, la captación de gliadina mediada por anticuerpos conlleva la posibilidad de causar una presentación reforzada de gliadina mediada por HLA-DQ a las células T específicas para gliadina y promover la inflamación. A la inversa, las células T proveerían "ayuda" a las células B productoras de anticuerpos al provocar una producción reforzada de anticuerpos y crear un poderoso circuito de amplificación. Así, los efectos inmunomoduladores del péptido p31-43 tal vez sean indirectos y se expliquen por las respuestas adaptativas reforzadas de las células T.

Será en extremo difícil, si no imposible, desarrollar un "trigo" que sea seguro para pacientes con CD mediante las estrategias de cultivo convencionales

Desintoxicación de gluten

Como ya se mencionó, el trigo es complejo, así como los loci que codifican los genes de gliadina. Cada variedad de trigo contiene docenas de genes de gliadina, la cantidad real depende de la poliploidia. Se han secuenciado miles de dichos genes de gliadina, y su origen puede rastrearse hasta el genoma del cual se originan, el genoma A, B o D. Un análisis cercano de más de 3 000 genes disponibles de α-gliadina reveló que las gliadinas codifican una gran cantidad de estas secuencias tóxicas, aunque hay diferencias sustanciales en la presencia de los epítopes según el genoma [30, 31] (Cuadro 1). Se ha demostrado que el genoma D es el más deletéreo, ya que codifica para los cuatro epítopes investigados, mientras los genomas A y B codifican sólo 2 y 1, respectivamente. Aunado a la observación de que la longitud del "33-mer" difiere entre genes de α-gliadina [15] (Fig. 3b), esto indica que no todos los genes de gliadina tienen un perfil de toxicidad similar. Esto ha alimentado la esperanza de desarrollar un trigo "seguro" por medio de seleccionar las variedades que contengan sólo ciertas α-gliadinas [31]. Sin embargo, tal vez esto sea una ilusión, ya que hasta la fecha no se ha identificado un solo gen de gliadina que carezca en verdad de secuencias inmunogénicas. Inclusive, aunque un gen particular de gliadina carezca de una copia precisa de una secuencia inmunogénica particular, con frecuencia alberga una secuencia homóloga, y es factible que las células T presenten una reacción cruzada con dichos péptidos homólogos. Por ello, será en extremo difícil, si no imposible, desarrollar un "trigo" que sea seguro para pacientes con CD mediante las estrategias de cultivo convencionales.

En una nota más positiva, se ha proporcionado evidencia de que existen variantes naturales de los fragmentos inmunogénicos del gluten que carecen de propiedades estimuladoras de las células T [17, 18]. En muchos de los casos, estos péptidos variantes difieren sólo en un aminoácido de su contraparte inmunogénica y con frecuencia concierne a la sustitución de prolina por serina (símbolo S) en la posición 8 relativa. Por ejemplo, el epítope DQ2-glia-α2 PQPQLPYPQ del genoma D presenta inmunogenicidad elevada, mientras que su contraparte natural PQPQLPYSQ del genoma A no la presenta [17, 18]. De este modo, existe la posibilidad de diseñar los genes de gliadina para que ya no puedan codificar estas secuencias inmunogénicas mientras retienen la mayoría de sus propiedades naturales. Sin embargo, debido a la naturaleza repetitiva de las α-gliadinas, sería necesario modificar múltiples residuos de prolina para eliminar toda la toxicidad. Esto implicaría seis sustituciones tan sólo en 33-mer, lo que complica dicha estrategia. Por lo tanto, aunque existen estrategias para producir gluten seguro, son muy costosas, por lo que no es una opción realista en la actualidad.

Degradación enzimática del gluten

Como ya se mencionó, el gluten es muy resistente a la degradación en el tracto gastrointestinal debido a su gran contenido de prolina. Para reforzar la degradación del gluten, se ha propuesto el uso de suplementos orales con enzimas degradadoras posprolina [4]. Dichas prolil endopeptidasas y prolil endoproteasas (PEP) no se encuentran en el lumen del tracto gastrointestinal, pero pueden aislarse de una variedad de microorganismos. La primera enzima estudiada, PEP de *Flavobacterium meningosepticum*, fue capaz de degradar los péptidos del gluten [4], pero no fue activa en los valores bajos de pH que se observan típicamente en el estómago y se inactivó por pepsina [32]. Otras enzimas que se han investigado incluyen PEP de *Myxococcus xanthus*, *Sphingomonas capsulate* y *Aspergillus niger* [32–35]. La última enzima, AN-PEP, tiene un perfil de pH favorable, ya que cuenta con gran actividad en valores bajos de pH y es resistente a la degradación por pepsina [32]. En consecuencia, es capaz de degradar el gluten en el compartimento gástrico tanto *in vitro* como *in vivo* y se ha encontrado que no tiene efectos deletéreos en pacientes y en voluntarios sanos [32, 35-37]. Se

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

espera que la enzima llegue al mercado como producto de venta sin receta en 2015. Además, PEP de *S. capsulate* se ha combinado con una endoproteasa B de cisteína proveniente de la cebada; esta última degrada glutamina [38]. La actividad combinada de estas dos enzimas es muy efectiva para degradar el gluten, y la eficacia se encuentra bajo escrutinio en un estudio de fase IIb.

Sin embargo, es dudoso que la disponibilidad de dichas preparaciones enzimáticas permita a los pacientes ingerir una dieta normal que contenga gluten. La ingesta diaria de gluten varía entre 10 y 20 g en adultos con una dieta que contiene gluten. El gluten se encuentra en numerosos productos alimenticios, y cualquier ingesta del mismo tendría que acompañarse de la administración oral de enzimas degradadoras de gluten. Inclusive, se ha encontrado evidencia de que la eficacia de la degradación del gluten depende del contexto en el cual se consume el mismo. En el caso de AN-PEP, por ejemplo, la disminución artificial del pH al agregar una bebida carbonatada reforzó la degradación del gluten, mientras que la leche desaceleró el proceso [39]. Por lo tanto, es difícil imaginar que cualquier enzima será eficaz para asegurar la degradación completa de las grandes cantidades de proteína de gluten presentes en la dieta normal antes de que alcance el intestino delgado. No obstante, las enzimas serían bastante eficaces para degradar pequeñas cantidades relativas de gluten, por lo que podrían utilizarse para contrarrestar el efecto deletéreo de la exposición inadvertida al gluten, como al comer fuera o durante las festividades.

El uso de enzimas orales para reforzar la degradación del gluten puede ser útil para los pacientes, en particular cuando comen fuera o durante las festividades

Conclusiones

La CD se produce por las respuestas proinflamatorias de las células T a los fragmentos de gluten unidos por las moléculas predisponentes de enfermedades HLA-DQ2.5 y/o HLA-DQ8. Dichos fragmentos se forman por la degradación parcial de las proteínas del gluten en el tracto gastrointestinal seguida de la modificación por la enzima TG2, lo cual introduce cargas negativas en los fragmentos de gluten requeridas para la unión de gran afinidad a las moléculas HLA-DQ predisponentes a enfermedades. La toxicidad por gluten se relaciona principalmente con las regiones ricas en prolina en las α y ω-gliadinas y regiones similares en las hordeínas y secalinas en la cebada y el centeno, respectivamente. La avena es segura para la mayoría de los pacientes. El repertorio de receptores de las células T subyacentes a la respuesta específica de las células T contra el gluten presenta un gran sesgo y es muy similar entre pacientes. Como tales, las células T no se encuentran en los controles sanos; su aparición y expansión parecen tener un vínculo con el inicio de la enfermedad. La desintoxicación de gluten y/o de trigo es imposible en la actualidad. El uso de enzimas orales para reforzar la degradación del gluten puede ser útil para los pacientes, en particular cuando comen fuera o durante las festividades.

Conflictos de intereses

El autor declara no contar con conflictos de intereses económicos en relación con el contenido de este artículo.

La redacción de este artículo se llevó a cabo mediante fondos del Nestlé Nutrition Institute.

Referencias

1 Shewry P: Wheat. J Exp Bot 2009;60:1537–1553.
2 Spaenij-Dekking EHA, Kooy Y, Koning F: The Ethiopian cereal tef in celiac disease. N Engl J Med 2005; 353: 1748–1749.
3 Sollid LM, Qiao SW, Anderson RP, Gian-frani C, Koning F: Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epi-topes restricted by HLA-DQ molecules. Im-munogenetics 2012;64:455–460.
4 Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C: Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. Science 2002;297:2275–2279.
5 Vader W, de Ru A, van der Wal Y, Kooy Y, Benckhuijsen W, Mearin L, Drijfhout JW, van Veelen P, Koning F: Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. J Exp Med 2002; 195: 643–649.
6 van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Pena S, Mearin L, Molberg O, Lundin K, Sollid L, Mutis T, Benckhuijsen W, Drijfhout JW, Koning F: Small intestinal cells of celiac dis-ease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:10050–10054.
7 Molberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, Fugger L, Scott H, Noren O, Roepstorff P, Lundin KE, Sjos-trom H, Sollid LM: Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. Nat Med 1998; 4: 713–717.
8 Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AV: In vivo antigen challenge in ce-liac disease identifies a single transgluta-minase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. Nat Med 2000;6:337–342.
9 Arentz-Hansen H, Körner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YM, Lundin KEA, Koning F, Roepstorff P, Sollid LM, Mc-Adam SN: The intestinal T cell response to α-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. J Exp Med 2000; 191: 603–612.
10 Vader W, Kooy Y, van Veelen P, de Ru A, Harris D, Benckhuijsen W, Pena S, Mearin L, Drijfhout JW, Koning F: The gluten response in children with recent onset celiac disease. A highly diverse response towards multiple gliadin and glutenin derived peptides. Gas-troenterology 2002; 122: 1729–1737.
11 Tye-Din JA, Stewart JA, Dromey JA, Beissbarth T, van Heel DA, Tatham A, Henderson K, Mannering SI, Gianfrani C, Jewell DP, Hill AV, McCluskey J, Rossjohn J, Anderson RP: Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. Sci Transl Med 2010;2:41ra51.
12 Tjon JM, van Bergen J, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immuno-genetics 2010;62:641–651.13 Abadie V, Sollid

LM, Barreiro LB, Jabri B: In-tegration of genetic and immunological in-sights into a model of celiac disease patho-genesis. Annu Rev Immunol 2011;29:493–525.
14 Christophersen A, Ráki M, Bergseng E, Lun-din KE, Jahnsen J, Sollid LM, Qiao SW:Tetramer-visualized gluten-specific CD4+ T cells in blood as a potential diagnostic mark-er for coeliac disease without oral gluten challenge. United European Gastroenterol J 2014; 2: 268–278.
15 Vader W, Stepniak D, Bunnik EM, Kooy Y, de Haan W, Drijfhout JW, van Veelen PA, Koning F: Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. Gastroenterology 2003;125:1105–1113.
16 van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Pena S, Mearin L, Papadopulos G, Koning F: Cutting edge: selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. J Immunol 1998; 161: 1585–1588.
17 Molberg O, Uhlen AK, Jensen T, Flaete NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H, Raki M, Lundin KE, Sollid LM: Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease. Gastroenter-ology 2005; 128: 393–401.
18 Mitea C, Salentijn EM, van Veelen P, Goryunova SV, van der Meer IM, van den Broeck HC, Mujico JR, Monserrat V, Gilissen LJ, Drijfhout JW, Dekking L, Koning F, Smul-ders MJ: A universal approach to eliminate antigenic properties of alpha-gliadin pep-tides in celiac disease. PLoS One 2010; 5:e15637.
19 Qiao SW, Ráki M, Gunnarsen KS, Løset GÅ, Lundin KE, Sandlie I, Sollid LM: Posttrans-lational modification of gluten shapes TCR usage in celiac disease. J Immunol 2011;187: 3064–3071.
20 Qiao SW, Christophersen A, Lundin KE, Sollid LM: Biased usage and preferred pair-ing of α- and β-chains of TCRs specific for an immunodominant gluten epitope in coeliac disease. Int Immunol 2014; 26: 13–19.
21 Broughton SE, Petersen J, Theodossis A, Scally SW, Loh KL, Thompson A, van Bergen J, Kooy-Winkelaar Y, Henderson KN, Beddoe T, Tye-Din JA, Mannering SI, Purcell AW, McCluskey J, Anderson RP, Koning F, Reid HH, Rossjohn J: Biased T cell receptor usage directed against human leukocyte antigen DQ8-restricted gliadin peptides is associated with celiac disease. Immunity 2012; 37:611–621.
22 Petersen J, Montserrat V, Mujico JR, Loh KL, Beringer DX, van Lummel M, Thompson A, Mearin ML, Schweizer J, Kooy-WinkelaarY, van Bergen J, Drijfhout JW, Kan WT, La Gruta NL, Anderson RP, Reid HH, KoningF, Rossjohn J: T-cell receptor recognition of HLA-DQ2-gliadin complexes associated with celiac disease. Nat Struct Mol Biol 2014;21:480–488.
23 Petersen J, van Bergen J, Loh K, Kooy-Winkelaar Y, Beringer DX, Thompson A, Bakker SF, Mulder CJ, Ladell K, McLaren JE, Price DA, Rossjohn J, Reid HH, Koning F: Determi-nants of gliadin-specific T cell selection in ce-liac disease. J Immunol 2015;194:6112–6122.
24 Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg Ø, Scott H, Koning F, Jung G, Roepstorff P, Lundin KE, Sollid LM: The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac dis-ease. PLoS Med 2004; 1:e1.
25 Janatuinen EK, Pikkarainen PH, Kemppainen TA, Kosma VM, Järvinen RM, Uusitupa MI, Julkunen RJ: A comparison of diets with and without oats in adults with celiac dis-ease. N Engl J Med 1995;33:1033–1037.
26 Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S, Picard J, Osman M, Quaratino S, Londei M: Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. Lancet 2003;362: 30–37.
27 Barone MV, Troncone R, Auricchio S: Glia-din peptides as triggers of the proliferative and stress/innate immune response of the celiac small intestinal mucosa. Int J Mol Sci 2014; 15: 20518–20537.
28 Koning F: Celiac disease: across the thresh-old of tolerance; in Fasano A, Troncone R, Brandski D (eds): Frontiers in Celiac Dis-ease. Pediatric Adolesc Med. Basel, Karger, 2008, vol 12, pp 82–88.
29 ten Dam M, Van De Wal Y, Mearin ML, Kooy Y, Pena S, Drijfhout JW, Koning F, Van Tol M: Anti-alpha-gliadin antibodies (AGA) in the serum of coeliac children and controls recognize an identical collection of linear epitopes of alpha-gliadin. Clin Exp Immunol 1998; 114: 189–195.
30 van Herpen TWJM, Goryunova SV, van der Schoot J, Mitreva M, Salentijn E, Vorst O, Schenk M, van Veelen PA, Koning F, van Soest L, Vosman B, Bosch D, Hamer RJ, Gilissen LJWJ, Smulders MJM: Alpha-glia-din genes from the A, B, and D genomes of wheat contain different sets of celiac disease epitopes. BMC Genomics 2006;7:1.
31 Spaenij-Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, van Veelen P, Drijfhout JW, Jonker H, van Soest L, Smulders MJM, Bosch D, Gilissen LJWJ, Koning F: Natural variation in toxicity of wheat accessions for celiac disease patients. Potential for selection and breeding of non-toxic wheat varieties. Gastroenterology 2005; 129: 797–806.
32 Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, van Veelen P, Edens L, Koning F: Highly efficient gluten degradation with a newly identified pro-lyl endoprotease: implications for celiac dis-ease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2006; 291:G621–G629.
33 Shan L, Marti T, Sollid LM, Gray GM, Khos-la C: Comparative biochemical analysis of three bacterial prolyl endopeptidases: impli-cations for coeliac sprue. Biochem J 2004;383:311–318.
34 Gass J, Khosla C: Prolyl endopeptidases. Cell Mol Life Sci 2007;64:345–355.
35 Mitea C, Havenaar R, Drijfhout JW, Edens L, Dekking L, Koning F: Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastro-intestinal model: implications for celiac disease. Gut 2008;57:25–32.
36 Tack GJ, van de Water JM, Bruins MJ, Kooy-Winkelaar EM, van Bergen J, Bonnet P, Vreugdenhil AC, Korponay-Szabo I, Edens L, von Blomberg BM, Schreurs MW, Mulder CJ, Koning F: Consumption of gluten with gluten-degrading enzyme by celiac patients: a pilot-study. World J Gastroenterol 2013;19:5837–5847.
37 Salden BN, Monserrat V, Troost FJ, Bruins MJ, Edens L, Bartholomé R, Haenen GR, Winkens B, Koning F, Masclee AA: Ran-domised clinical study: Aspergillus niger -de-rived enzyme digests gluten in the stomach of healthy volunteers. Aliment Pharmacol Ther 2015;42:273–285.
38 Gass J, Bethune MT, Siegel M, Spencer A, Khosla C: Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. Gastroenterology 2007; 133: 472–480.
39 Montserrat V, Bruins MJ, Edens L, Koning F: Influence of dietary components on Asper-gillus niger prolyl endoprotease mediated gluten degradation. Food Chem 2015; 174: 440–445.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):8–14
DOI: 10.1159/000440989

ENFOQUE

El cuadro clínico de la NCGS es variable y es usual que incluya manifestaciones gastrointestinales tipo IBS y síntomas neurológicos, como mente nublada y cefalea

Reimpreso con permiso de: Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26

Sensibilidad al gluten

por Carlo Catassi

Mensajes clave

La sensibilidad no celiaca al gluten (NCGS) es un síndrome caracterizado por síntomas intestinales y extraintestinales relacionados con la ingesta de alimentos que contienen gluten en individuos que no padecen enfermedad celiaca ni alergia al trigo. Los síntomas aparecen horas o días después de la ingesta de gluten. Pese a que la NCGS se desencadena por cereales que contienen gluten, la proteína dietética culpable no se ha identificado y es probable que sea algún componente distinto del gluten.

Conocimiento actual

A diferencia de lo que corresponde a la enfermedad celiaca, no se han identificado factores predisponentes genéticos para NCGS. Los mecanismos de la enfermedad también permanecen sin dilucidarse. Los datos experimentales sugieren el posible papel de una respuesta innata anómala inducida por el trigo, así como alteraciones en la permeabilidad del intestino delgado que provocan la absorción excesiva de péptidos derivados del gluten. Debido a que no se han identificado biomarcadores diagnósticos validados, el protocolo de diagnóstico se basa en establecer un vínculo claro entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas. Los objetivos principales del diagnóstico son evaluar la respuesta clínica del paciente a una dieta libre de gluten y valorar los efectos de la reintroducción del gluten.

Implicaciones prácticas

De manera típica, los pacientes con NCGS se presentan con una combinación de síntomas parecidos a síndrome de intestino irritable (IBS), que incluyen dolor y distensión abdominal, anomalías de los hábitos defecatorios y manifestaciones sistémicas como fatiga, dolor muscular y de articulaciones, dermatitis (eccema o exantema), anemia, y síntomas neurológicos. El tratamiento de la NCGS se basa en la dieta libre de gluten, pero se desconoce si es necesaria la elusión estricta de todos los productos que contienen gluten. Debido a que la NCGS en ocasiones es transitoria, la tolerancia al gluten debe revalorarse con el tiempo. Los pacientes que muestran un reto negativo para gluten deben investigarse para otras posibles causas de síntomas tipo IBS, como intolerancia a los oligo, di y monosacáridos y polioles (FODMAP) o sobrepoblación bacteriana del intestino delgado.

Lectura recomendada

Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Cartenì M, Casolaro V, Fasano A: Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. Int Arch Allergy Immunol. 2010;152:75-80.

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico karger@karger.com

Annales Nestlé

Gluten: ¿amigo o enemigo?

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

Sensibilidad al gluten

Carlo Catassi

Departamento de Pediatría, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia

Mensajes clave

- **La sensibilidad no celiaca al gluten (NCGS) es un síndrome caracterizado por síntomas intestinales y extraintestinales relacionados con la ingesta de alimentos que contienen gluten en individuos que no presentan enfermedad celiaca (CD) o alergia al trigo.**
- **La evidencia indirecta sugiere que la NCGS es más común que la CD, la cual afecta a cerca de 1% de la población general.**
- **El diagnóstico de NCGS se basa en establecer una relación de causa-efecto directa entre la ingesta de gluten y la aparición de síntomas por un reto de gluten estandarizado doble ciego controlado con placebo.**

Palabras clave

Enfermedades relacionadas con gluten · Intolerancia alimenticia · Trigo · Síndrome de intestino irritable · Autismo · Psicosis

Resumen

La sensibilidad no celiaca al gluten (NCGS) es un síndrome caracterizado por síntomas intestinales y extraintestinales relacionados con la ingesta de alimentos que contienen gluten en individuos que no padecen enfermedad celiaca (CD) ni alergia al trigo (WA). Aún no se ha definido la prevalencia de NCGS con claridad. La evidencia indirecta sugiere que la NCGS es ligeramente más común que la CD, la cual afecta a cerca de 1% de la población general. La NCGS se ha descrito más en adultos, en particular en mujeres de 30 a 50 años de edad; sin embargo, también se han informado series de casos pediátricos. Debido a que muchas veces la NCGS es transitoria, en estos pacientes se debe revalorar la tolerancia al gluten en diferentes momentos. La NCGS se caracteriza por síntomas que ocurren habitualmente poco después de la ingesta de gluten, desaparecen al discontinuar el gluten y recaen después de un reto con gluten en las siguientes horas/días. La presentación "clásica" de la NCGS es una combinación de síntomas tipo síndrome de intestino irritable, que incluyen dolor abdominal, distensión, anomalías de los hábitos defecatorios (diarrea o estreñimiento), y manifestaciones sistémicas como "mente nublada", cefalea, fatiga, dolor de músculos y articulaciones, entumecimiento de extremidades, dermatitis (eccema o exantema), depresión, y anemia. En años recientes, varios estudios exploraron la relación entre la ingesta de alimentos que contienen gluten y la aparición de alteraciones/síntomas neurológicos y psiquiátricos, como ataxia, neuropatía periférica, esquizofrenia, autismo, depresión, ansiedad y alucinaciones (la denominada psicosis por gluten). El diagnóstico de NCGS debe considerarse en pacientes con molestias intestinales y/o extraintestinales que presentan resultados normales de los marcadores serológicos para CD y WA bajo una dieta que contiene gluten, por lo general con empeoramiento de los síntomas después de ingerir alimentos ricos en gluten. La NCGS no debe ser sólo un diagnóstico de exclusión.

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel
0250–6807/15/0676–0016$39.50/0

Correo electrónico karger@karger.com

Prof. Carlo Catassi
Via F Corridoni 11
IT–60123 Ancona (Italia)
Correo electrónico c.catassi@univpm.it

Desafortunadamente, ningún marcador tiene la sensibilidad ni la especificidad suficientes para propósitos diagnósticos; por ello, en la actualidad, el diagnóstico de NCGS se basa en establecer una relación causa-efecto clara entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas por un reto estandarizado con gluten doble ciego controlado con placebo.

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Introducción

La sensibilidad no celiaca al gluten (NCGS) es un síndrome caracterizado por síntomas intestinales y extraintestinales relacionados con la ingesta de alimentos que contienen gluten en individuos que no padecen enfermedad celiaca (CD) ni alergia al trigo (WA) [1-2]. El término "NCGS" aún es cuestión de debate y probablemente cambie a "sensibilidad no celiaca al trigo" en el futuro, aunque esto excluiría cereales desencadenantes que contienen gluten, como la cebada y el centeno. A pesar de que los primeros casos de NCGS se informaron en la década de 1970 [4-5], esta entidad se redescubrió en fecha reciente, después del estudio publicado en 2010 por Sapone *et al.* [6], donde se describen las características clínicas y fisiopatológicas de NCGS. Desde entonces, la cantidad de artículos que informan sobre NCGS ha crecido de modo exponencial, así como la cantidad de personas tratadas con una dieta libre de gluten (GFD) debido a la amplia gama de síntomas o condiciones.

Aún no se ha definido con claridad la prevalencia de NCGS. En EU y el Reino Unido, más de 10% de los adultos inician tratamiento con la GFD por distintas razones y durante lapsos diferentes; no obstante, muchos de estos casos son autodiagnósticos no verificados por un médico [7]. La evidencia indirecta sugiere que la NCGS "verdadera" es ligeramente más común que la CD [8], la cual afecta a alrededor de 1% de la población general [9]. La NCGS se ha descrito mayormente en adultos, en particular en mujeres de 30 a 50 años de edad; sin embargo, también se han informado series de casos pediátricos [10-11].

Pese a que la NCGS se desencadena por la ingestión de cereales que contienen gluten, el componente dietético detonante aún no se ha identificado y es posible que incluya proteínas que difieren del gluten en sí, por ejemplo, los inhibidores de amilasa-tripsina (ATI) proteicos del cereal [3]. También se ha acumulado evidencia sobre el posible papel de los denominados FODMAP (oligo, di y monosacáridos y polioles fermentables) en la inducción de las manifestaciones intestinales tipo NCGS, por ejemplo, distensión y/o diarrea [12]. Desafortunadamente, la NCGS y la intolerancia a FODMAP tienen posibilidad de superponerse en cierto grado, ya que los alimentos ricos en gluten, en particular el trigo, también contienen una gran cantidad de FODMAP. A diferencia de la CD, no se ha identificado un factor predisponente en los pacientes con NCGS. El mecanismo patológico aún debe elucidarse. Los datos experimentales parecen indicar un posible papel de una respuesta innata anómala inducida por trigo, así como alteraciones en la permeabilidad del intestino delgado ("intestino permeable") que provocan la absorción excesiva de péptidos derivados del gluten [3, 6, 13].

Cuadro 1. Manifestaciones clínicas de la NCGS (de Catassi *et al.* [39])

Intestinales	Extraintestinales
Muy frecuentes	
Distensión abdominal	Ausencia de bienestar
Dolor abdominal	Fatiga
Comunes	
Diarrea	Cefalea
Dolor epigástrico	Ansiedad
Náusea	Mente nublada
Aerofagia	Entumecimiento
Reflujo gastroesofágico	Dolor articular/muscular
Estomatitis aftosa	Exantema/dermatitis
Hábitos defecatorios alternantes	
Estreñimiento	
Indeterminados	
Hematoquezia	Pérdida ponderal
Fisuras anales	Anemia
	Pérdida del equilibrio
	Depresión
	Rinitis/asma
	Ganancia ponderal
	Cistitis intersticial
	Foliculitis
	Oligo o polimenorrea
	Síntomas sensoriales
	Patrón del sueño alterado
	Alucinaciones
	Labilidad emocional
	Autismo
	Esquizofrenia

La presentación clínica de la NCGS a veces es multisistémica, y se ha informado una amplia gama de signos y síntomas relacionados con esta afección (Cuadro 1). Por lo general, la latencia entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas es breve, de horas a días. Debido a que aún no se cuenta con biomarcadores validados para el diagnóstico de NCGS, el protocolo diagnóstico es engorroso y se basa en la evidencia de una relación clara entre la ingesta de gluten y los síntomas clínicos. El tratamiento de la NCGS se basa en una GFD tipo celiaca, aunque se desconoce si es o no necesaria la elusión estricta de todos los productos relacionados con gluten. Debido a que hay casos de NCGS transitoria, debe revalorarse la tolerancia al gluten en diversas ocasiones en pacientes con NCGS.

En este artículo se explican los aspectos clínicos de la NCGS, así como las estrategias para ayudar a realizar un

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

diagnóstico positivo de NCGS, que no sólo se base en la exclusión de otras alteraciones relacionadas con el gluten.

Cuadro clínico

La NCGS se caracteriza por síntomas que ocurren poco después de la ingesta de gluten, desaparecen al suspenderlo y recaen después de un reto con gluten en las siguientes horas o días.

La presentación "clásica" de la NCGS es una combinación de síntomas tipo síndrome de intestino irritable (IBS), que incluyen dolor y distensión abdominales, anomalías de los hábitos defecatorios (diarrea o estreñimiento), y manifestaciones sistémicas como "mente nublada", cefalea, fatiga, dolor muscular y de articulaciones, entumecimiento de extremidades, dermatitis (eccema o exantema), depresión, y anemia (Cuadro 1). Cuando se observa en una clínica especializada, numerosos pacientes con NCGS ya informan una relación causal entre la ingesta de alimentos que contienen gluten y empeoramiento de los síntomas. En niños, la NCGS se manifiesta con síntomas tipo IBS, como dolor abdominal y diarrea crónica, mientras que las manifestaciones extraintestinales parecen ser menos frecuentes (el síntoma extraintestinal más común es la fatiga) [6, 8, 10, 13].

En años recientes, varios estudios han explorado la relación entre la ingesta de alimentos que contienen gluten y la aparición de alteraciones/síntomas neurológicos y psiquiátricos como ataxia, neuropatía periférica, esquizofrenia, autismo, depresión, ansiedad y alucinaciones (*véanse* los párrafos siguientes).

NCGS e IBS: una relación multifacética

La posibilidad de que la ingesta del gluten desencadene síntomas gastrointestinales tipo IBS en pacientes sin CD se ha confirmado en varios estudios [6, 8, 13, 14].

En 2011, Biesiekierski *et al.* [15] informaron que el gluten causó síntomas gastrointestinales en sujetos sin CD ni IBS investigados en un estudio de asignación aleatoria doble ciego controlado con placebo (DBPC). De 19 pacientes (68%) en el grupo con gluten, 13 informaron que los síntomas no se controlaron de manera adecuada, en comparación con 6 de 15 (40%) con placebo. En una escala visual análoga, los pacientes se encontraron significativamente peor con gluten en el lapso de una semana respecto a los síntomas globales, dolor, distensión, satisfacción con la consistencia de las heces y fatiga [15]. Sin embargo, en un estudio subsecuente, el mismo grupo de investigación alcanzó conclusiones diferentes basadas en los resultados de un estudio cruzado DBPC diferente en 37 pacientes con IBS/NCGS autoinformados [16]. Los pacientes se asignaron al azar para recibir una dieta reducida en carbohidratos de cadena corta poco fermentables de poca absorción (FODMAP) y luego recibieron un reto con proteína ya sea de gluten o de suero. En todos los participantes, las molestias gastrointestinales mejoraron de modo consistente durante la ingesta reducida de FODMAP, pero empeoraron de manera significativa a un grado similar cuando la dieta incluyó proteínas de gluten o de suero de leche. La lista de FODMAP incluye fructanos, galactanos, fructosa y polioles contenidos en varios alimentos, como el trigo, vegetales y derivados lácteos. Estos resultados dan paso a la posibilidad de que el efecto positivo de la GFD en pacientes con IBS sea una consecuencia inespecífica de reducir la ingesta de FODMAP, dado que el trigo es una de las posibles fuentes de FODMAP [16]. No obstante, debe señalarse que los FODMAP no pueden ser los responsables totales y exclusivos de los síntomas informados por individuos con NCGS, ya que los pacientes presentan resolución de los síntomas al recibir una GFD a pesar de continuar la ingesta de FODMAP de otras fuentes, como las leguminosas.

Los FODMAP no siempre son los responsables totales y exclusivos de los síntomas informados por individuos con NCGS

Carroccio *et al.* [17] revisaron los expedientes clínicos de todos los individuos con una presentación tipo IBS diagnosticados con NCGS mediante un reto DBPC entre 2001 y 2011. Se incluyó a 276 pacientes con NCGS. Se identificaron dos grupos que mostraban características clínicas distintas: NCGS sola y NCGS relacionada con hipersensibilidad alimenticia múltiple. Como grupo, los pacientes con NCGS mostraron una mayor frecuencia de anemia, pérdida ponderal, intolerancia al trigo autoinformada, atopia coexistente y alergia alimenticia en la infancia en comparación con los controles con IBS. También hubo una mayor frecuencia de pruebas séricas positivas para anticuerpos IgG/IgA antigliadina (AGA) y activación de basófilos citométrica en el estudio *in vitro*. La característica histológica principal de los pacientes con NCGS fue la infiltración eosinofílica de la mucosa duodenal y colónica. Los pacientes con NCGS sola se caracterizaron por manifestaciones clínicas muy similares a las encontradas en pacientes con CD. Los pacientes con sensibilidad alimenticia múltiple se caracterizaron por manifestaciones clínicas similares a las encontradas en pacientes alérgicos. Con base en estos datos, los autores sugirieron la existencia de dos poblaciones diferentes de individuos con NCGS, una con características más similares a CD y la otra con características que apuntan a alergia alimenticia [17].

En resumen, estos nuevos estudios parecen indicar que la fisiopatología del IBS es mucho más compleja de lo que se pensaba y puede incluir diferentes factores no mutuamente

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

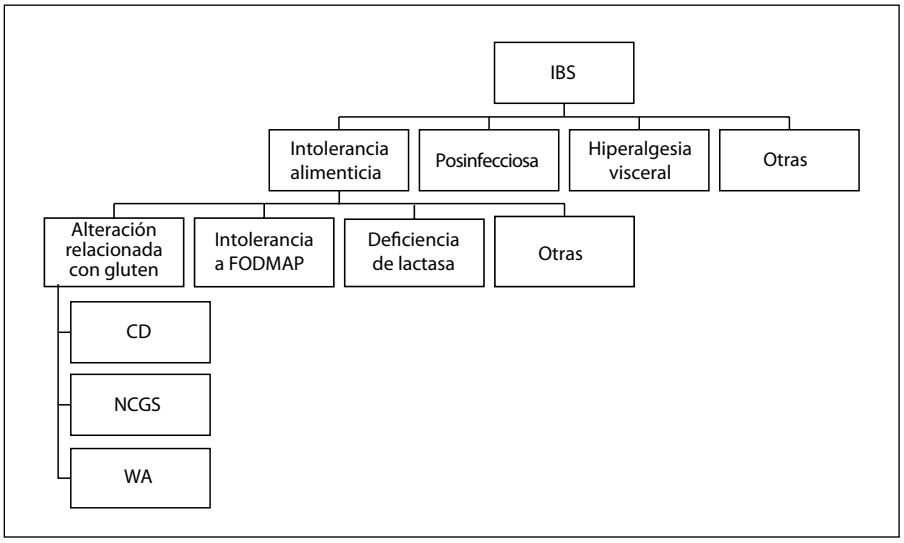


Fig. 1. Clasificación fisiopatológica del IBS.

excluyentes relacionados con los alimentos (gluten, FODMAP, etc.), junto con componentes microbianos, genéticos y psicosomáticos (Fig. 1). Desde este punto de vista, muchos de los casos "idiopáticos" de IBS tienen posibilidad de encontrar una solución terapéutica mediante la planeación de un algoritmo diagnóstico por pasos.

Sensibilidad al gluten y autismo

La investigación respecto al efecto de la dieta y la nutrición sobre los trastornos del espectro autista (ASD) ha aumentado en las últimas dos décadas, en particular sobre los síntomas de hiperactividad y atención. Una de las intervenciones más populares para ASD es la dieta libre de gluten y caseína (GFCF). El posible efecto de la GFCF en niños con autismo no se debe a una CD subyacente, dado que una relación entre estas dos afecciones nunca se ha confirmado con claridad por estudios de detección serológica [18]. Se ha propuesto la hipótesis de que algunos síntomas son resultado de péptidos opioides formados por la degradación incompleta de alimentos que contienen gluten y caseína. Se ha sospechado una mayor permeabilidad intestinal, conocida como "síndrome de intestino permeable", en ASD como parte de la cadena de eventos que permite que estos péptidos crucen la membrana intestinal, entren al torrente sanguíneo y atraviesen la barrera hematoencefálica, para afectar el sistema opiáceo endógeno y la neurotransmisión dentro del sistema nervioso (Fig. 2). Se piensa que el exceso de opioides resultante provoca las conductas observadas en el ASD, y la eliminación de estas sustancias de la dieta podría determinar un cambio en los comportamientos autistas [19]. La conexión entre autismo e intestino permeable ha encendido un fuerte debate dentro de la comunidad científica, que se encuentra lejos de haber terminado.

Un estudio reciente ha informado un gran porcentaje de valores anómalos de permeabilidad intestinal [establecidos por la razón lactulosa/manitol (L/M)] en pacientes con autismo y sus familiares, en comparación con sujetos normales. Los pacientes con autismo que reciben una dieta GFCF tuvieron valores significativamente menores en la prueba de permeabilidad intestinal en comparación con los que recibieron una dieta sin restricciones y los controles [20]. No obstante, Robertson *et al.* [21] no detectaron cambios en la permeabilidad intestinal en una pequeña cohorte de niños con ASD. En otro estudio, ni la razón L/M ni las puntuaciones conductuales difirieron entre los grupos expuestos a gluten/lácteos o placebo. Se identificó que los cambios observados fueron pequeños y no tuvieron significancia clínica. Empero, este estudio reconoció no haber tenido el poder suficiente para mostrar diferencias pequeñas [22]. El hallazgo de anticuerpos tipo IgG dirigidos contra antígenos alimenticios se considera evidencia indirecta de una mayor permeabilidad intestinal. Los niños con autismo tienen cifras significativamente mayores de IgG AGA (pero no IgA) en comparación con los controles saludables, en particular aquellos con síntomas gastrointestinales [23]. Estudios recientes confirmaron estos hallazgos, además de informar un incremento de los anticuerpos contra otros tantos alérgenos alimenticios, incluidas la caseína y la leche entera [24].

A pesar de su popularidad, la eficacia de la dieta GFCF para mejorar la conducta autista aún debe comprobarse. Una revisión Cochrane de 2008 informó que sólo dos estudios pequeños de asignación aleatoria controlados investigaron el efecto de la dieta GFCF en niños con ASD (n = 35). Sólo hubo tres efectos terapéuticos significativos a favor de la intervención dietética: rasgos autistas globales, diferencia media (MD) = −5.60; aislamiento social, MD = −3.20, y habilidad global para comunicarse e interactuar, MD = 1.70. Además, tres desenlaces no fueron diferentes entre el grupo de tratamiento y el control, mientras que las diferencias para 10 desenlaces no pudieron analizarse debido a que los datos estaban

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

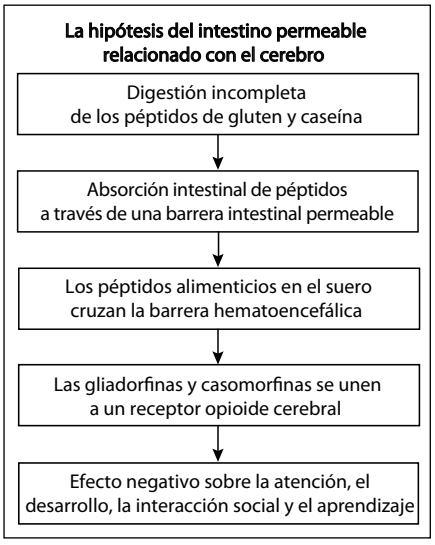


Fig. 2. Mecanismo sugerido que conecta la ingesta de gluten/caseína con los efectos negativos de la función cerebral.

sesgados. La revisión concluyó que la evidencia que sostiene la eficacia de estas dietas es escasa, y son necesarios estudios controlados de asignación aleatoria de buena calidad a gran escala [25]. Una revisión sistemática publicada en fecha reciente alcanzó conclusiones similares sobre el tratamiento de niños autistas con la dieta GFCF [26].

En un estudio de asignación aleatoria controlado de dos etapas sobre la dieta GFCF en niños con ASD, Whiteley *et al*. [27] informaron en fecha reciente mejorías significativas de los grupos en las conductas autistas centrales y relacionadas después de 8 y 12 meses con la dieta. Los resultados mostraron un cambio menos dramático entre los niños que llevaron la dieta durante 8 meses y aquellos que la siguieron por 24 meses, lo cual quizá refleja un efecto meseta [27]. Los análisis indicaron que varios factores eran potencialmente pertinentes para una respuesta positiva a la intervención dietética en términos de la presentación de los síntomas. Se encontró que la edad era el factor predictivo más fuerte de respuesta, ya que los participantes entre 7 y 9 años de edad parecieron obtener mayor beneficio con la intervención dietética [28]. Estos datos sugieren que eliminar el gluten de la dieta logra un impacto positivo sobre la evolución clínica de algunos niños diagnosticados con ASD, lo cual indica que el autismo puede ser parte de un espectro de la NCGS, por lo menos en algunos casos.

Por otra parte, se realizó recientemente un estudio de asignación aleatoria controlado doble ciego a 74 niños con ASD, conducta maladaptativa grave y mayor cantidad de proteína de unión a ácidos grasos intestinales en orina (I-FABP, un marcador de daño del enterocito) a fin de evaluar la "toxicidad" potencial del gluten/caseína. Los individuos con una dieta regular se asignaron al azar para recibir un suplemento con gluten/caseína o placebo durante 7 días. La administración de gluten/caseína a niños con ASD durante una semana no incrementó la conducta maladaptativa, la intensidad de los síntomas gastrointestinales ni la excreción urinaria de I-FABP [29].

En conclusión, se requieren más estudios para aclarar el posible vínculo entre la ingesta de gluten y el autismo. Las investigaciones son particularmente necesarias para identificar fenotipos basados en la mejor respuesta y la ausencia de respuesta a modificaciones en la dieta y evaluar cualquier correlación biológica antes de considerar una intervención dietética.

NCGS y otros trastornos psiquiátricos

En reportes de la década de 1960 se menciona una relación entre esquizofrenia y CD [30]. En 1986, un estudio controlado doble ciego sobre una dieta libre de gluten/llena de gluten en 24 pacientes, realizado por Vlissides *et al*. [31] demostró cambios en el perfil sintomático de pacientes con esquizofrenia en respuesta a la exclusión del gluten de la dieta. Por otra parte, un pequeño estudio ciego realizado por Potkin *et al*. [32] no encontró diferencias en el estado clínico de ocho pacientes esquizofrénicos hospitalizados que llevaron a cabo un reto con gluten durante 5 semanas en un contexto hospitalario, con mediciones basadas en la Escala de Evaluación Psiquiátrica Breve. Un estudio subsecuente dirigido por Storms *et al*. [33] evaluó a 26 pacientes psiquiátricos recluidos asignados a una dieta libre de gluten o rica en el mismo. No se encontraron diferencias entre los grupos con respecto a su desempeño en una batería de pruebas psicológicas. Un estudio reciente que utilizó muestras de sangre de los Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) encontró que 5.5% de los individuos con esquizofrenia tenían cifras altas de anticuerpos anti-tTG (comparadas con 1.1% en la muestra sana de control) y 23.1% tenía positividad para IgG AGA comparada con 3.1% de los controles. Es interesante señalar que una gran proporción de sujetos positivos para transglutaminasa (tTG) fue negativa para anticuerpos endomisiales (EMA), cuestionando la posibilidad de que su positividad para tTG se relacionara con CD. De hecho, sólo 2% de los pacientes esquizofrénicos satisfizo los criterios diagnósticos de CD (positivos tanto para anti-tTG como para EMA), lo que llevó a cuestionar el papel de la CD en la esquizofrenia [34]. Estudios adicionales revelaron que la mayoría de los individuos positivos para tTG era positiva para tTG-6, lo que sugiere que estos anticuerpos son más un biomarcador de neuroinflamación que de CD [35]. Este estudio indicó la existencia de una respuesta inmune específica al gluten en algunos de estos pacientes, quizá relacionada con NCGS. Otros estudios confirmaron la elevada prevalencia de AGA entre pacientes con esquizofrenia [36]; empero, el mecanismo exacto subyacente a la mejora observada de los síntomas con la GFD en algunos pacientes ha permanecido elusiva.

En 2014, Genuis y Lobo [37] informaron sobre una paciente que, alrededor de los 4 o 5 años de edad, comenzó con problemas gastrointestinales recurrentes, así como con alu-

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

cinaciones visuales y auditivas frecuentes. Estas experiencias ocurrieron casi a diario y eran "sólo parte de su vida". A medida que creció, también encontró que estas alucinaciones eran bastante distractoras, de tal manera que no era capaz de concentrarse en la escuela o estudiar para los exámenes. Las alucinaciones y los síntomas gastrointestinales continuaron a lo largo de la niñez y la adolescencia, provocando que perdiera gran parte de sus estudios. Después de acudir a conferencias sobre nutrición, conoció acerca de la sensibilidad al gluten y decidió abstenerse de la exposición al mismo. Después de eliminar el gluten, los síntomas gastrointestinales y las alucinaciones se detuvieron por completo y observó una mejoría en su capacidad para concentrarse. Cuando volvía a exponerse al gluten, ocurría una recaída consistente en las siguientes 3 a 5 h que provocaba desorientación significativa y fuga de la realidad. Al seguimiento (más de 12 meses de tratamiento con la GFD), no presentó otra exposición al gluten y permaneció libre de síntomas, sin molestas intestinales ni neuropsiquiátricas [37].

Un informe de caso similar se publicó en fecha reciente por otro grupo. Se describió la historia clínica de una adolescente de 14 años de edad que se atendió en la clínica de gastroenterología ambulatoria debido a síntomas psicóticos con una relación aparente con el consumo de gluten. Dos años antes, había presentado irritabilidad creciente, cefalea diaria y dificultad para concentrarse. Sus síntomas empeoraron con cefalea intensa, problemas de sueño y alteraciones conductuales, aunados a varios episodios de llanto sin motivo y apatía. Los síntomas psiquiátricos empeoraron y comenzó con alucinaciones complejas. Éstas implicaban escenas vívidas con sus familiares (escuchaba a su hermana y su novio discutiendo) o sin ellos (veía salir personas de la televisión que la seguían y asustaban), y alucinaciones hipnagógicas cuando estaba relajada en cama. Una valoración neurológica y general precisa produjo resultados normales. Se inició tratamiento con olanzapina, pero los síntomas psicóticos persistieron. En noviembre de 2013, debido a síntomas gastrointestinales y pérdida ponderal, consultó un nutriólogo, el cual recomendó una GFD como tratamiento sintomático; de manera inesperada, durante la primera semana de GFD, no sólo los síntomas intestinales sino también los psiquiátricos mejoraron de modo dramático. Después de algunos meses, un reto con gluten DBPC confirmó definitivamente el diagnóstico de NCGS. Durante el segundo día de reto con harina de trigo, presentó cefalea, halitosis, distensión abdominal, alteraciones del estado de ánimo, fatiga y poca concentración, además de tres episodios de alucinaciones intensas (que se videograbaron). Rechazó continuar con el reto de gluten y regresó a la GFD, con una regresión completa y persistente de todos los síntomas en la siguiente semana. Este informe de caso confirma la existencia de "psicosis por gluten" como posible manifestación de NCGS [38].

El diagnóstico de NCGS se basa en establecer una relación de causa-efecto directa entre la ingesta de gluten y la aparición de síntomas

Hacia un diagnóstico positivo de NCGS

El diagnóstico de NCGS debe considerarse en todos los pacientes con molestias intestinales y/o extraintestinales persistentes con resultados normales para los marcadores serológicos de CD y WA que reciben una dieta que contiene gluten, que por lo general informan empeoramiento de los síntomas después de ingerir alimentos ricos en gluten. El Cuadro 2 muestra las características principales de NCGS, CD y WA que ayudan a diferenciar estas distintas formas de alteraciones relacionadas con el gluten. Sin embargo, la NCGS no debe ser sólo un diagnóstico de exclusión. Es desafortunado que ningún biomarcador cuente con la suficiente sensibilidad y especificidad para propósitos diagnósticos (*véase* más adelante). Por lo tanto, el diagnóstico de NCGS se basa en establecer una relación causa-efecto clara entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas. El objetivo de la confirmación del diagnóstico de NCGS debe ser doble: (1) valorar la respuesta clínica a la GFD y (2) medir el efecto de reintroducir el gluten después de un periodo de tratamiento con la GFD. La estandarización del procedimiento diagnóstico se ha publicado en fecha reciente por un grupo de expertos con reconocimiento internacional sobre alteraciones relacionadas con gluten, y aquí se presenta un resumen [39].

En los pasos 1 y 2, la evaluación clínica se realiza mediante un instrumento autoadministrado que incorpora una versión modificada de la Escala de Valoración de los Síntomas Gastrointestinales (GSRS) [40]. El instrumento también incluye elementos que valoran las manifestaciones extraintestinales de NCGS. El paciente identifica 1 a 3 síntomas principales que se valorarán de modo cuantitativo mediante una escala de evaluación numérica con una puntuación de 1 (leve) a 10 (grave).

Paso 1: Definición de un paciente que responde a GFD (paciente que recibe una dieta que contiene gluten)

Las siguientes acciones establecen la respuesta a la GFD. (1) Se valora al paciente que recibe una dieta que contiene gluten mediante el cuestionario diagnóstico a las semanas –2, –1 y 0 para establecer los síntomas basales. (2) Al momento 0, se inicia la GFD después de una explicación detallada (de preferencia por un dietista). (3) Línea de tiempo: por lo menos 6 semanas de GFD verificada. Aunque se espera la mejora de los síntomas poco después de iniciar la GFD, se requiere la observación prolongada para investigar de modo adecuado la

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

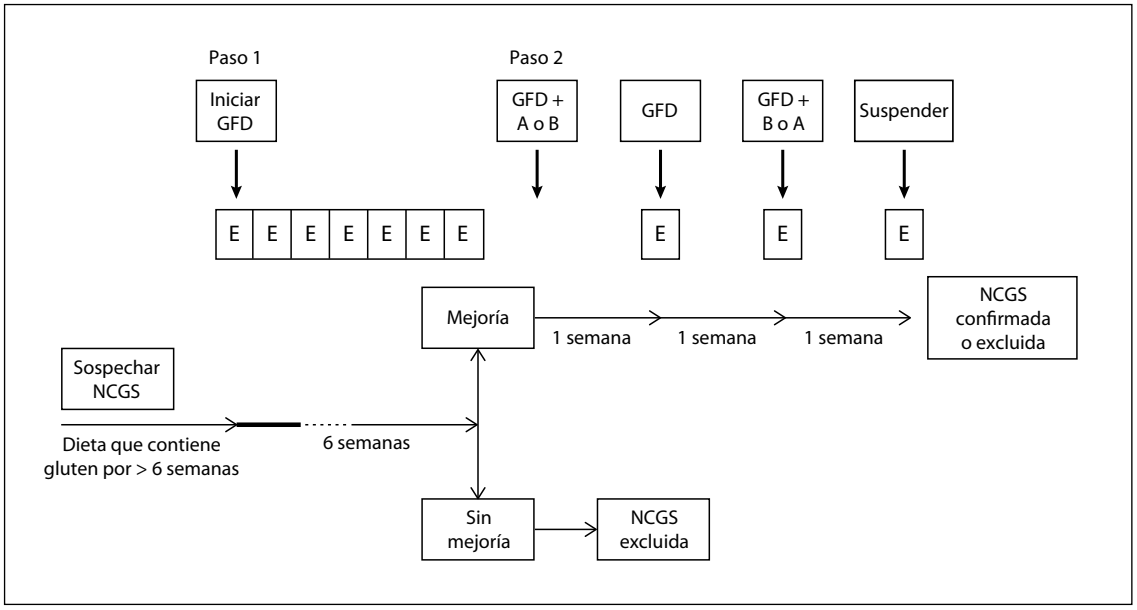


Fig. 3. Diagrama de flujo de la confirmación diagnóstica de NCGS. A y B son los vehículos orales que contienen gluten o placebo en el reto DBPC (de Catassi *et al.* [39]).

relación causal, en particular por los síntomas fluctuantes (p. ej., cefalea). (4) Registro de datos: completar el cuestionario semanal de la semana 0 a la 6. El paciente identificará 1 a 3 síntomas principales. Los parámetros de respuesta son aquellos con una puntuación inicial mínima de tres en la escala de valoración numérica.

La respuesta se valora para cada parámetro por separado. Una respuesta sintomática es una disminución de por lo menos 30% de la puntuación inicial. Los respondientes se definen como los pacientes que satisfacen los criterios de respuesta (reducción > 30% de 1 a 3 síntomas principales sin empeoramiento de los otros) por lo menos 50% del periodo de observación (por lo menos 3 de 6 evaluaciones semanales). El diagnóstico de NCGS se excluye en los individuos que no muestran mejoría sintomática después de 6 semanas de GFD. Los pacientes que no responden a GFD deben investigarse para otras posibles causas de los síntomas, como intolerancia a FODMAP o sobrepoblación bacteriana del intestino delgado.

Paso 2: El reto con gluten (paciente que recibe GFD)

En vista de la elevada tasa actual de sensibilidad percibida al gluten y el posible efecto placebo de cualquier intervención dietética, la demostración del reto DBPC con gluten de una relación clara entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas es un paso crucial en el algoritmo diagnóstico de NCGS. El reto con gluten incluye un reto de una semana seguido por una semana de aclaramiento (eliminación) con una GFD estricta y por la fase cruzada al segundo reto de una semana. En ocasiones, la duración del periodo de reto puede durar más de una semana en pacientes que muestran síntomas fluctuantes, como cefalea o problemas neuroconductuales. El cuestionario se autoadministra y se llena al inicio y a diario durante el primer reto de 7 días (o menos si los síntomas evitan completar la semana), el periodo de eliminación, y el segundo reto de 7 días (o menos si los síntomas evitan completar la semana). Durante el reto, el paciente identificará e informará 1 a 3 síntomas principales, sin completar necesariamente todo el cuestionario. Debe detectarse una variación de por lo menos 30% entre el reto con gluten y el placebo para distinguir un resultado positivo de uno negativo.

La dosis sugerida de gluten a utilizar para el reto es 8 g, la cual se acerca a la ingesta diaria de gluten en países occidentales (10 a 15 g) [41] y es fácil de mezclar con el vehículo. Respecto al "vehículo" para el gluten, se desaconseja el uso de cápsulas de gelatina. El vehículo más adecuado aún debe desarrollarse, pero podría ser en la forma de una barra de muesli, pan o panqué, quizá diferente para niños y adultos. El vehículo debe contener el gluten cocinado distribuido de manera homogénea y debe analizarse para conocer exactamente el contenido del factor ATI proinflamatorio. El gluten debe prepararse/evaluarse para la bioactividad de ATI de manera que contenga por lo menos 0.3 g de ATI/8 g de gluten o debe utilizarse gluten con un contenido definido de ATI. El vehículo debe carecer de FODMAP. El vehículo del placebo debe estar libre de gluten. Las preparaciones de gluten y pla-

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

Cuadro 2. Características distintas de CD, WA y NCGS

	CD	NCGS	WA
Intervalo temporal entre la exposición al gluten y el inicio de los síntomas	Semanas-años	Horas-días	Minutos-horas
Patogenia	Autoinmunidad (inmunidad innata y adaptativa)	¿Inmunidad? (¿inmunidad innata?)	Respuesta inmune alérgica
HLA	Restringida a HLA-DQ2/8 (casos positivos, ~ 97%)	No está restringida a HLA-DQ2/8 (casos positivos para DQ2/8, 50%)	No está restringida a HLA-DQ2/8 (casos positivos en la población general, 35-40%)
Autoanticuerpos	Casi siempre presentes	Siempre ausentes	Siempre ausentes
Enteropatía	Casi siempre presentes	Siempre ausentes (aumento leve de IEL)	Siempre ausentes (eosinófilos en la lámina propia)
Síntomas	Tanto intestinales como extraintestinales (no se distingue de GS y WA con síntomas GI)	Tanto intestinales como extraintestinales (no se distingue de CD y WA con síntomas GI)	Tanto intestinales como extraintestinales (no se distingue de CD y GS con síntomas GI)
Complicaciones	Comorbilidades, complicaciones a largo plazo	Ausencia de comorbilidades a largo plazo (requiere estudios a largo plazo para confirmarla)	Ausencia de comorbilidades, complicaciones a corto plazo (incluida anafilaxia)

GI = gastrointestinal; GS = sensibilidad al gluten; IEL = linfocitos intraepiteliales.

cebo deben ser indistinguibles visual y gustativamente, tener la misma textura, y presentar equilibrio de fibra, carbohidratos, grasa y tal vez hasta de proteína.

El umbral de un aumento de 30% de los síntomas es un tanto arbitrario y requiere validación científica. Los pacientes que muestran un reto negativo con gluten deben investigarse para posibles causas de síntomas tipo IBS, como intolerancia a FODMAP o sobrepoblación bacteriana del intestino delgado. El diagrama de flujo sugerido para la confirmación del diagnóstico de NCGS se muestra en la Figura 3.

Búsqueda de un biomarcador de NCGS

En la actualidad no se dispone de biomarcadores específicos ni sensibles para NCGS con propósitos clínicos; sin embargo, la investigación sobre este tema se encuentra muy activa. Una búsqueda en www.clinicaltrials.gov realizada el 24 de julio de 2015 identificó siete estudios en proceso para evaluar los índices serológicos y mucosos que podrían encontrar una aplicación para diagnosticar NCGS en la práctica clínica.

Aunque los marcadores serológicos más específicos para CD, como IgA anti-tTG y EMA, son negativos en pacientes con NCGS por definición, la IgG AGA contra la gliadina nativa se encuentra con mayor frecuencia en estos casos (cerca de 50%) que en la población general, cuando se ingiere una dieta que contiene gluten. Por ello, los hallazgos de positividad aislada para IgG-AGA pueden ser una clave para diagnosticar NCGS. Cuando es positiva al inicio, la IgG AGA se normaliza con mayor rapidez en pacientes con NCGS que con CD después de iniciar tratamiento con la GFD [42]. No obstante, no se recomienda la determinación de IgG AGA para uso clínico debido a su poca especificidad.

La hipótesis de un "intestino permeable" como causa de las alteraciones neuropsiquiátricas relacionadas con NCGS se ha mencionado antes, así como las limitaciones de las pruebas de laboratorio que exploran la función intestinal de barrera, como la prueba de L/M.

Conclusiones

La NCGS es un planeta "redescubierto" en fecha reciente en el sistema astronómico de las alteraciones relacionadas con el gluten, que parece ser incluso mayor que el planeta de la CD (Fig. 4). Durante la última década, la cantidad tanto de pacientes como de publicaciones sobre NCGS ha aumentado en gran medida. El cuadro clínico de la NCGS es variable y por lo general incluye manifestaciones gastrointestinales tipo IBS y síntomas neurológicos, como mente nublada y cefalea. El tratamiento con la GFD logra mejorar de manera dramática la calidad de vida de estos pacientes, para quienes se tiene muy poca certeza y numerosos "agujeros negros" en el conocimiento. En vista de la elevada tasa actual de sensibilidad percibida al gluten y el posible efecto placebo de cualquier intervención dietética, la demostración de una relación clara entre la ingesta de gluten y la aparición de los síntomas por medio de un reto DBPC con gluten es un paso crucial en el algoritmo diagnóstico de NCGS. Aunque los biomarcadores validados para el diagnóstico de NCGS aún no están disponibles, los criterios diagnósticos para NCGS descritos en este artículo pueden ayudar a optimizar la atención clínica, evitar el auto-

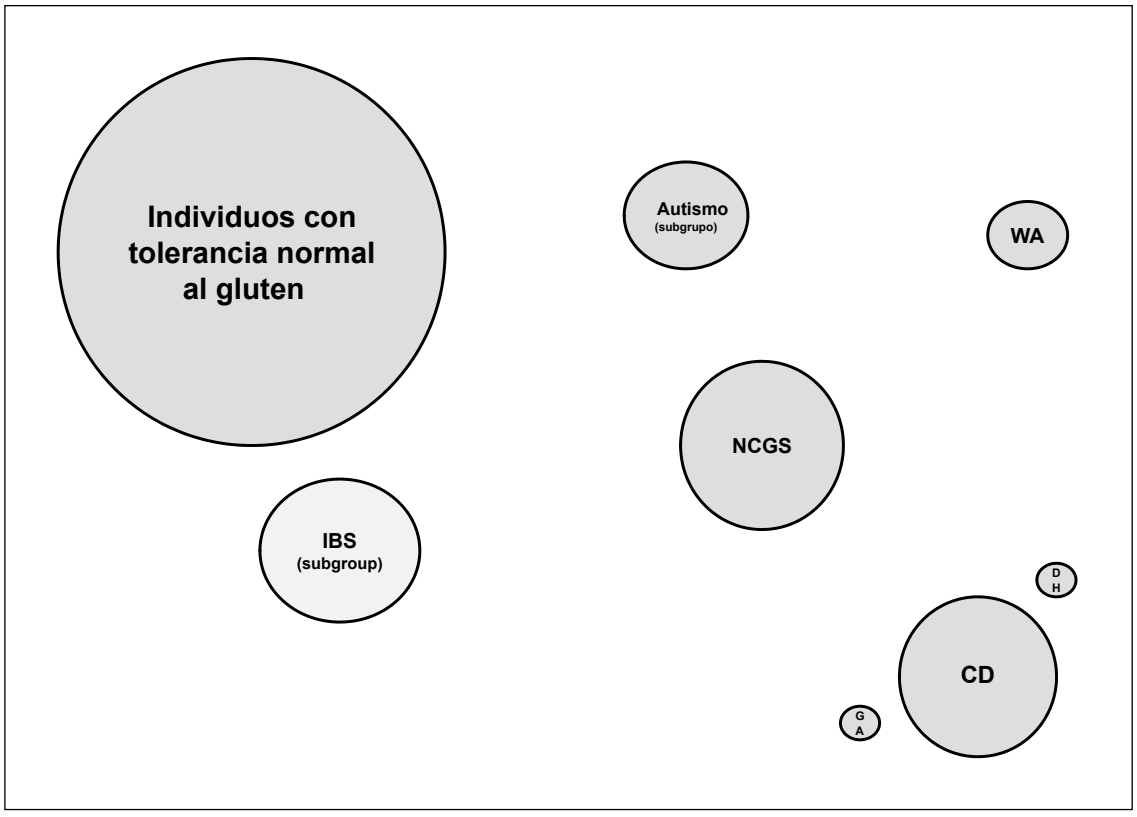


Fig. 4. El sistema astronómico de las alteraciones relacionadas con gluten. Más allá del planeta autoinmune de la CD y satélites relacionados, como la dermatitis herpetiforme (DH) y la ataxia por gluten (GA), otros planetas identificados incluyen WA, NCGS y subgrupos de pacientes afectados por autismo e IBS.

diagnóstico y avanzar en la ciencia de la NCGS. La identificación y validación de los biomarcadores será fundamental para obtener información sobre la patogenia de la NCGS, el establecimiento de los factores desencadenantes de esta afección y la magnitud de esta patología.

Conflictos de intereses

Carlo Catassi ha recibido fondos por consultoría del Dr. Schär Institute y Menarini Diagnostics. La redacción de este artículo se llevó a cabo mediante fondos del Nestlé Nutrition Institute.

Referencias

1 Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Rostami K, Sanders DS, Schumann M, et al: Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMC Med 2012; 10: 13.
2 Catassi C, Bai JC, Bonaz B, Bouma G, Calabrò A, Carroccio A, Castillejo G, Ciacci C, Cristofori F, Dolinsek J, et al: Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. Nutrients 2013; 5: 3839–3853.
3 Schuppan D, Zevallos V: Wheat amylase trypsin inhibitors as nutritional activators of innate immunity. Dig Dis 2015; 33: 260–263.
4 Ellis A, Linaker BD: Non coeliac gluten sensitivity? Lancet 1978; 1: 1358–1359.
5 Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R, Thompson RA, Allan RN, Cooke WT: Gluten-sensitive diarrhea without evidence of celiac disease. Gastroenterology 1981; 81:192–194.
6 Sapone A, Lammers K.M, Mazzarella G, Mikhailenko I, Cartenì M, Casolaro V, Fasano A: Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. Int Arch Allergy Immunol 2010; 152: 75–80.
7 Aziz I, Lewis NR, Hadjivassiliou M, Winfield-SN, Rugg N, Kelsall A, Newrick L, Sanders DS: A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care. Eur J Gastroenterol Hepatol 2014; 26:33–39.
8 Volta U, Bardella MT, Calabrò A, Troncone R, Corazza GR; Study Group for Non-Celiac Gluten Sensitivity: An Italian prospective multicenter survey on patients suspected of having non-celiac gluten sensitivity. BMC Med 2014; 12: 85.
9 Lionetti E, Gatti S, Pulvirenti A, Catassi C: Celiac disease from a global perspective. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2015; 29: 365–379.
10 Francavilla R, Cristofori F, Castellaneta S, Polloni C, Albano V, Dellatte S, Indrio F, Cavallo L, Catassi C: Clinical, serologic, and histologic features of gluten sensitivity in children. J Pediatr 2014; 164: 463–467.
11 Feldman MF, Bird JA: Clinical, serologic, and histologic features of gluten sensitivity in children. Pediatrics 2014; 134(suppl 3): S157–S158.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

12 Gibson PR, Varney J, Malakar S, Muir JG: Food components and irritable bowel syndrome. Gastroenterology 2015; 148: 1158–1174.
13 Vazquez-Roque MI, Camilleri M, Smirk T, Murray JA, Marietta E, O'Neill J, Carlson P, Lamsam J: A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome- diarrhea: effects on bowel frequency and intestinal function. Gastroenterology 2013; 144: 903–911.
14 Di Sabatino A, Volta U, Salvatore C, Biancheri P, Caio G, De Giorgio R, Di Stefano M, Corazza GR: Small amounts of gluten in subjects with suspected nonceliac gluten sensitivity: a randomized, double-blind, placebocontrolled, cross-over trial. Clin Gastroenterol Hepatol 2015;13:1604–1612.e3.
15 Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, Barrett JS, Haines M, Doecke JD, Shepherd SJ, Muir JG, Gibson PR: Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebocontrolled trial. Am J Gastroenterol 2011; 106: 508–514.
16 Biesiekirski JR, Peters SL, Newnham ED, Rosella O, Muir JG, Gibson PR: No effects of gluten in patients with self-reported nonceliac gluten sensitivity following dietary reduction of low-fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. Gastroenterology 2013; 145, 320–328.
17 Carroccio A, Mansueto P, Iacono G, Soresi M, D'Alcamo A, Cavataio F, Brusca I, Florena AM, Ambrosiano G, Seidita A, Pirrone G, Rini GB: Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity. Am J Gastroenterol 2012; 107: 1898–1906.
18 Batista IC, Gandolfi L, Nobrega YK, Almeida RC, Almeida LM, Campos Junior D, Pratesi R: Autism spectrum disorder and celiac disease: no evidence for a link. Arq Neuropsiquiatr 2012; 70: 28–33.
19 Marcason W: What is the current status of research concerning use of a gluten-free, casein-free diet for children diagnosed with autism? J Am Diet Assoc 2009; 109: 572.
20 De Magistris L, Familiari V, Pascotto A, Sapone A, Frolli A, Iardino P, Carteni M, de Rosa M, Francavilla R, Riegler G, et al: Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 51: 418–424.
21 Robertson MA, Sigalet DL, Holst JJ. Meddings JB, Wood J, Sharkey KA: Intestinal permeability and glucagon-like peptide-2 in children with autism: a controlled pilot study. J Autism Dev Disord 2008; 38: 1066–1071.
22 Navarro F, Pearson DA, Fatheree N, Mansour R, Hashmi SS, Rhoads JM: Are 'leaky gut' and behavior associated with gluten and dairy containing diet in children with autism spectrum disorders? Nutr Neurosci 2015; 18: 177–185.
23 Lau NM, Green PH, Taylor AK, Hellberg D, Ajamian M, Tan CZ, Kosofsky BE, Higgins JJ, Rajadhyaksha AM, Alaedini A: Markers of celiac disease and gluten sensitivity in children with autism. PLoS One 2013; 8:e66155.
24 De Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R: Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. Biomed Res Int 2013; 2013: 729349.
25 Millward C, Ferriter M, Calver S, Connell-Jones G: Gluten- and casein-free diets for autistic spectrum disorder. Cochrane Database Syst Rev 2008; 2:CD003498.
26 Marí-Bauset S, Zazpe I, Mari-Sanchis A, Llopis-González A, Morales-Suárez-Varela M: Evidence of the gluten-free and casein-free diet in autism spectrum disorders: a systematic review. J Child Neurol 2014; 29: 1718–1727.
27 Whiteley P, Haracopos D, Knivsberg AM, Reichelt KL, Parlar S, Jacobsen J, Seim A, Pedersen L, Schondel M, Shattock P: The ScanBrit randomised, controlled, singleblind study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders. Nutr Neurosci 2010; 13: 87–100.
28 Pedersen L, Parlar S, Kvist K, Whiteley P, Shattock P: Data mining the ScanBrit study of a gluten- and casein-free dietary intervention for children with autism spectrum disorders: behavioural and psychometric measures of dietary response. Nutr Neurosci 2014; 17: 207–213.
29 Pusponegoro HD, Ismael S, Firmansyah A, Sastroasmoro S, Vandenplas Y: Gluten and casein supplementation does not increase symptoms in children with autism spectrum disorder. Acta Paediatr 2015, Epub ahead of print.
30 Dohan FC: Cereals and schizophrenia data and hypothesis. Acta Psychiatr Scand 1966; 42: 125–152.
31 Vlissides DM, Venulet A, Jenner FA: A double-blind gluten-free/gluten-load controlled trial in a secure ward population. Br J Psychiatry 1986; 148: 447–452.
32 Potkin SG, Weinberger D, Kleinman J, Potkin SG, Weinberger D, Kleinman J, Nasrallah H, Luchins D, Bigelow L, Linnoila M, et al: Wheat gluten challenge in schizophrenic patients. Am J Psychiatry 1981; 138: 1208–1211.
33 Storms LH, Clopton JM, Wright C: Effects of gluten in schizophrenics. Arch Gen Psychiatry 1982; 39: 323–327.
34 Cascella NG, Kryszak D, Bhatti B, Gregory P, Kelly DL, Mc Evoy JP, Fasano A, Eaton WW: Prevalence of celiac disease and gluten sensitivity in the United States clinical antipsychotic trials of intervention effectiveness study population. Schizophr Bull 2011; 37:94–100.
35 Cascella NG, Santora D, Gregory P, Kelly DL, Fasano A, Eaton WW: Increased prevalence of transglutaminase 6 antibodies in sera from schizophrenia patients. Schizophr Bull 2013; 39: 867–871.
36 Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Leister F, Yang S, Krivogorsky B, Alaedini A, Yolken R: Markers of gluten sensitivity and celiac disease in recent-onset psychosis and multi-episode schizophrenia. Biol Psychiatry 2010; 68: 100–104.
37 Genuis SJ, Lobo RA: Gluten sensitivity presenting as a neuropsychiatric disorder. Gastroenterol Res Pract 2014; 2014: 293206..
38 Lionetti E, Leonardi S, Franzonello C, Mancardi M, Ruggieri M, Catassi C: Gluten psychosis: confirmation of a new clinical entity. Nutrients 2015; 7: 5532–5539.
39 Catassi C, Elli L, Bonaz B, et al: Diagnosis of non-celiac gluten sensitivity (NCGS): The Salerno Experts' Criteria. Nutrients 2015; 7: 4966–4977.
40 Kulich KR, Madisch A, Pacini F, Piqué JM, Regula J, van Rensburg CJ, Ujszászy L, Carlsson J, Halling K, Wiklund IK: Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: a six-country study. Health Qual Life Outcomes 2008; 6: 12.
41 Van Overbeek FM, Uil-Dieterman IG, Mol IW, Köhler-Brands L, Heymans HS, Mulder CJ: The daily gluten intake in relatives of patients with coeliac disease compared with that of the general Dutch population. Eur J Gastroenterol Hepatol 1997; 9: 1097–1099.
42 Caio G, Volta U, Tovoli F, De Giorgio R: Effect of gluten free diet on immune response to gliadin in patients with non-celiac gluten sensitivity. BMC Gastroenterol 2014; 14: 26.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):16–26
DOI: 10.1159/000440990

ENFOQUE

La microbiota intestinal influye sobre el desarrollo y función de diversos mecanismos de defensa de inmunidad innata y adaptativa del huésped

Reimpreso con permiso de: Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):28–41

Microbioma y gluten

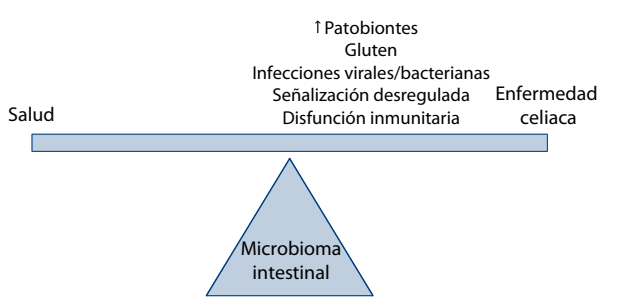
por Yolanda Sanz

Mensajes clave

La disbiosis intestinal es una característica distintiva de varias enfermedades inmunitarias, como la enfermedad celiaca. Las cifras aumentadas de patobiontes pueden activar rutas proinflamatorias que desencadenan un decremento de la tolerancia al gluten y promueven el inicio de la enfermedad. Esto, a su vez, provoca el desequilibrio de la microbiota intestinal hacia un estado de disbiosis, que resulta en un círculo vicioso que altera el equilibrio homeostático de la microbiota del huésped. Los genes que predisponen a un individuo a presentar enfermedad celiaca modulan el proceso de colonización intestinal del lactante, donde resalta la importancia del microbioma intestinal en la forma en que se inclina la balanza hacia la salud o la enfermedad.

Conocimiento actual

El microbioma intestinal tiene un papel clave en los mecanismos de defensa del huésped contra patógenos, además de estar implicado en la maduración, el mantenimiento y la función del sistema inmune mucoso. El microbioma es una entidad altamente compleja que exhibe numerosas funciones redundantes y es capaz de evolucionar en respuesta a factores genéticos y ambientales. Por ello, a pesar de que se cuenta con una gran cantidad de publicaciones sobre las características de un microbioma saludable, es difícil precisar la firma microbiana de la enfermedad celiaca. Es necesaria mayor investigación para comprender cómo las bacterias intestinales interactúan dentro del ambiente del huésped para promover la enfermedad celiaca.



Las alteraciones en el microbioma intestinal pueden inclinar la balanza hacia la enfermedad celiaca.

Implicaciones prácticas

Aunque el gluten es el principal factor ambiental desencadenante, el momento del inicio de la enfermedad después de la exposición al gluten varía en gran medida entre individuos, lo cual sugiere que hay otros factores implicados. Los mecanismos patogénicos que contribuyen a la enfermedad celiaca llegan a desencadenarse por infecciones virales o bacterianas que suelen amplificar la respuesta al gluten en individuos predispuestos. Además, los sujetos con enfermedad celiaca tienen perturbaciones de la firma microbiana intestinal, como cifras anómalas de Bacteroides spp., Bifidobacterium spp. *y* Staphylococcus spp. *No es sorprendente que los pacientes con enfermedad celiaca también presenten alteración de las concentraciones de metabolitos (ácidos grasos de cadena corta) y moléculas (α-defensinas, TLR2, TLR4) implicadas en las interacciones entre los microbios y el huésped.*

Lectura recomendada

Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ: Interactions between the microbiota and the immune system. Science 2012;8;336:1268-1273.

KARGER 125 Years

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico karger@karger.com

Annales Nestlé

Gluten: ¿amigo o enemigo?

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

Microbioma y gluten

Yolanda Sanz

Unidad de Investigación en Ecología Microbiana, Nutrición y Salud, Instituto de Agroquímica y Tecnología en Alimentos, Consejo Nacional de Investigación (IATA-CSIC), Valencia, España

Mensajes clave

- **La enfermedad celiaca (CD) se relaciona con disbiosis intestinal caracterizada por un aumento de la abundancia de patobiontes y sus características virulentas.**
- **En teoría, las infecciones y la expansión de los patobiontes intestinales son capaces de activar rutas inflamatorias que precipitan la degradación de la tolerancia al gluten o agravan la patogenia de la CD.**
- **Los genes de susceptibilidad a CD influyen en el proceso de colonización intestinal infantil, lo cual sugiere que los individuos predispuestos probablemente tengan una capacidad comprometida para adquirir una microbiota protectora.**

Palabras clave

Microbioma · Microbiota · Gluten · Enfermedad celiaca · Patobiontes · *Bacteroides* · Enterobacteriaceae · Bifidobacteria · Inflamación

Resumen

La enfermedad celiaca (CD) es una enteropatía inflamatoria crónica causada por el gluten en individuos con predisposición genética que portan genes de susceptibilidad a la enfermedad (HLADQ2/8). Estos genes se encuentran en cerca de 30 a 40% de la población general, pero sólo un pequeño porcentaje de portadores desarrolla CD. El gluten es el factor desencadenante ambiental clave de la CD, pero su ingesta no explica por completo el inicio de la enfermedad; de hecho, un cada vez mayor número de casos presenta intolerancia al gluten en la etapa adulta tardía después de numerosos años de exposición al gluten. En consecuencia, parece haber factores ambientales adicionales implicados en la CD. Los estudios epidemiológicos indican que los factores perinatales y posnatales tempranos influyen sobre el riesgo de CD y la estructura microbiótica intestinal. Los estudios prospectivos en lactantes sanos en riesgo de desarrollar CD también revelan que el genotipo HLA-DQ, en conjunción con otros factores ambientales, influye sobre la composición de la microbiota. Inclusive, los pacientes con CD tienen un desequilibrio de la microbiota intestinal (disbiosis), que no se normaliza por completo a pesar del apego a una dieta libre de gluten. Por lo tanto, se ha propuesto la hipótesis de que la enfermedad promueve la disbiosis que agrava la patogenia de la CD, y la disbiosis, a su vez, puede iniciar y mantener la inflamación a través de la expansión de patobiontes proinflamatorios y la reducción de la cantidad de bacterias mutualistas antiinflamatorias. Estudios en modelos experimentales también han contribuido a la comprensión del papel de las bacterias intestinales y sus interacciones con el genotipo predisponente para promover la CD. Los avances en esta área serían de utilidad en el desarrollo de estrategias de intervención informadas

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel
0250–6807/15/0676–0028$39.50/0

Correo electrónico karger@karger.com

Yolanda Sanz
IATA-CSIC, Avda. Agustin Escardino 7
ES–46980 Valencia (España)
Correo electrónico yolsanz@iata.csic.es

sobre el microbioma que optimicen la asociación entre la microbiota intestinal y la inmunidad del huésped para mejorar el manejo de la CD.

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Introducción

El tracto intestinal humano alberga una microbiota compleja que desarrolla una relación mutualista simbiótica con su huésped que beneficia a ambos organismos en condiciones fisiológicas. La microbiota intestinal está integrada por alrededor de 5 a 7 filos bacterianos principales de los 52 reconocidos en la actualidad en la Tierra. Por lo general, en adultos, Firmicutes y Bacteroidetes son los filos predominantes (~ 90% de la población total), seguidos de miembros de Proteobacteria y Actinobacteria, que son mucho menos abundantes (< 1 a 5%) [1]. El filo Bacteroidetes contiene los géneros bien conocidos *Bacteroides* y *Prevotella*. Firmicutes constituye el filo bacteriano más grande, que contiene más de 200 géneros, incluidos los grupos de clostridios. Proteobacteria son bacterias anaerobias facultativas que incluyen a la bien conocida familia Enterobacteriaceae y tal vez represente sólo ~0.1% de la población total. El filo Actinobacteria incluye al género *Bifidobacterium* y su abundancia varía en gran medida con la edad. Se estima que la cantidad de especies bacterianas es > 1 000 y la cantidad de genes (colectivamente conocidos como "microbioma") es > 150 veces mayor que la del genoma humano [2]. Este vasto repertorio de genes del microbioma proporciona al huésped recursos funcionales complementarios, como rutas para la utilización de nutrientes (p. ej., polisacáridos complejos) y para la producción de vitaminas, así como moléculas que indican la maduración inmunitaria y morfológica intestinal [2, 3]. En consecuencia, se piensa que la composición de la microbiota intestinal y su función tienen un papel importante en el equilibrio entre la salud y la enfermedad del huésped.

La composición de la microbiota intestinal y su función tienen un papel importante en el equilibrio entre salud y enfermedad del huésped

El proceso de colonización del intestino del recién nacido ocurre principalmente después del nacimiento y representa una exposición importante a los antígenos ambientales que influye en el desarrollo de la inmunidad sistémica y mucosa. La exposición a una población microbiana muy densa dentro del intestino también representa un desafío significativo para el huésped, que requiere desarrollar mecanismos de control complejo para eliminar patógenos y tolerar los simbiontes. Se ha propuesto la hipótesis de que la desregulación de estas interacciones recíprocas aumenta el riesgo de desarrollar alteraciones mediadas por el sistema inmunitario.

Por lo general, la colonización del intestino del lactante se caracteriza por la dominancia inicial de los anaerobios facultativos (principalmente las especies de Proteobacteria) que adecúan el hábitat para la colonización por anaerobios estrictos al consumir oxígeno, alterar el pH y producir dióxido de carbono y nutrientes [4]. Durante la primera semana después del nacimiento, éstos se reemplazan con rapidez por anaerobios estrictos, entre los cuales Actinobacteria se torna dominante cuando el neonato recibe leche y, en especial, en aquellos que reciben leche materna debido a la estimulación del crecimiento de *Bifidobacterium spp*. por los oligosacáridos de la leche materna [4]. El cese de la alimentación con leche, que implica la incorporación de alimentos sólidos, dirige la maduración completa de la microbiota hacia una compleja parecida a la del adulto, dominada por Firmicutes y Bacteroidetes [5]. Sin embargo, este proceso depende de múltiples factores que incluyen variables genéticas y ambientales (tipo de nacimiento, ingesta de antibióticos, prácticas de alimentación con leche) [4, 5]. La exposición temprana de dichos factores ambientales parece ser un factor importante para determinar la salud, ya que la microbiota se establece cuando el sistema inmune del neonato todavía se encuentra inmaduro. A través de este proceso, se desarrolla la tolerancia (hiperrespuesta o respuesta mutualista) a antígenos inocuos de la dieta y a la microbiota, lo que facilita el establecimiento de una microbiota protectora, mientras se asegura la eliminación de antígenos y patógenos deletéreos al desarrollar una respuesta proinflamatoria activa [6].

Los modelos experimentales han demostrado que la microbiota intestinal influye en el desarrollo y función de diferentes mecanismos de defensa del huésped de inmunidad innata y adaptativa [3, 7]. La microbiota intestinal influye en el papel de las células epiteliales intestinales como primera línea de defensa por diferentes mecanismos. Éstos incluyen la regulación de la proliferación de las células epiteliales y la expresión de las proteínas de unión estrecha que mantienen juntas dichas células controlando la permeabilidad paracelular. Esto constituye una barrera física que separa el lumen intestinal del tejido subyacente, donde se localiza el tejido linfoide relacionado con el intestino, lo cual evita su activación, que puede causar inflamación crónica. La microbiota intestinal también influye en la expresión del gen de mucina (p. ej., los genes MUC-2 y MUC-3) por las células caliciformes y su patrón de glucosilación y la secreción de péptidos antimicrobianos (defensinas, angiogeninas, Reg3γ, etc.) por las células intestinales, que contribuye a regular la adherencia bacteriana y la residencia en el intestino. Inclusive, los componentes específicos de la microbiota intestinal afectan la expresión y activación de los receptores de reconocimiento de patrones, como los receptores tipo compuerta (TLR), que se

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

expresan por medio de las células epiteliales y las células inmunitarias innatas [p. ej., las células dendríticas (DC)] y tienen un papel importante al mantener una comunicación homeostática entre microbiota y huésped [8]. La activación de los TLR puede dar paso a la síntesis de varias citocinas y quimiocinas proinflamatorias mediante la regulación de la transcripción y constituye uno de los mecanismos a través de los cuales el huésped tolera los microbios inocuos mientras previene de modo simultáneo su diseminación e infecciones. Las respuestas inmunitarias innatas mediadas por TLR también son un prerrequisito para la generación de respuestas inmunitarias adaptativas [8].

Los modelos experimentales también han probado que la microbiota intestinal tiene un impacto sobre la inmunidad adaptativa. De este modo, la ausencia de microbiota da paso a una menor proporción de la lámina propia de células T, células B productoras de IgA y células T intraepiteliales, así como de niveles séricos de inmunoglobulina, mientras otras subpoblaciones celulares no resultan afectadas o incluso aumentan en condiciones libres de gérmenes [3, 9]. En años recientes, se ha demostrado que bacterias comensales específicas influyen sobre la acumulación de subconjuntos de linfocitos T en la lámina propia, los cuales tienen funciones efectoras distintivas, ya sean células T reguladoras (Treg) con potencial proinflamatorio (que incluyen la Th1, Th17 y diversas células linfoides innatas con características efectoras de citocinas) o antiinflamatorio [10]. En particular, la inducción de Treg Foxp3+ colónicas está mediada por la activación de la producción de citocinas antiinflamatorias por las células inmunitarias innatas (DC). Entonces, es factible que la estructura de la microbiota intestinal tenga un papel principal en la regulación de diversos mecanismos de control homeostático inmunitario del huésped y, de este modo, en el desarrollo de enfermedades mediadas por el sistema inmune.

En humanos, los estudios prospectivos también han sugerido que la alteración del proceso de colonización se relaciona con mayor riesgo de enfermedades mediadas por el sistema inmune [6]. Se ha establecido una relación entre el proceso de colonización intestinal en lactantes y la producción de IgA secretora salival, la cantidad de células productoras de anticuerpos IgA e IgM y la expresión de receptores inmunitarios innatos (p. ej., TLR) en los monocitos de sangre periférica, lo que sugiere un posible mecanismo a través del cual la microbiota confiere señales de maduración inmunitaria y protección en humanos en las etapas tempranas de la vida [6].

También se ha propuesto que la disfunción inmune, característica de las afecciones autoinmunes manifiestas y otras alteraciones inflamatorias crónicas, dirige a la comunidad microbiana hacia un estado de disbiosis que por lo general implica tanto alteraciones en la estructura de la microbiota como la pérdida de estabilidad. De hecho, varios estudios revelaron que la disbiosis intestinal y la inflamación se relacionan [11-13], apoyando un papel de las alteraciones en la comunicación entre microbiota y huésped en las afecciones mediadas por el sistema inmune. Desde un punto de vista mecanístico, es factible que una microbiota alterada tenga un papel en la autoinmunidad a través de una variedad de mecanismos potenciales, que incluyen el mimetismo molecular, basado en la reactividad cruzada de los linfocitos efectores a péptidos o proteínas microbianos, del huésped o de la dieta; la activación presencial de la autoinmunidad adaptativa por las células presentadoras de antígenos que se produce por estímulos microbianos y la expresión de autoantígenos, y la pérdida del control innato de la relación simbiótica entre huésped y comensal, lo que provoca la interferencia de la activación de los mecanismos inmunitarios innatos [13].

Se observa predisposición genética en cerca de 30 a 40% de la población general, y sólo un pequeño porcentaje de portadores (2 a 5%) desarrolla CD

La afección autoinmune gastrointestinal prototípica es la enfermedad celiaca (CD), una enteropatía inflamatoria crónica frecuente causada por el gluten en personas con predisposición genética que portan genes de susceptibilidad a la enfermedad (HLA-DQ2/8). Se ha aceptado que los mecanismos tanto innatos como adaptativos, donde la interacción entre células T presentadoras de antígenos es central, son necesarios para desarrollar la patología. Sin embargo, hay una predisposición genética en cerca de 30 a 40% de la población general, y sólo un pequeño porcentaje de los portadores (2 a 5%) desarrolla CD. El gluten es el principal desencadenante ambiental de CD, pero su ingesta no explica por completo el inicio de la enfermedad. De hecho, mientras algunos sujetos desarrollan la enfermedad después de la introducción del gluten a la dieta, otros lo hacen en la edad adulta avanzada después de una exposición prolongada al gluten, lo que sugiere la implicación de otros factores promotores de la enfermedad. La evidencia emergente sugiere que la tríada que puede explicar mejor la probabilidad de desarrollar CD y el espectro de la enfermedad debe integrarse por señales y funciones codificadas mediante el denominado segundo genoma humano (microbioma) y otros factores ambientales que, en conjunto, estarían en posibilidad de regular las rutas patogénicas activadas por el gluten en individuos predispuestos [14]. En esta revisión se explica el paralelismo entre los mecanismos patogénicos de la CD activados por el gluten y quizá por los microbios patógenos intestinales, las características del microbioma humano de la CD, y la evidencia actual de un papel patogénico de la disbiosis intestinal inferido a partir de los modelos experimentales para el estudio de la CD.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

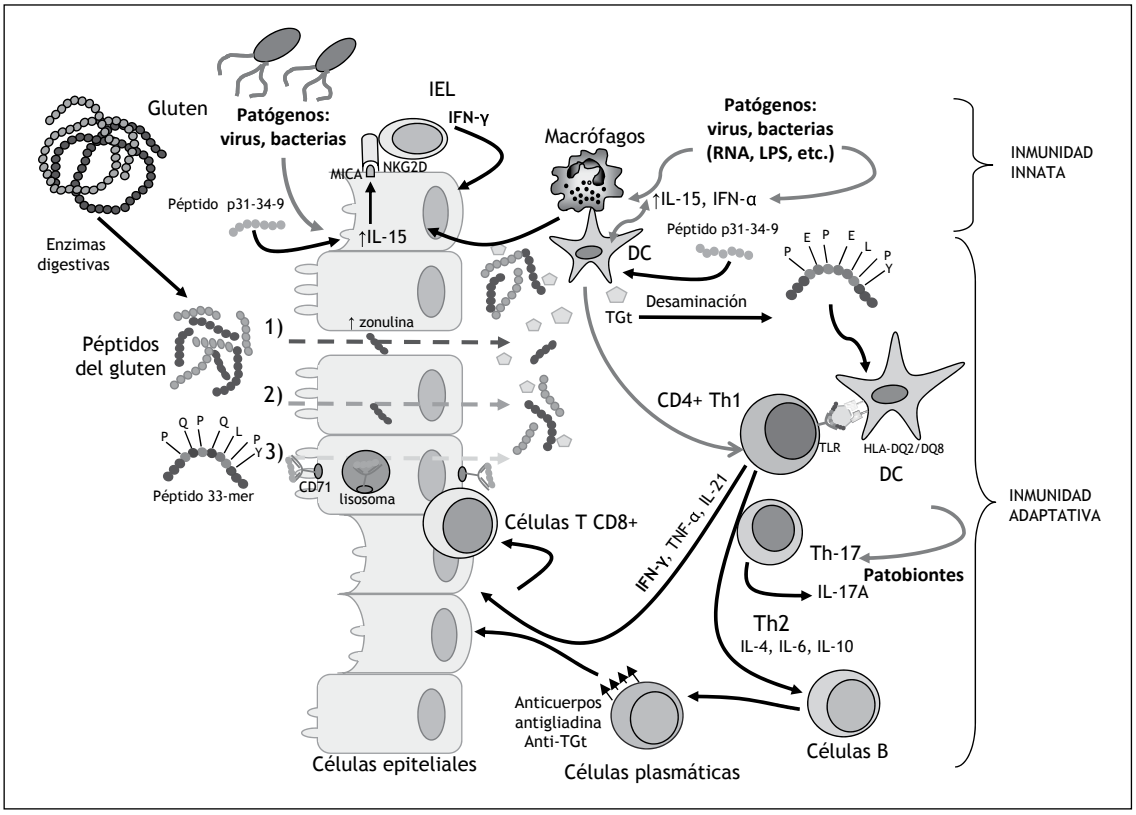


Figura 1. Representación esquemática del modelo propuesto para la patogenia de la CD. Las flechas grises indican cómo (en teoría) cooperan los patógenos (virus y bacterias) y los patobiontes (bacterias intestinales con potencial patógeno) para desencadenar la patogenia de la CD. TGt = transglutaminasa tisular; IEL = linfocitos intraepiteliales; NKG2D = receptor 2D del grupo citotóxico natural; MICA = proteína A relacionada con cadenas del MHC clase I; CD71 = racimo de diferenciación 71 o proteína 1 del receptor de transferrina; DC = células dendríticas.

Gluten y microbios: cómo es su posible cooperación para desencadenar la patogenia de la CD

La CD es una afección mediada por células T desencadenada por un grupo de proteínas denominado gluten, que se encuentra en el trigo, la cebada y el centeno. La predisposición genética es necesaria para el desarrollo de CD y ocurre en individuos que portan los haplotipos HLA-DQ2 (HLA-DQ2.5 y HLA-DQ2.2) y HLADQ8. Después de la ingesta, las proteínas del gluten se hidrolizan de manera parcial durante la digestión debido a su alto contenido de residuos de glutamina y prolina. Luego, los péptidos se acumulan en el lumen intestinal y son responsables de la activación de una respuesta inmune desregulada característica de la CD. El modelo propuesto para la patogenia de la CD y la posible contribución de los microorganismos infecciosos o patobiontes se esquematiza en la Figura 1.

Se ha propuesto que algunos péptidos derivados del gluten activan la inmunidad innata en el epitelio intestinal sin inducir respuestas específicas de las células T. Por ejemplo, el péptido 31-43 de α-gliadina induce la producción de IL-15 por las células innatas (células epiteliales, macrófagos y DC) que, a su vez, activan las células citotóxicas [linfocitos intraepiteliales (IEL) CD8+] independientemente de la especificidad del receptor de la célula T. En el epitelio, IL-15 provoca regulación ascendente del receptor de las células citotóxicas naturales MHC clase I NKG2D y CD94 en IEL y permite que estas células eliminen a las células epiteliales que expresan el ligando MICA inducible por estrés; IL-15 también provoca resistencia de las IEL a los efectos inhibidores de los mecanismos contrarreguladores mediados por Treg [15, 16]. Sin embargo, en general se piensa que las IEL no median el daño tisular mediante el reconocimiento del gluten, ya que la evidencia de que existen epítopes de péptido de gluten reconocidos por las células T CD8+ es limitada; por lo tanto, se han propuesto otros posibles ligandos de IEL, como los autoantígenos y los virus que actúan como factores promotores de CD [15]. No obstante, este tópico aún es controversial, ya que la ruta patogénica clara y el receptor de estos péptidos innatos no se han descrito *in vivo*.

Otras citocinas de inmunidad innata se sobreproducen en la mucosa de CD y se sospecha que amplifican la inflama-

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

ción y la respuesta de daño tisular. Éstas incluyen a miembros de la familia de la citocina IL-1 (IL-1β e IL-18), TNF-α e IL-6, algunos de los cuales parecen estar implicados particularmente en los casos refractarios de CD que no responden a una dieta libre de gluten (GFD) [17, 18]. La mayor secreción de estas citocinas proinflamatorias puede implicar la activación de rutas de señalización inmunes innatas por parte de los péptidos del gluten (p. ej., péptido P31-43) que involucran la diferenciación mieloide del factor 88 (MyD88), una molécula adaptadora clave de las rutas TLR/IL-1R, pero sin depender de TLR2 ni de TLR4 [19]. Otros estudios también han sugerido que las rutas de señalización anterógradas de TLR, incluida MyD88/TRIF/MAPK/NF-κB, podrían estar implicadas en las respuestas a algunos péptidos de gluten innatos [17]. Es interesante que estas rutas también responden a elementos bacterianos reconocidos por las TLR expresadas en las células inmunes innatas y epiteliales [8]. Además, se demostró que un inhibidor de α-amilasa/tripsina encontrado en el trigo interactúa con TLR4 y estimula macrófagos, así como DC, para producir algunas de estas citocinas inflamatorias, lo que sugiere que los componentes del trigo que no son gluten también son capaces de activar las respuestas inmunes innatas de manera similar a los microbios [20]. La acumulación de las células linfoides innatas localizadas en la lámina propia de biopsias de duodeno de pacientes con CD también parece contribuir al proceso inflamatorio y al daño intestinal al producir TNF-α con rapidez, además de IFN-γ [21]. Inclusive, este estudio *ex vivo* con biopsias duodenales demostró que la TLR-3 mediaba la producción de TNF-α en respuesta al análogo sintético de RNA bicatenario (poli I:C), simulando una infección viral, lo cual sugiere que los microbios también contribuyen a la respuesta inflamatoria de CD [21]. Para simular la activación de la señalización de TLR3 inducida por virus, otros estudios evaluaron los efectos de la administración mucosa de poli I:C en modelos murinos. Esto también causó enteropatía y disfunción intestinal en ratones NOD-DQ8 sensibles a gliadina, que se exacerbó por la administración oral subsecuente de gluten, señalando en la misma dirección [22].

Los péptidos derivados del gluten necesitan obtener acceso a la lámina propia para estimular la respuesta inmune completa característica de la CD. Aunque se ha sugerido que los péptidos cruzan el epitelio por transporte transcelular [23] y probablemente por rutas paracelulares [24], aún se desconoce el mecanismo exacto. En la lámina propia, los péptidos derivados de gluten son reconocidos por las moléculas HLA-DQ expresadas por las células presentadoras de antígenos (DC), con lo que se activa la respuesta inflamatoria de Th1 CD4 específica para gluten con producción de citocinas proinflamatorias, principalmente IFN-γ. Esta condición inflamatoria también activa las IEL CD8 citotóxicas (células T CD8+ TCRαβ+ y TCRγδ+) en la lámina propia, y contribuye a expandir la población de IEL independientemente de la presentación de antígenos mediante MHC, así como la síntesis y liberación de metaloproteasas y factor de crecimiento de queratinocitos por las células estromales que provocan hiperplasia de las criptas y enteropatía. En fecha reciente, se ha informado que IL-21, una citocina producida por las células T CD4 específicas para gluten, se encuentra aumentada en la mucosa con CD. Esta citocina es probable que juegue un papel en la patogenia de la CD mediante el reforzamiento de la producción de IFN-γ en las células T CD4+, lo que implica aumentar la cantidad de células T CD8+ intraepiteliales, contribuir a la producción de autoanticuerpos relacionados con CD e incrementar la resistencia de las células T inflamatorias a las Treg [25]. Se ha demostrado que IL-21 aumenta la expresión de TLR4 en cultivos celulares *in vitro* y, en teoría, esto también tiende a promover la señalización de TLR4 por las bacterias intestinales en presencia de CD, ya que el daño de los tejidos aumenta el contacto con patrones moleculares relacionados con microbios [26]. En biopsias de pacientes pediátricos con CD, la estimulación con ligandos TLR3 (con el fin de simular la estimulación viral) durante la activación de las células T policlonales aumentó de manera significativa la secreción de IL-21, lo que sugiere un papel potencial de las infecciones virales [25]. Además, se ha demostrado que la sobreproducción de IL-17A, una citocina sintetizada por células T CD4+ y células T CD8+ que no reaccionan a gluten, es elevada en la etapa tardía de la CD aguda cuando se ha desarrollado la atrofia vellosa, pero no en la CD potencial o en pacientes con CD que reciben GFD, lo que sugiere que no tiene una implicación principal en la CD [25]. Esta citocina también presenta regulación ascendente en la CD refractaria, en la que los síntomas/signos de malabsorción y atrofia vellosa persisten o recurren después de un apego a largo plazo a la GFD, lo cual no es el caso de las citocinas tipo Th1 [18]. La diferenciación de la célula Th17 a partir de células T sin estimulación previa requiere la acción coordinada de las citocinas implicadas en el proceso inflamatorio de la CD (p. ej., IL-21), las cuales es probable que sean responsables de la regulación ascendente de las citocinas tipo Th17, como la IL-17A. Inclusive, las células Th17 tienen funciones críticas en la defensa del huésped contra los patógenos; específicamente, se sabe que aquellas encontra-

Es factible que las bacterias intestinales también contribuyan a la activación de la respuesta de IL-17A en la mucosa intestinal de pacientes con CD activa y en sujetos que no responen a la GFD

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

das en las superficies mucosas, así como ciertas bacterias intestinales (p. ej., bacterias filamentosas segmentadas), actúan como promotoras potentes de la diferenciación de las células T CD4+ sin estimulación previa a células Th17 y la producción de IL-17A en modelos experimentales [27]. Por lo tanto, en teoría, es factible que las bacterias intestinales también contribuyan a la activación de la respuesta de IL-17A en la mucosa intestinal de pacientes con CD activa y en individuos que no responden a la GFD [28].

Se ha propuesto que la citocina IL-15 es fundamental no sólo en la relación entre la respuesta inmune innata y la adaptativa en la CD. De hecho, IL-15 presenta regulación ascendente tanto en el epitelio como en la lámina propia en una proporción de pacientes con CD activa, donde son capaces de polarizar DC hacia un fenotipo proinflamatorio y activar la liberación de citocinas inflamatorias (IFN-γ, IL-21) por los linfocitos CD4+ y CD8+ de la lámina propia [16, 29]. También es posible inducir IL-15 en las CD a través de la activación de TLR4 con LPS a partir de bacterias gramnegativas y la ruta MyD88 en las células epiteliales [16], lo que sugiere un vínculo potencial con productos bacterianos intestinales (LPS) o microbios que también podrían muestrearse por las CD del lumen intestinal.

El IFN-α también llega a imprimar las DC y sus interacciones con las células T en la lámina propia, lo que provoca una respuesta inflamatoria al inducir la expansión de células T CD4+ específicas para gluten y activar los linfocitos citotóxicos (células CD8+) [30]. La evidencia existente también sugiere un papel del IFN-α en la activación de la producción de IFN-γ por las células T mediada por DC en la lámina propia. De hecho, se sabe que IFN-α se expresa en gran medida en el intestino delgado de pacientes con CD; el bloqueo de IFN-α inhibe la expresión de RNAm de IFN-γ en los cultivos orgánicos de las biopsias de CD, y el IFN tipo I activa las DC hacia un fenotipo inflamatorio [16]. Se sabe que el rotavirus y las bacterias patógenas inducen los IFN tipo I. Inclusive, la señalización a través de TLR a la interacción con LPS de bacterias gramnegativas o con RNA viral es capaz de activar los factores reguladores de interferón y dar paso a la producción de IFN tipo I, como IFN-α [8, 31].

Las citocinas y las rutas que contribuyen a la patogenia de la CD también se llegan a inducir por infecciones virales y bacterianas o patobiontes intestinales que, en teoría, podrían amplificar la respuesta al gluten en individuos predispuestos

En resumen, las citocinas y las rutas que contribuyen a la patogenia de CD también se inducen por infecciones virales y bacterianas o patobiontes intestinales que, en teoría, podrían amplificar la respuesta al gluten en individuos predispuestos. Algunos estudios epidemiológicos apoyan esta idea, ya que se ha demostrado que la incidencia de infecciones por rotavirus en la infancia aumenta el riesgo de CD y se han informado otras infecciones gastrointestinales al momento del diagnóstico de CD [6]. Empero, estas teorías son un tanto especulativas, y es necesario contar con evidencia más directa.

Características del microbioma de la CD

En general, los estudios sobre la estructura del microbioma de individuos con CD activa (pacientes recién diagnosticados que reciben GFD) y CD inactiva (pacientes que reciben GFD) respaldan el planteamiento de que esta enteropatía crónica se relaciona con disbiosis intestinal que, a su vez, tiende a agravar e incluso promover el inicio de la enfermedad. Se han encontrado de manera consistente algunas alteraciones de la microbiota en individuos con CD activa e inactiva, lo cual sugiere un papel en la promoción del desarrollo de la enfermedad. Otras alteraciones parecen normalizarse después del apego a largo plazo a una GFD, lo que sugiere que debe haber una consecuencia secundaria del proceso inflamatorio relacionado con la enfermedad que propicia el agravamiento de esta patología. El hecho de que las alteraciones de la microbiota intestinal son más pronunciadas en la fase activa de la CD demuestra la activación de un circuito de eventos patogénicos que altera la comunicación entre huésped y microbios, además de tener una posible influencia sobre las manifestaciones y evolución de la CD. De hecho, algunos estudios han identificado alteraciones de la microbiota, en particular en sujetos con síntomas persistentes a pesar del apego a largo plazo a una GFD [32] o con síntomas gastrointestinales, pero no con dermatitis herpetiforme [33]. La expansión de grupos bacterianos específicos con rasgos patogénicos potenciales tal vez represente un componente activo del proceso patogénico, en vez de una mera consecuencia pasiva de la enfermedad. La Figura 2 esquematiza la potencia de la evidencia existente de una relación entre la CD y la disbiosis intestinal y los grupos taxonómicos potenciales que pueden constituir biomarcadores para CD. La evidencia se gradó según los grupos de población comparados (individuos con CD tratados o no con una GFD), la cantidad de estudios y la consistencia a través de por lo menos dos estudios y sitios de muestreo (biopsias intestinales o heces).

Los estudios publicados hasta ahora demuestran que el incremento en la abundancia de *Bacteroides spp.* y la disminución de *Bifidobacterium spp.* en biopsias de intestino delgado y/o muestras de heces caracterizan la microbiota de la CD, sin importar el estado de la enfermedad (activa o inactiva). En

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

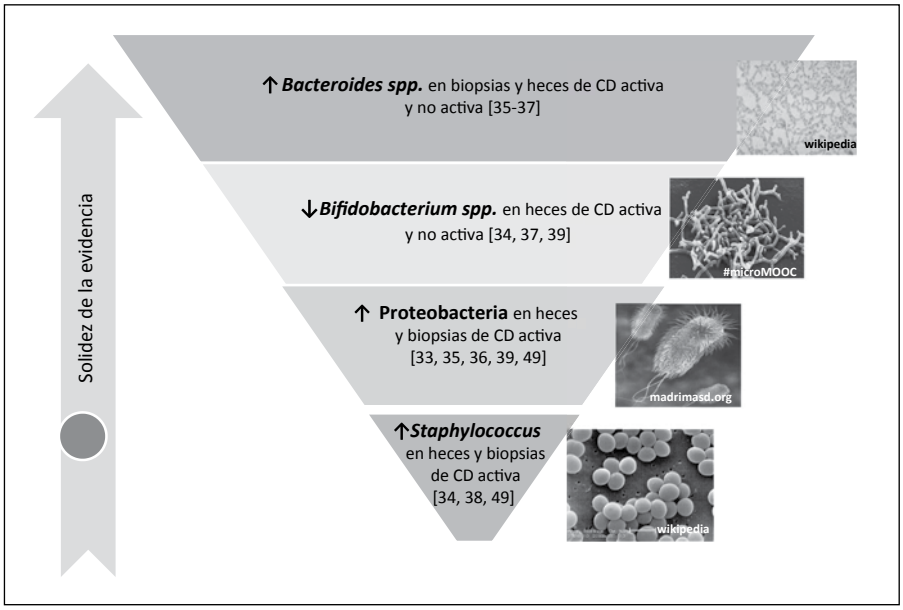


Figura 2. Biomarcadores propuestos para CD basados en el microbioma. Están respaldados por al menos dos estudios independientes.

particular, los estudios realizados por la autora de este artículo, en los que se utilizó PCR cuantitativa, encontraron que *Bacteroides spp*. era más abundante en las heces y biopsias de pacientes con CD activa e inactiva que en los controles [34]. Los grupos bacterianos diferenciales detectados en las biopsias y heces en CD tuvieron correlación, lo que indica que la microbiota fecal refleja de modo parcial aquella del intestino delgado y puede tener valor diagnóstico [34, 35]. El análisis de biopsias duodenales por electroforesis en gel con gradiente de temperatura temporal (TGGE) también demostró una mayor prevalencia de *Bacteroides vulgatus* en niños con CD activa e inactiva [36]. Un estudio independiente basado en el análisis de cultivos de muestras de heces también encontró cantidades aumentadas de *Bacteroides* en pacientes con CD tratada y sin tratamiento en comparación con los controles [37]. Otros estudios sólo informaron un aumento de *Bacteroides spp*. en pacientes con CD sin tratamiento en comparación con controles, debido a que sólo se compararon estos dos grupos [38, 39]. Sin embargo, en otros casos, sólo se informaron diferencias con significancia estadística entre las muestras de biopsias de los pacientes con enfermedad activa y los controles, quizá debido a que las diferencias fueron menores después del apego a la GFD y a que las técnicas analíticas utilizadas tienen un mayor límite de detección (FISH), lo cual reduce la capacidad para detectar las diferencias más pequeñas, aunque se detectaron las mismas tendencias [40, 41]. Las comparaciones de los pacientes con CD tratados y los individuos sanos también demostraron aumento de la supuesta cantidad de *Bacteroides* en las heces de los pacientes, confirmando los hallazgos previos, pero no se incluyeron los casos de CD sin tratamiento [39]. De igual forma, se llevó a cabo una caracterización más profunda de la microbiota de la CD al aislar las cepas bacterianas y analizar sus características patogénicas. De manera específica, se encontró que la abundancia de la especie *Bacteroides fragilis* que codifica para metaloproteasas estaba incrementada en pacientes con y sin tratamiento para CD, y es factible que tenga un papel patogénico en la CD [42]. De hecho, es frecuente que las cepas de *Bacteroides fragilis* que codifican para factores de virulencia (p. ej., metaloproteasas) estén implicadas en infecciones oportunistas, y se demostró que agravan la colitis en modelos animales experimentales [42].

En contraste, un estudio que analizó la microbiota duodenal de pacientes con CD que presentan síntomas persistentes a pesar de GFD a largo plazo mediante pirosecuenciación genética de RNAr 16S demostró que los pacientes tuvieron una menor abundancia de Bacteroidetes [32]. No obstante, no se han realizado más estudios en esta categoría para obtener conclusiones definitivas. Otros estudios no informaron diferencias respecto a *Bacteroides*, pero utilizaron técnicas semicuantitativas y de menor resolución que sólo detectan las bacterias dominantes [electoforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE)] [33] o incluyen una cantidad muy pequeña (≤ 10) de casos [33, 43-45]. Algunos de estos estudios detectaron diferencias en el género bacteriano relacionado *Prevotella spp*., que pertenece al mismo filo Bacteroidetes, pero los resultados son inconsistentes y contradictorios entre estudios [43-45]. Un estudio suizo de muestras recolectadas en la epidemia de CD entre 1985 y 1996 reveló que los bacilos tenían una relación frecuente con la mucosa del intestino delgado de pacientes con CD, tanto en la fase activa como en aquellos tratados con una GFD; esto se detectó mediante microscopia electrónica de rastreo (SEM) re-

lacionada con aumento de las cifras de RNAm de mucina-2 y con alteraciones de las estructuras de carbohidratos del glicocálix/capa mucosa de la mucosa yeyunal que son capaces de modificar la especificidad de la adhesión bacteriana [46]. Empero, el análisis más detallado de estas muestras por secuenciación genética de RNAr 16S y aquellas obtenidas de una nueva cohorte de pacientes (2004-2007) reveló que sólo una biopsia de CD de la nueva cohorte contenía bacilos. La caracterización de la microbiota de biopsias de pacientes con CD de la epidemia mencionada en Suiza demostró que las biopsias positivas por SEM presentaban mucho mayor cantidad de *Prevotella spp*. junto con *Clostridium* y *Actinomyces*, en comparación con las biopsias negativas por SEM también de pacientes con CD [43], pero la ausencia de dichos marcadores del microbioma en otras cohortes provoca la inconsistencia de esta teoría. En contraste, Nistal *et al*. [44] realizaron un estudio con biopsias de niños y adultos con CD (activa o inactiva) y controles mediante secuenciación genética de RNAr 16S, e informaron una disminución de *Prevotella spp*. en el grupo de adultos sin tratamiento *vs*. con tratamiento, así como en el grupo de niños sin tratamiento *vs*. el control, lo que sugiere un posible papel de este grupo bacteriano sobre la salud. Por último, Cheng *et al*. [45] informaron abundancia tanto aumentada como disminuida de *Prevotella spp*. según la especie en biopsias de personas con CD (aumento de *P. melaninogenica*) en comparación con controles (aumento de *P. oralis*).

Se encontró que las cifras de *Bifidobacterium* y *B. longum* eran menores en las heces de los pacientes con CD activa e inactiva y en las biopsias de pacientes con CD activa, en comparación con los controles, cuando se analizaron mediante PCR cuantitativa [34]. Un estudio cultural independiente realizado en muestras de heces también encontró una disminución de la especie de *Bifidobacterium*, pero sólo en pacientes con CD activa, en comparación con los pacientes con CD tratada y los controles [37]. No obstante, cuando el mismo grupo de investigación realizó una comparación de las biopsias y muestras de heces de niños con CD inactiva (que recibían GFD) y controles, se encontraron diferencias en los perfiles DGGE de lactobacilos y bifidobacterias en las muestras de biopsias, así como cuentas de bifidobacterias y otras bacterias ácido-lácticas disminuidas en las heces de los pacientes con CD tratada [39], lo que confirma la misma tendencia de que la abundancia de bifidobacteria está disminuida en la CD. Mediante DGGE, también se detectó una diversidad reducida de bifidobacterias en las heces de pacientes con CD activa y prevalencia disminuida de *B. adolescentis* en comparación con los controles, aunque no se incluyeron muestras de CD inactiva [47]. En contraste, Nistal *et al*. [48] encontraron una menor diversidad de *Bifidobacterium spp*. en las heces de sujetos con CD inactiva y prevalencia aumentada de *B. bifidum* en pacientes con CD activa por DGGE, lo que contradice parcialmente los hallazgos previos. En definitiva, la mayoría de los datos indicó que la abundancia disminuida de bifidobacterias se relaciona con CD, aunque la magnitud de estas diferencias varía según el estado de la enfermedad y la localización en el tracto intestinal (duodenal o fecal), quizá como consecuencia de otros factores de confusión no controlados por completo en estudios previos (p. ej., la dieta).

Las enterobacterias y el filo correspondiente Proteobacteria también se han relacionado con CD, pero principalmente con la fase activa de la enfermedad. Una excepción es el estudio realizado por Schippa *et al*. [36] donde se informó una prevalencia incrementada de *Escherichia coli* en biopsias duodenales de niños con CD activa e inactiva comparadas con los controles por TGGE. Sin embargo, otros estudios sugieren que la cantidad de enterobacterias tiende a normalizarse después del apego a la GFD. De este modo, se encontró que la cantidad de *E. coli* era mayor en las heces y biopsias de personas con CD sin tratamiento que en la de los controles, pero no en los pacientes que recibían GFD, determinada por FISH y PCR cuantitativa [35, 40]. Esta tendencia se confirmó por análisis del cultivo de las biopsias duodenales de pacientes con CD activa e inactiva y controles, donde miembros del filo Proteobacteria (que incluyen *E. coli* y otras enterobacterias) eran abundantes en la CD activa mientras que aquellos del filo Firmicutes fueron menos abundantes [49]. El estudio realizado por Wacklin *et al*. [33] incluyó una menor cantidad de casos y sólo comparó individuos con CD activa y controles, pero también concluyó que los pacientes con CD y síntomas gastrointestinales tenían un aumento de Proteobacteria en las biopsias duodenales en comparación con los controles y los pacientes con dermatitis herpetiforme, mediante DGGE. Este estudio también sugirió que es factible que la microbiota tenga un papel en la manifestación de la enfermedad. Los mismos autores informaron un incremento de la Proteobacteria en muestras duodenales de pacientes que recibían GFD con síntomas persistentes en apoyo a la idea de que este filo tiene relación con los síntomas de la CD [32]. Otros análisis culturales que emplearon sólo muestras de heces de pacientes con CD activa y controles confirmaron esta tendencia al analizar las enterobacterias totales [38] o algunos grupos representativos (*Salmonella*, *Shigella* y *Klebsiella*) [39]. Hasta ahora, sólo hay un estudio que se ha basado en las características de virulencia de aislados de *E. coli* de pacientes con CD y controles, que indica que los clones de *E. coli* pertenecientes a los

Una menor abundancia de bifidobacterias se relaciona con CD

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

grupos filogenéticos virulentos (B2 y D) aislados de pacientes con CD, tanto tratados como no, presentaron una mayor cantidad de genes de virulencia implicados en la adhesión y evasión del sistema inmune del huésped (fimbrias P, cápsula K5 y hemolisina) que aquellos aislados de los controles sanos [50]. Estos hallazgos indicaron que la microbiota entérica de los individuos con CD tiene un mayor potencial patogénico que aquella de los sujetos sanos, sin importar el estado de la enfermedad. También sugirió que sería necesaria una caracterización más profunda de la microbiota para comprender su papel en la enfermedad. Usualmente, el filo completo de Proteobacteria representa un componente menor de la microbiota intestinal debido a que estas bacterias son anaerobios facultativos, en contraste con los filos más abundantes, los cuales son anaerobios obligados [51]. Es probable que la variabilidad genética y la elevada frecuencia de transferencia genética horizontal en las enterobacterias mediada por conjugación contribuya a su ventaja de aptitud sobre otros miembros de la comunidad microbiana intestinal en condiciones particulares [51]. Por ejemplo, las enterobacterias comensales parecen ser capaces de ocupar un nicho inflamado al adquirir un fenotipo muy adherente por mutaciones patoadaptativas resultado de la inflamación persistente, como se muestra en la enfermedad de Crohn [52]. La colonización de enterobacterias en una situación patológica también se favorecería por su capacidad para utilizar nitrato generado de la respuesta inflamatoria del huésped a través de la respiración anaerobia, superando a las bacterias anaerobias obligadas [51].

También se ha encontrado que la cantidad de *Staphylococcus* es mayor en las heces y biopsias de pacientes con CD sin tratamiento que en los controles, pero sus cifras se normalizaron después del tratamiento con una GFD [35]. Esta tendencia se confirmó por un estudio de cultivo realizado con biopsias de tres grupos de niños [49] y dos estudios en muestras de heces, pero que sólo incluyeron casos de CD sin tratamiento y controles [38, 39]. En el estudio llevado a cabo por Sanchez *et al*. [49], los miembros de la familia *Staphylococcaceae* y, en particular, de las especies *S. epidermidis* y *S. pasteuri*, fueron más abundantes en pacientes con enfermedad activa que en los controles. En contraste, los miembros de la familia *Streptococcaceae* fueron menos abundantes en personas con CD activa que en los controles. En biopsias de individuos con CD (niños y adultos), el análisis por secuenciación genética de RNAr 16S también sugirió un papel protector para *Streptococcus spp*., pero el tamaño de muestra fue muy pequeño [44]. Tomando en cuenta que los estreptococos son habitantes normales del tracto intestinal superior, los hallazgos indicaron que la enfermedad se relaciona con la sobrepoblación de posibles patobiontes (estafilococos) que excluyen a los simbiontes (estreptococos) que son característicos de la microbiota sana del intestino delgado [49]. No obstante, un análisis más detallado mediante aislamiento e identificación de clones pertenecientes al género *Staphylococcus* también reveló diferencias en los rasgos de virulencia de aislados de pacientes con CD activa e inactiva. En estos pacientes, la especie *S. epidermidis* que portaba el gen *mecA* (gen resistente a meticilina) fue más abundante que en los controles [53].

Sólo hay dos estudios que no revelan diferencias en el perfil del microbioma total en biopsias de intestino delgado de pacientes pediátricos con CD (pacientes con CD subtratados y controles) analizadas mediante IS-pro, un método de perfilamiento basado en interespaciador de regiones 16S-23S (IS) [54], o mezclando casos de niños y adultos con CD (tratados y no) por PCR cuantitativa [55]; sin embargo, el análisis subsecuente de estos últimos casos por microsistemas reveló algunas diferencias [45].

El análisis de los metabolitos como indicadores de disbiosis intestinal (p. ej., ácidos grasos de cadena corta, lactato, etc.) también ha revelado algunas diferencias entre pacientes con CD, sus familiares y controles, pero los resultados no son consistentes entre estudios, y el aumento y la disminución del mismo metabolito (p. ej., butirato) se han relacionado con CD [39, 56]. Un análisis más reciente del metaboloma de amplio espectro realizado por resonancia magnética nuclear encontró diferencias en los metabolitos urinarios que es posible atribuir a la microbiota de CD, pero la mayoría de las alteraciones se restauró después del apego a la GFD [57]. Las alteraciones de los metabolitos derivados del microbioma relacionadas con la enfermedad podrían no sólo reflejar disbiosis intestinal, sino además contribuir a la disfunción de los mecanismos inmunorreguladores. De este modo, los modelos experimentales han demostrado que las bacterias intestinales pertenecientes a grupos específicos de clostridios u otros comensales (como *Faecalibacterium prausnitzii*) tienen un papel inmunorregulador al producir butirato que, a su vez, induce a las Treg colónicas mediante el control epigenético de la desacetilación de histonas [58, 59]. No obstante, hasta ahora los hallazgos no son lo suficientemente concluyentes para comprender el papel de los metabolitos bacterianos en la patogenia de CD y en qué grado reflejan la disbiosis intestinal.

Las alteraciones de los metabolitos derivados del microbioma relacionadas con la enfermedad podrían no sólo reflejar disbiosis intesinal, sino además contribuir a la disfunción de los mecanismos inmunorreguladores

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

Hasta este momento, unos cuantos estudios han analizado la expresión o producción de moléculas implicadas en las interacciones entre huésped y microbios como evidencia indirecta de disbiosis intestinal, además de buscar identificar el mecanismo de acción potencial de la microbiota intestinal relacionada con CD. Por ejemplo, se ha informado el aumento de la expresión génica de las α-defensinas HD-5 y HD-6 (péptidos antimicrobianos producidos por las células de Paneth en respuesta a los antígenos bacterianos) en la CD activa, pero no en los casos de CD tratada, lo que apoya la disbiosis intestinal y quizá una expansión de patobiontes sólo en la fase activa de la enfermedad [31].

El aumento en la expresión de ciertos TLR podría contribuir a amplificar los efectos proinflamatorios de la disbiosis intestinal en la CD

Los pacientes con CD activa también demostraron mayor seropositividad para la proteína sCD14, que se interpretó como un resultado de la translocación bacteriana intestinal derivada de una disfunción de la barrera intestinal que tiene posibilidad de agravarse por la disbiosis intestinal. CD14 y TLR4 están implicadas en el reconocimiento y transducción de señales del lipopolisacárido (LPS), un componente principal de la pared celular de las bacterias gramnegativas. El complejo CD14/TLR4, a su unión, desencadena mecanismos de defensa innatos del huésped, lo que provoca la liberación de citocinas proinflamatorias que podrían agravar la patogenia de la CD [60].

También se ha informado que las alteraciones en la expresión de TLR4 y TLR2, así como el polimorfismo de nucleótido único (SNP) funcional, en genes expresados a la activación de TLR4 tienen relación con la CD [31, 61]. Como se explicó antes, los TLR reconocen patrones bacterianos o moleculares endógenos que, a la unión, desencadenan la transducción de señales a través de diferentes moléculas adaptadoras (MyD88 y TRIF) para inducir la expresión de genes proinflamatorios. Éstos tienen un papel vital en la defensa del huésped, pero la desregulación de la señalización de TLR confiere un riesgo de enfermedades inmunes, como CD [61]. Se sabe que los microbios intestinales proporcionan señales que promueven o inhiben la autoinmunidad al emitir señales a través de la familia TLR [62]. Mientras que la señalización TRIF podría actuar como un regulador negativo de la inmunidad, la señalización MyD88 parece actuar como un activador potente. De hecho, los ligandos de los TLR que activan la señalización MyD88 pueden ser inductores potentes de la producción de IFN tipo I, con la activación subsecuente de la expresión de otros genes inducibles inflamatorios, que da paso a la producción de citocinas como IFN-α y TNF-α. Por lo tanto, el aumento de la expresión de algunos TLR (como TLR4) podría contribuir a amplificar los efectos proinflamatorios de la disbiosis intestinal en la CD. De manera similar, también es posible que los polimorfismos en los genes que se tornan activos a la señalización de TLR4, como aquellos que afectan a IL-18R, influyan sobre la comunicación entre huésped y microbios en la CD y contribuyan a la inflamación de la mucosa [61]. En este contexto, varios estudios apoyan que la proporción relativa de bacterias gramnegativas y grampositivas está aumentada en pacientes con CD (tratados y no con GFD) en comparación con los controles [40, 41], y de acuerdo con una revisión más detallada de los análisis mencionados, el grupo gramnegativo podría estar representado por *Bacteroides* y Enterobacteriaceae, que podrían ser la fuente de LPS para la activación de TLR4.

El microbioma y las rutas de señalización del huésped simultáneos, así como los análisis de marcadores inflamatorios que ayudan a vincular los simbiontes o patobiontes con la CD, sólo se han informado en estudios que incluyen una pequeña cantidad de casos de CD [45, 55]. Estos hallazgos demostraron una expresión génica disminuida de TLR2 y TOLLIP (un regulador negativo de la señalización de TLR) y expresión aumentada de TLR9 en biopsias de intestino delgado de pacientes con CD. Además, se encontró una expresión aumentada de IL-10 e IFN-α en CD y se sugirió que estaba mediada por factores relacionados con la microbiota a través de la señalización de TLR9 [45, 55]. Sin embargo, sólo se informaron diferencias menores en ocho bacterias tipo género entre individuos con CD y sanos mediante microsistemas [45, 55], que no se confirmaron en estudios por otros autores.

En todos estos estudios realizados en pacientes con CD, la GFD *per se* es capaz de causar cambios en la composición de la microbiota intestinal más allá de la enfermedad subyacente, que actúa como un factor de confusión inevitable [63]. Esto se demostró en adultos sanos, en quienes el apego a la GFD produjo la disminución de la ingesta de polisacáridos complejos y causó desplazamientos paralelos de la composición de la microbiota intestinal, lo que disminuyó el número de bifidobacterias y aumentó el de enterobacterias [63]. Esto dificulta analizar minuciosamente el ciclo de causa-consecuencias y establecer si la disbiosis intestinal propicia el inicio de la CD. Para hacerlo, se cuenta con estudios prospectivos en proceso sobre lactantes sanos con riesgo familiar de CD [12, 14]. Estos estudios han revelado que el genotipo HLA-DQ influye por sí solo en la composición de la microbiota intestinal. Se ha demostrado que los lactantes con un genotipo de alto riesgo (HLA-DQ2) tienen una mayor proporción de Firmicutes y Proteobacteria, y una reducción de Actinobacteria (incluido el género *Bifidobacterium*)

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

en comparación con los controles (sin genotipo HLA-DQ). Estos hallazgos sugieren que el genotipo del huésped con CD selecciona los colonizadores tempranos del intestino del lactante que, en conjunción con los factores ambientales, como el tipo de leche administrada, es factible que influyan en el desarrollo de la tolerancia oral al gluten [14]. Sin embargo, esta hipótesis debe confirmarse por medio de establecer que este patrón alterado de colonización bacteriana está relacionado con el inicio de CD.

Por lo tanto, es necesario progresar en la identificación del tipo de receptores y vías de señalización implicados en el empeoramiento de la CD mediado por la microbiota, así como en la comprensión de la posibilidad de que los pacientes con CD o los individuos predispuestos tengan una capacidad comprometida para adquirir y mantener una microbiota simbiótica, lo que aumenta la capacidad de los patobiontes que pueden promover el inicio de la CD. La investigación debe avanzar respecto a la identificación de los rasgos patogénicos específicos de la cepa que contribuyen a la degradación de la pacífica dinámica entre huésped y microbioma en la CD en estudios multidisciplinarios y más grandes.

Papel de la disbiosis intestinal en la patogenia de la CD: lecciones de los modelos experimentales

Los modelos animales gnotobióticos brindan una herramienta experimental útil para investigar la causalidad basada en relaciones clínicas de la composición y función alteradas de la microbiota intestinal en pacientes con CD [64]. Un estudio reciente en ratones que expresan el gen humano HLA-DQ8, el cual confiere un riesgo genético moderado de CD, sugiere que la microbiota es probablemente un modulador de las respuestas inmunes del huésped al gluten [65]. Los ratones NOD-DQ8 que la autora de este artículo crió en condiciones microbianas de trasfondos distintos, que incluyeron condiciones libres de gérmenes, se colonizaron con una microbiota benigna compuesta por ocho cepas bacterianas [flora alterada de Schaedler (ASF)], o bajo condiciones convencionales [libres de patógenos específicos (SPF)]. La principal diferencia entre los estados colonizados ASF y SPF fue la presencia de microbiota limitada con características antiinflamatorias (*Lactobacillus spp*. y *Parabacteroides distasonis*) en ratones ASF *vs*. microbiota compleja con presencia de patobiontes potenciales (Proteobacteria) en ratones SPF. El estudio demostró que el trasfondo de microbiota tuvo un efecto significativo sobre el grado de respuestas inmunes del huésped al gluten. En ausencia de colonización del comensal (estado libre de gérmenes) o en presencia de patobiontes (SPF), la inmunopatología inducida por gluten fue más grave que en ratones colonizados con bacterias antiinflamatorias (ASF). Más aún, la adición de un patobionte, *E. coli* ENT CAI:5, aislado de pacientes con CD [50] a los ratones colonizados con bacterias protectoras, revirtió el efecto protector e indujo inmunopatología en presencia de sensibilización al gluten [65].

Se demostró evidencia adicional del papel proinflamatorio potencial de la disbiosis intestinal encontrada en CD mediante la exposición de cultivos celulares mononucleares de sangre periférica a muestras de heces de pacientes con CD activa e inactiva, que dio paso a una mayor producción de la secreción de citocinas proinflamatorias (IFN-γ y TNF-α) en comparación con las heces de individuos sanos. En el mismo caso experimental, las bifidobacterias (*B. longum* CECT 7347 y *B. bifidum* CECT 7365) redujeron la secreción de citocinas inflamatorias (IFN-γ y TNF-α) inducidas por la microbiota fecal de pacientes con CD mientras aumentaron la secreción de IL-10 [31]. Estudios adicionales también demostraron que las enterobacterias aisladas de pacientes con CD tienden a agravar el efecto de los desencadenantes de CD (gliadina) en las asas intestinales de ratas libres de gérmenes y cultivos celulares *in vitro* [31]. Los efectos adversos incluyen: (i) decremento de la función de barrera intestinal reflejada en reducciones de la cantidad de células productoras de moco y alteraciones de la expresión de proteínas de unión estrecha, que facilitaron la traslocación de gliadina a la lámina propia; (ii) secreción reforzada de mediadores inflamatorios, y (iii) reducción de la liberación del inhibidor de metaloproteasa TIMP 1, que tienen la posibilidad de provocar el aumento de la actividad de las metaloproteinasas de matriz implicadas en la degradación de la matriz extracelular y el daño tisular en las asas intestinales. En cultivos celulares, las enterobacterias aisladas de pacientes con CD también indujeron alteraciones marcadas en las características morfológicas y funcionales de las DC derivadas de monocitos, como la disolución de podosomas y dendritas, y la activación de la adhesión y diseminación de la DC, así como la secreción de citocinas inflamatorias (IFN-γ, TNF-α, IL-12) por las DC y las células mononucleares en sangre periférica, en parte simulando un perfil de citocinas tipo Th1 inducido por gliadina [66]. Se realizaron estudios comparativos con bifidobacterias, los cuales no demostraron un efecto o una mejoría de los efectos inducidos por gliadina y enterobacterias [31, 66]. No obstante, los hallazgos de estudios *in vitro* tienen valor limitado, y se requieren estudios funcionales *in vivo* para comprender el

Son necesarios estudios funcionales in vivo para comprender el papel patogénico de patobiontes específicos en la respuesta alterada al gluten

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

papel patogénico de patobiontes específicos en la respuesta alterada al gluten.

Implicaciones translativas y clínicas

Se ha llevado a cabo una cantidad de estudios sin precedentes para identificar las características del "microbioma/microbiota saludable" y las alteraciones de la comunicación entre huésped y microbiota, que promueven el progreso de la salud a la enfermedad en diferentes afecciones. No obstante, aún es un desafío importante debido a la complejidad de la microbiota, la redundancia de sus funciones y su dependencia de eventos vitales que reciben influencia de factores ambientales y genéticos individuales. Es más, las afecciones en las cuales se piensa que la microbiota juega un papel tienen una etiología multifactorial y demuestran una amplia gama de manifestaciones que es posible que estén relacionadas con los mecanismos etiológicos subyacentes, lo cual complica el caso.

Sin embargo, los avances en esta área abren el camino al desarrollo de estrategias informadas en el microbioma para estratificar y personalizar medidas tanto preventivas como terapéuticas para las afecciones mediadas por inmunidad, como la CD. Éstas podrían basarse en estrategias dietéticas que ayuden a optimizar la colaboración entre la microbiota intestinal y la inmunidad del huésped, de tal manera que se logre un aumento en la estabilidad de éste, así como resistencia a la enfermedad. Inclusive, la identificación de las rutas del huésped moduladas por la microbiota y sus agonistas proporcionaría estrategias factibles para mejorar el manejo de la enfermedad.

Reconocimientos

Este proyecto fue patrocinado por la beca AGL2011-25169 del Ministerio Español de Economía y Competitividad (MINECO). Deseo agradecer al Dr. E.F. Verdu de la McMaster University por la discusión científica relacionada con este artículo y su revisión crítica.

Conflictos de intereses

Y. Sanz desarrolló una patente perteneciente a CSIC sobre una cepa probiótica para CD, pero la patente fue autorizada y no recibió patrocinio personal. La redacción de este artículo se llevó a cabo mediante fondos del Nestlé Nutrition Institute.

Referencias

1 Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, de Vos WM: Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. Genes Nutr 2011;6:209–240.
2 Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE: Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 2006;312:1355–1359.
3 Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ: Interactions between the microbiota and the immune system. Science 2012;336:1268–1273.
4 Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snij-ders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE: Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics 2006;118:511–521.
5 Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J: Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. Cell Host Microbe 2015;17:690–703.
6 Pozo-Rubio T, Olivares M, Nova E, De Palma G, Mujico JR, Ferrer MD, Marcos A, Sanz Y: Immune development and intestinal microbiota in celiac disease. Clin Dev Immunol 2012;2012:654143.
7 Sanz Y, De Palma G: Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. Int Rev Immunol 2009;28:397–413.
8 Takeda K, Akira S: Toll-like receptors. Curr Protoc Immunol 2015; 109: 14.12.1–14.12.10.
9 Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, Rossmann P, Hrnčíř T, Kverka M, Zákostelská Z, Klimešová K, Přibylová J, Bártová J, Sanchez D, Fundová P, Borovská D, Srůtková D, Zídek Z, Schwarzer M, Dras-tich P, Funda DP: The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal bar-rier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribu-tion of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. Cell Mol Immu-nol 2011;8: 110–120.
10 Alexander KL, Targan SR, Elson CO 3rd: Microbiota activation and regulation of innate and adaptive immunity. Immunol Rev 2014; 260: 206–220.
11 Sartor RB: The intestinal microbiota in inflammatory bowel diseases. Nestle Nutr Inst Workshop Ser 2014;79:29–39.
12 Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y: Intestinal microbiota and celiac disease: cause, consequence or co-evolution? Nutrients 2015;7:6900–6923.
13 Zhang X, Zhang D, Jia H, et al: The oral and gut microbiomes are perturbed in rheuma-toid arthritis and partly normalized after treatment. Nat Med 2015;21:895–905.
14 Olivares M, Neef A, Castillejo G, Palma GD, Varea V, Capilla A, Palau F, Nova E, Marcos A, Polanco I, Ribes-Koninckx C, Ortigosa L, Izquierdo L, Sanz Y: The HLA-DQ2 geno-type selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of devel-oping coeliac disease. Gut 2015;64:406–417.
15 Han A, Newell EW, Glanville J, Fernandez-Becker N, Khosla C, Chien YH, Davis MM: Dietary gluten triggers concomitant activa-tion of CD4+ and CD8+ αβ T cells and γδ T cells in celiac disease. Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110:13073–13078.
16 Kim SM, Mayassi T, Jabri B: Innate immu-nity: actuating the gears of celiac disease pathogenesis. Best Pract Res Clin Gastroen-terol 2015;29:425–435.
17 Palová-Jelínková L, Dáňová K, Drašarová H, Dvořák M, Funda DP, Fundová P, Kotrbová-Kozak A, Černá M, Kamanová J, Martin SF, Freudenberg M, Tučková L: Pepsin digest of wheat gliadin fraction increases production of IL-1β via TLR4/MyD88/TRIF/MAPK/NF-κB signaling pathway and an NLRP3inflammasome activation. PLoS One 2013;8:e62426.
18 Caruso R, Marafini I, Sedda S, Del Vecchio Blanco G, Giuffrida P, MacDonald TT, Corazza GR, Pallone F, Di Sabatino A, Mon-teleone G: Analysis of the cytokine profile in the duodenal mucosa of refractory coeliac disease patients. Clin Sci (Lond) 2014; 126: 451–458.
19 Thomas KE, Sapone A, Fasano A, Vogel SN: Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intesti-nal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in celiac dis-ease. J Immunol 2006;176:2512–2521.
20 Junker Y, Zeissig S, Kim SJ, Barisani D,Wieser H, Leffler DA, Zevallos V, Liber-mann TA, Dillon S, Freitag TL, Kelly CP, Schuppan D: Wheat

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

amylase trypsin inhibi-tors drive intestinal inflammation via acti-vation of toll-like receptor 4. J Exp Med 2012;209:2395–2408.
21 Marafini I, Monteleone I, Di Fusco D, Cupi ML, Paoluzi OA, Colantoni A, Ortenzi A, Izzo R, Vita S, De Luca E, Sica G, Pallone F, Monteleone G: TNF-α producing innate lymphoid cells (ILCs) are increased in active celiac disease and contribute to promote in-testinal atrophy in mice. PLoS One 2015; 10:e0126291.
22 Araya RE, Jury J, Bondar C, Verdu EF, Chir-do FG: Intraluminal administration of poly I:C causes an enteropathy that is exacerbated by administration of oral dietary antigen. PLoS One 2014;9:e99236.
23 Abed J, Lebreton C, Champier G, Cuvillier A, Cogné M, Meresse B, Dugave C, Garfa-Traoré M, Corthésy B, Cerf-Bensussan N, Heyman M: Abnormal apical-to-basal transport of dietary ovalbumin by secretory IgA stimulates a mucosal Th1 response. Mu-cosal Immunol 2014; 7:315–324.
24 Fasano A: Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. Ann NY Acad Sci 2012;1258:25–33.
25 van Leeuwen MA, Lindenbergh-Kortleve DJ, Raatgeep HC, de Ruiter LF, de Krijger RR, Groeneweg M, Escher JC, Samsom JN: Increased production of interleukin-21, but not interleukin-17A, in the small intestine characterizes pediatric celiac disease. Mucosal Immunol 2013;6:1202–1213.
26 Park SJ, Shin JI: Interleukin-21-mediated TLR4 activation in celiac disease. Dig DisSci 2013;58:2425.
27 Panea C, Farkas AM, Goto Y, Abdollahi-Roodsaz S, Lee C, Koscsó B, Gowda K, Hohl TM, Bogunovic M, Ivanov II: Intestinal monocyte-derived macrophages control commensal-specific Th17 responses. Cell Rep 2015;12: 1314–1324.
28 Cicerone C, Nenna R, Pontone S: Th17, intestinal microbiota and the abnormal immune response in the pathogenesis of celiac dis-ease. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015;8: 117–122.
29 Sarra M, Cupi ML, Monteleone I, Franzè E, Ronchetti G, Di Sabatino A, Gentileschi P, Franceschilli L, Sileri P, Sica G, Del Vecchio Blanco G, Cretella M, Paoluzi OA, Corazza GR, Pallone F, Monteleone G: IL-15 positive-ly regulates IL-21 production in celiac dis-ease mucosa. Mucosal Immunol 2013;6:244–255.
30 Stepniak D, Koning F: Celiac disease – sandwiched between innate and adaptive immunity. Hum Immunol 2006; 67: 460–468.
31 Sanz Y, De Pama G, Laparra M: Unraveling the ties between celiac disease and intestinal microbiota. Int Rev Immunol 2011; 30: 207–218.
32 Wacklin P, Laurikka P, Lindfors K, Collin P, Salmi T, Lähdeaho ML, Saavalainen P, Mäki M, Mättö J, Kurppa K, Kaukinen K: Altered duodenal microbiota composition in celiac disease patients suffering from persistent symptoms on a long-term gluten-free diet. Am J Gastroenterol 2014;109:1933–1941.
33 Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, Collin P, Lindfors K, Partanen J, et al: The duodenal microbiota composition of adult celiac dis-ease patients is associated with the clinical manifestation of the disease. Inflamm Bowel Dis 2013;19:934–941.
34 Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species com-position in active and non-active coeliac dis-ease. BMC Microbiol 2008; 8: 232.
35 Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with pae-diatric coeliac disease. J Clin Pathol 2009;62:264–269.
36 Schippa S, Iebba V, Barbato M, Di Nardo G, Totino V, Checchi MP, et al: A distinctive 'microbial signature' in celiac pediatric pa-tients. BMC Microbiol 2010;10:175.
37 Di Cagno R, Rizzello CG, Gagliardi F, Ric-ciuti P, Ndagijimana M, Francavilla R, Guer-zoni ME, Crecchio C, Gobbetti M, De Ange-lis M: Different fecal microbiotas and vola-tile organic compounds in treated and un-treated children with celiac disease. Appl Environ Microbiol 2009;75:3963–3971.
38 Collado MC, Calabuig M, Sanz Y: Differenc-es between the fecal microbiota of coeliac infants and healthy controls. Curr Issues Intest Microbiol 2007;8:9–14.
39 Di Cagno R, De Angelis M, De Pasquale I, Ndagijimana M, Vernocchi P, Ricciuti P, Gagliardi F, Laghi L, Crecchio C, Guerzoni ME, Gobbetti M, Francavilla R: Duodenal and faecal microbiota of celiac children: molecu-lar, phenotype and metabolome character-ization. BMC Microbiol 2011; 11: 219.
40 Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: Imbalance in the composi-tion of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. J Med Microbiol 2007;56: 1669–1674.
41 De Palma G, Nadal I, Medina M, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: In-testinal dysbiosis and reduced immunoglob-ulincoated bacteria associated with coeliac disease in children. BMC Microbiol 2010;10:63.
42 Sánchez E, Laparra JM, Sanz Y: Discerning the role of Bacteroides fragilis in celiac dis-ease pathogenesis. Appl Environ Microbiol 2012; 78:6507–6515.
43 Ou G, Hedberg M, Hörstedt P, Baranov V, Forsberg G, Drobni M, et al: Proximal small intestinal microbiota and identification of rod-shaped bacteria associated with child-hood celiac disease. Am J Gastroenterol 2009;104: 3058–3067.
44 Nistal E, Caminero A, Herrán AR, Arias L, Vivas S, de Morales JM, Calleja S, de Miera LE, Arroyo P, Casqueiro J: Differences of small intestinal bacteria populations in adults and children with/without celiac dis-ease: effect of age, gluten diet, and disease. Inflamm Bowel Dis 2012;18:649–656.57 Bertini I, Calabrò A, De Carli V, Luchinat C, Nepi S, Porfirio B, Renzi D, Saccenti E, Teno-ri L: The metabonomic signature of celiac disease. J Proteome Res 2009;8:170–177.
45 Cheng J, Kalliomäki M, Heilig HG, Palva A, Lähteenoja H, de Vos WM, Salojärvi J, Satokari R: Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. BMC Gastroenterol 2013; 13:113.
46 Forsberg G, Fahlgren A, Hörstedt P, Hammarström S, Hernell O, Hammarström ML: Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood celiac disease. Am J Gastroenterol 2004; 99: 894–904.
47 Sanz Y, Sánchez E, Marzotto M, Calabuig M, Torriani S, Dellaglio F: Differences in faecal bacterial communities in coeliac and healthy children as detected by PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. FEMS Immunol-Med Microbiol 2007; 51: 562–568.
48 Nistal E, Caminero A, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Sáenz de Miera LE, Rodríguez-Aparicio LB, Casqueiro J: Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients. Biochimie 2012; 94: 1724–1729.
49 Sánchez E, Donat E, Ribes-Koninckx C, Fernández-Murga ML, Sanz Y: Duodenalmucosal bacteria associated with celiac disease in children. Appl Environ Microbiol 2013; 79: 5472–5479.
50 Sánchez E, Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: Reduced diversity and increased virulence-gene carriage in intestinal enterobacteria of coeliac children. BMC Gastroenterol 2008; 8: 50.
51 Shin NR, Whon TW, Bae JW: Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. Trends Biotechnol 2015; 33: 496– 503.
52 Iebba V, Conte MP, Lepanto MS, Di Nardo G, Santangelo F, Aloi M, Totino V, Checchi MP, Longhi C, Cucchiara S, Schippa S: Microevolution in fimH gene of mucosa-associated Escherichia coli strains isolated from pediatric patients with inflammatory bowel disease. Infect Immun 2012; 80: 1408–1417.
53 Sánchez E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y: Intestinal Staphylococcus spp. and virulent features associated with coeliac disease. J Clin Pathol 2012; 65: 830–834.
54 de Meij TG, Budding AE, Grasman ME, Kneepkens CM, Savelkoul PH, Mearin ML: Composition and diversity of the duodenal mucosa-associated microbiome in children with untreated coeliac disease. Scand J Gastroenterol 2013; 48: 530–536.
55 Kalliomäki M, Satokari R, Lähteenoja H, Vähämiko S, Grönlund J, Routi T, Salminen S: Expression of microbiota, Toll-like receptors, and their regulators in the small intestinal mucosa in celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012; 54: 727–732.
56 Tjellström B, Stenhammar L, Högberg L, Fälth-Magnusson K, Magnusson KE, Midtvedt T, Sundqvist T, Houlston R, Popat S, Norin E: Gut microflora associated characteristics in first-degree relatives of children with celiac disease. Scand J Gastroenterol 2007; 42: 1204–1208.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

58 Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, Taniguchi T, Takeda K, Hori S, Ivanov II, Umesaki Y, Itoh K, Honda K: Induction of colonic regulatory T cellsby indigenous Clostridium species. Science 2011;331:337–341.
59 Qiu X, Zhang M, Yang X, Hong N, Yu C: Fae-calibacterium prausnitzii upregulates regu-latory T cells and anti-inflammatory cyto-kines in treating TNBS-induced colitis. J Crohns Colitis 2013; 7:e558–e568.
60 Hoffmanová I, Sánchez D, Hábová V, Anděl M, Tučková L, Tlaskalová-Hogenová H: Se-rological markers of enterocyte damage and apoptosis in patients with celiac disease, au-toimmune diabetes mellitus and diabetes mellitus type 2. Physiol Res 2015; 64: 537–546.
61 Kim S, Becker J, Bechheim M, Kaiser V, Noursadeghi M, Fricker N, Beier E, Klaschik S, Boor P, Hess T, Hofmann A, Holdenrieder S, Wendland JR, Fröhlich H, Hartmann G, Nöthen MM, Müller-Myhsok B, Pütz B, Hornung V, Schumacher J: Characterizing the genetic basis of innate immune response in TLR4-activated human monocytes. Nat Commun 2014;5:5236.
62 Burrows MP, Volchkov P, Kobayashi KS, Chervonsky AV: Microbiota regulates type 1 diabetes through Toll-like receptors. Proc Natl Acad Sci USA 2015; 112: 9973–9977.
63 De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y: Effects of a gluten-free diet on gut microbio-ta and immune function in healthy adult human subjects. Br J Nutr 2009; 102: 1154–1160.
64 Verdu EF, Galipeau HJ, Jabri B: Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. Nat Rev Gastroenterol Hep-atol 2015;12:497–506.
65 Galipeau HJ, McCarville JL, Huebener S, Litwin O, Meise M, Jabri B, Sanz Y, Murray JA, Jordana M, Alaedini A, Chirdo FG, Verdu EF: Microbiota modulates the response to di-etary gluten in gnotobiotic mice. Am J Pathol 2015, in press.
66 De Palma G, Kamanova J, Cinova J, Olivares M, Drasarova H, Tuckova L, Sanz Y: Modulation of phenotypic and functional matura-tion of dendritic cells by intestinal bacteria and gliadin: relevance for celiac disease. J Leukoc Biol 2012;92:1043–1054.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab. 2015;67(suppl 2):28–41
DOI: 10.1159/000440991

ENFOQUE

Las prácticas alimenticias tempranas parecen no tener impacto alguno sobre el riesgo de desarrollar enfermedad celiaca durante la infancia

Reimpreso con permiso de: Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50

Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana

por Anna Chmielewska *et al*.

Mensajes clave

Antes, la principal evidencia que influenciaba las prácticas de nutrición temprana relacionadas con el riesgo de enfermedad celiaca provenía de estudios observacionales. En fecha reciente, se publicaron los resultados de dos estudios grandes de asignación aleatoria controlados: PREVENTCD y CELIPREV. El objetivo de estos estudios fue evaluar el efecto del momento de la introducción del gluten sobre el riesgo de enfermedad celiaca en niños en riesgo. Contrario a lo que se pensaba, el momento de la introducción del gluten a la dieta del lactante no influye sobre el riesgo de desarrollar enfermedad celiaca.

Conocimiento actual

La enfermedad celiaca es una alteración enteropática autoinmune en la cual el gluten de la dieta y las prolaminas relacionadas tienen un papel patogénico importante. Los individuos con susceptibilidad genética tienen un antecedente en el cual las variantes de los haplotipos DQ2/DQ8 de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) son los principales factores predisponentes. Los síntomas de la enfermedad celiaca varían entre la presentación asintomática y los síntomas gastrointestinales y no gastrointestinales con intensidad variable. La enfermedad celiaca afecta a alrededor de 1% de la población general en Europa, y reduce en gran medida la calidad de vida del paciente, además de generar una carga económica significativa para la sociedad. Siempre se ha encontrado una vasta inconsistencia en las publicaciones respecto al impacto del momento de la introducción del gluten sobre el riesgo de enfermedad celiaca.

Factor	Evidencia de respaldo
Lactancia materna como factor protector	No
Momento de la introducción del gluten	No
Introducción retardada del gluten	No
Modo de nacimiento (cesárea)	No
Antecedentes genéticos	Sí

Factores que influyen sobre el riesgo de desarrollar enfermedad celiaca: actualización

Implicaciones prácticas

El único tratamiento disponible para los individuos afectados es una dieta estricta libre de gluten. Hasta hace poco, se enfatizó en la nutrición temprana, principalmente en el momento y modo de introducción del gluten como medida preventiva. Sin embargo, los resultados de los estudios PREVENTCD y CELIPREV no respaldan las recomendaciones actuales. La edad del lactante a la introducción del gluten (entre los 4 y 12 meses de edad) no tiene efecto sobre la prevención de la enfermedad celiaca. El gluten sólo debe introducirse a la par que las recomendaciones generales para iniciar la alimentación complementaria del lactante. En niños sin predisposición genética para enfermedad celiaca, el momento y modo de introducción del gluten no influye sobre el riesgo de la enfermedad.

Lectura recomendada

Szajewska H, Shamir R, Chmielewska A, et al: Systematic review with meta-analysis: early infant feeding and coeliac disease —update 2015. Aliment Pharmacol Ther. 2015;41:1038-1054.

KARGER 125 Years

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel

Correo electrónico karger@karger.com

Gluten: ¿amigo o enemigo?

Annales Nestlé

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana

Anna Chmielewska[a] Małgorzata Pieścik-Lech[a] Hania Szajewska[a] Raanan Shamir[b]

[a]Medical University of Warsaw, Varsovia, Polonia; [b]Schneider Children's Medical Center, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel

Mensajes clave

- **La enfermedad celiaca (CD) es una enfermedad autoinmune causada por el gluten, que requiere una dieta libre del mismo a lo largo de la vida.**
- **La lactancia materna no previene la CD.**
- **El momento de la introducción del gluten a la dieta del lactante no influye sobre el riesgo de desarrollar CD.**
- **La predisposición genética (presencia de HLA-DQ2 y/o DQ8) es el factor principal que influye en el desarrollo de CD.**

Palabras clave

Enfermedad celiaca · Ambiente · Gluten · Lactancia materna · Nutrición

Resumen

La enfermedad celiaca (CD) es una afección autoinmune causada por la ingesta de gluten. Cuando se diagnostica, debe tratarse con una dieta estricta libre de gluten de por vida. Se ha sugerido que las prácticas alimenticias tempranas en el lactante son un medio para prevenir la CD. En las últimas décadas, los datos observacionales han apuntado a que la lactancia materna, en especial al tiempo de introducir el gluten a la dieta del lactante, así como el momento y el modo en que se administra el gluten por primera vez al lactante, tienen incidencia en la prevención o posibilidad de retrasar la ocurrencia de CD. Como resultado, las recomendaciones indican que es prudente evitar tanto la introducción temprana (< 4 meses) como tardía (> 7 meses) del gluten, e introducir el gluten de modo gradual mientras el lactante aún recibe leche materna, ya que esto coadyuva a reducir el riesgo de enfermedad celiaca, diabetes mellitus tipo 1 y alergia al trigo. En fecha reciente, los resultados de dos estudios grandes de asignación aleatoria han demostrado que la lactancia materna en general, la lactancia materna durante la introducción del gluten y la introducción temprana o tardía de gluten no influyen sobre el riesgo total de CD en individuos con predisposición genética. La introducción del gluten a los 4 *vs.* 6 meses en muy pequeñas cantidades, o a los 6 *vs.* 12 meses, produjo tasas similares de CD en estos niños. Por lo tanto, las prácticas alimenticias tempranas parecen no tener impacto alguno sobre el riesgo de desarrollar CD durante la infancia. En niños sin predisposición genética, la edad y el modo de introducción del gluten no influyen sobre el riesgo.

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basell

Antecedentes

La enfermedad celiaca (CD) es una afección sistémica mediada por inmunidad provocada por el gluten y prolaminas relacionadas en individuos con susceptibilidad genética, que se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes de gluten, anticuer-

KARGER 125

© 2015 Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel
0250–6807/15/0676–0043$39.50/0

Correo electrónico karger@karger.com

Anna Chmielewska, MD
Department of Paediatrics
Medical University of Warsaw
Dzialdowska 1, PL–01-184 Warsaw (Poland)
Correo electrónico aachmielewska@gmail.com

Cuadro 1. Duración de la lactancia materna y riesgo de CD [adaptada de 9, 10]

Primer autor [Ref.], estudio	Duración de la LM	Conclusiones
Estudios de intervención		
Vriezinga [7], PREVENTCD	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Lionetti [8], CELIPREV	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Estudios observacionales		
Incluidos en la revisión sistemática hecha por Akobeng [26]		
Auricchio [22]	LM < 30 días o alimentación con fórmula *vs.* LM > 30 días	Mayor riesgo de CD si LM es más breve
Ascher [37]	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Falth-Magnusson [35]	Mediana de duración de LM de 2.5 meses (CD) *vs.* 4 meses (controles)	Mayor riesgo de CD si LM es más breve
Greco [23]	LM < 90 días o alimentación con fórmula *vs.* LM > 90 días	Mayor riesgo de CD si LM es más breve
Ivarsson [36]	Mediana de duración de LM de 5 meses (CD) *vs.* 7 meses (controles)	Mayor riesgo de CD si LM es más breve
Peters [24]	CD disminuyó 63% para la duración de LM > 2 *vs.* < 2 meses	Mayor riesgo de CD si LM es más breve
Decker [25]	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Hummel [33][a]/Ziegler [59][a], BABYDIAB	Sin relación significativa entre autoinmunidad para CD y duración de LM	
Jansen [31], Generation R	Sin relación significativa entre autoinmunidad para CD y duración de LM	
Norris [27], DAISY	Sin relación significativa entre autoinmunización para CD y duración de LM	
Roberts [28]	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Størdal [32], MoBa[b]	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Welander [29]	Sin relación significativa entre CD y duración de LM	
Ziegler [30]	Sin relación significativa entre autoinmunidad para CD y duración de LM	

LM = lactancia materna.
[a] Misma población. [b] The Norwegian Mother and Child Cohort Study.

pos específicos de CD, haplotipos HLA-DQ2 o HLA-DQ8 y enteropatía [1]. El espectro clínico de la enfermedad varía desde síntomas gastrointestinales y extragastrointestinales de distinta intensidad hasta una presentación asintomática [1]. La CD afecta a cerca de 1% de la población general en Europa, lo cual la convierte en una enfermedad relativamente común con un impacto social significativo [2]. Una dieta estricta libre de gluten a lo largo de la vida continúa como el único tratamiento disponible para los individuos afectados. La calidad de vida de las personas que padecen CD tiende a disminuir, y la enfermedad impone una carga económica significativa sobre la sociedad [3-5]. Debido a ello, se ha fomentado la prevención primaria con un énfasis especial en la nutrición temprana, en particular la lactancia materna, así como en el momento y modo de introducción del gluten como medidas preventivas [6]. Hasta hace poco, la mayor parte de la evidencia sobre la influencia de las prácticas de nutrición temprana en el riesgo de CD derivaba de estudios observacionales, cuyos resultados no pueden interpretarse como causalidad, sino como asociaciones. Por ello, se recomendó la búsqueda de estudios de asignación aleatoria. En octubre de 2014 se publicaron dos estudios controlados de asignación aleatoria (RCT) grandes por dos equipos de investigación distintos, diseñados para examinar el efecto de diferentes momentos de introducción del gluten, los cuales brindaron datos largamente esperados sobre el efecto de diferentes momentos de la introducción del gluten [7, 8]. Uno de ellos, el proyecto Prevent Coeliac Disease (PREVENTCD; http://www.preventcd.com), investigó la hipótesis de la posible inducción de tolerancia al gluten en niños con predisposición genética mediante la introducción de pequeñas cantidades de gluten durante el periodo de lactancia materna, ya sea a los 4 o 6 meses de edad [7]. El otro estudio, Risk of CD and Age at Gluten Introduction (CELIPREV), comparó el riesgo de inmunización de CD y CD manifiesta en niños con riesgo incrementado a quienes se les introdujo gluten a la dieta a los 6 *vs.* 12 meses de edad [8]. Estos dos estudios, una revisión sistemática previa [9], y una reciente [10] que incorporó los resultados de los dos RCT sirvieron como base para la presente revisión.

Lactancia materna y CD

La lactancia materna es la manera óptima de alimentación para el lactante debido a numerosas razones relacionadas con la salud, y la lactancia materna exclusiva a los 4 a 6 meses de edad se recomienda alrededor del mundo [11, 12]. La lactancia materna se ha relacionado con la prevención de CD a través de diversos mecanismos. Dado que la leche materna es abundante en factores que implican inmunidad pasiva, como lisozima, lactoferrina y anticuerpos IgA, ayuda a prevenir infecciones gastrointestinales que se han relacionado con el desarrollo de CD [13-15]. La permeabilidad intestinal, que se ha demostrado que está disminuida en lactantes que reciben leche materna, es otro factor importante en la

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

patogenia de la CD [16, 17]. Además, en teoría, la lactancia materna coadyuva al desarrollo de tolerancia al gluten al exponer al lactante a ciertas fracciones de gluten digeridas con la leche humana [18, 19]. Además, el papel de la microbiota intestinal también ha tomado relevancia en el contexto de la prevención de CD debido a diferencias significativas en los patrones microbianos observados en lactantes alimentados al seno materno en comparación con aquellos alimentados con fórmula [20]. Los factores mencionados constituyen algunas explicaciones plausibles para el potencial protector de la leche materna contra CD.

Lactancia materna exclusiva o de cualquier tipo y su duración

Los estudios previos no han proporcionado evidencia clara sobre si la lactancia materna exclusiva comparada con las fórmulas o la alimentación mixta reduce el riesgo de CD o sólo retrasa el inicio de los síntomas [21-24]. Se han informado resultados contradictorios sobre el efecto de cualquier lactancia materna en comparación con la ausencia de la misma [24, 25]. En la revisión sistemática realizada por Akobeng *et al.* [26] (que implicó seis estudios observacionales), se informó sobre la protección conferida por una mayor duración de la lactancia materna contra CD. No obstante, los estudios observacionales siguientes no confirmaron este hallazgo [25, 27-30].

Los datos más recientes de estudios de cohorte grandes aún no proporcionan evidencia clara respecto al papel de la lactancia materna y la prevención de la CD. La cohorte prospectiva Generation R que incluyó a 1 679 niños daneses positivos para HLA-DQ2 y/o DQ8 evaluó la posible relación del momento de la introducción del gluten y la duración de la lactancia materna con la autoinmunidad para CD a los 6 años de edad. Se demostró que la lactancia materna por más de 6 meses no tuvo relación con un menor riesgo de autoinmunidad para CD [31]. Es interesante que el Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa), que involucró a más de 100 000 niños, demostró que la lactancia materna por más de 12 meses se relaciona con un mayor riesgo de CD [32]. En un estudio alemán de cohorte (BABYDIAB) se observó a más de 1 500 niños de padres con diabetes tipo 1 y autoinmunidad para los islotes y CD. No se encontró una relación entre la duración de la lactancia materna y el riesgo de autoinmunidad para CD [33]. En el estudio de corte transversal ETICS (Exploring the Iceberg of Celiacs in Sweden) se compararon dos cohortes desde el nacimiento [34]. La duración de la lactancia materna fue mayor en la cohorte de 1997 (9 meses) en comparación con aquella de la cohorte de 1993 (7 meses), siendo similar a la de la población general sueca. Los resultados acumulados para los cinco estudios observacionales [22, 23, 25, 28, 33] demostraron que cualquier lactancia materna comparada con la ausencia de la misma no tuvo efecto sobre el riesgo de desarrollar CD [razón de probabilidades (OR) 0.69, intervalo de confianza (IC) de 95% 0.30-1.59] [10]. Los resultados de la duración de la lactancia materna sobre el riesgo de CD se resumen en el Cuadro 1.

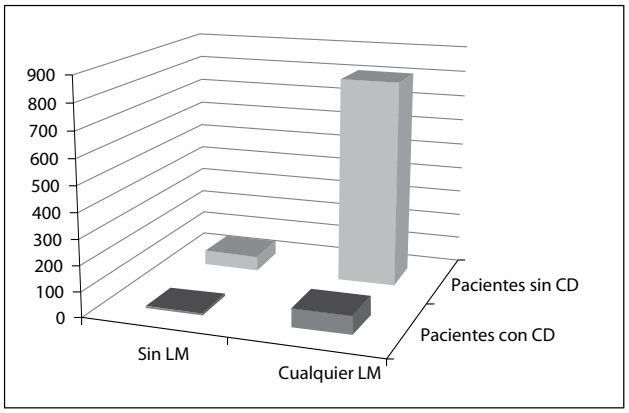


Figura 1. Sin lactancia materna *vs.* cualquier lactancia materna y riesgo de CD. Resultados del estudio PREVENTCD (no se encontraron diferencias significativas entre los grupos). LM = lactancia materna.

Los resultados de los dos estudios de intervención mencionados se publicaron en 2014. El estudio PREVENTCD fue un estudio de asignación aleatoria multicéntrico doble ciego controlado con placebo llevado a cabo en ocho países (Croacia, Alemania, Hungría, Israel, Italia, Países Bajos, Polonia y España), que involucró a 944 niños positivos para HLA-DQ2 o HLADQ8 que tenían por lo menos un familiar de primer grado con CD [7]. Los niños se asignaron al azar para recibir placebo (n = 469) o 100 mg de gluten con actividad inmunitaria (n = 475) a diario de las 16 a las 24 semanas de edad. A ambos grupos se les administraron cantidades crecientes de gluten de los 6 meses en adelante. La principal medida de desenlace fue la frecuencia de CD, que se confirmó por biopsia intestinal a los 3 años de edad. El CELIPREV fue un estudio multicéntrico de intervención con asignación aleatoria realizado en Italia [8]. El gluten se introdujo a la dieta a los 6 meses de edad (n = 297) o a los 12 meses de edad (n = 256) en lactantes en riesgo de CD, definido por la presencia de un familiar de primer grado con CD y una prueba positiva para HLA-DQ2 o HLA-DQ8 (evaluada después durante el estudio). La presencia de autoanticuerpos específicos para CD y CD manifiesta a los 5 años de edad fue la principal medida de desenlace.

Los resultados de PREVENTCD (Fig. 1) y CELIPREV demostraron que la lactancia materna exclusiva y cualquier tipo de lactancia materna no influyeron de modo significativo sobre el desarrollo de CD, así como tampoco lo hizo la duración de la lactancia materna (Cuadro 1). A pesar de lo anterior, es necesario interpretar estos datos con cautela,

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

Cuadro 2. Lactancia materna durante la introducción del gluten y riesgo de CD [adaptada de 6, 7]

Primer autor [Ref.], estudio	Conclusiones
Estudios de intervención	
Vriezinga [7], PREVENTCD	Sin efecto
Lionetti [8], CELIPREV	Sin efecto
Estudios observacionales	
Incluidos en el metaanálisis hecho por Szajewska [10]	
Falth-Magnusson [35]	Protector
Peters [24]	Protector
Ivarsson [36]	Protector
Norris [27], DAISY	Sin efecto
Aronsson [38], TEDDY	Sin efecto
Størdal [32], MoBa	Sin efecto[a]
Ascher [37]	Sin efecto
Acumulado	Sin efecto
Hummel [41], BABYDIAB	Sin efecto
Ivarsson [34], ETICS	Sin efecto

[a] ¿La lactancia materna predispone a CD?

ya que ambos estudios se diseñaron para evaluar el riesgo de CD en niños asignados al azar para la introducción de gluten a diversas edades, no el efecto de la lactancia materna sobre el riesgo de desarrollar CD.

Lactancia materna al momento de la introducción del gluten

Con anterioridad, en un metaanálisis llevado a cabo por Akobeng *et al.* [26] se sugirió que la lactancia materna al momento de la introducción del gluten podría ser protectora. Sin embargo, no menciona con claridad si mejoró la prevención a largo plazo contra CD o sólo retrasó el inicio de la enfermedad [24, 35-37]. Los resultados de los estudios de cohorte publicados en fecha reciente no confirmaron el efecto protector de la lactancia materna al momento de la introducción del gluten para desarrollar CD [31, 38]. Además, los resultados acumulados de siete estudios observacionales demostraron que la lactancia materna al momento de la introducción del gluten no tuvo efecto sobre el riesgo de desarrollar CD en comparación con la alimentación con fórmula (OR 0.88, IC 95% 0.52-1.51) [10]. Los resultados de ambos estudios (PREVENTCD y CELIPREV) de distribución aleatoria publicados en fecha reciente no demostraron un efecto protector de la introducción del gluten durante la lactancia materna [7, 8]. De nuevo, es necesario ser cautelosos al interpretar estos resultados, ya que ninguno de estos RCT se diseñó para valorar directamente el efecto de la lactancia materna sobre la CD. En el Cuadro 2 se presenta un resumen de los estudios que muestra el efecto de la lactancia materna al momento de la introducción del gluten.

Momento de la introducción del gluten

Las publicaciones han mostrado una gran inconsistencia respecto al impacto del momento de la introducción del gluten sobre el riesgo de CD. En 2008, con base en los resultados de estudios observacionales, que es la mejor evidencia disponible al momento, las organizaciones científicas europeas [European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) y European Food Safety Authority (EFSA)] recomendaron que es prudente evitar tanto la introducción temprana (< 4 meses) como tardía (> 7 meses) de gluten e introducir éste de manera gradual mientras el lactante aún recibe leche materna [39, 40]. Se consideró que esta estrategia disminuía el riesgo de CD (también el riesgo de diabetes tipo 1 y la alergia al trigo). Desde entonces, se cuenta con una cantidad sustancial de evidencia de ambos estudios de cohorte, y más importante, de RCT grandes. Los datos de los estudios observacionales y de intervención se resumen en el Cuadro 3.

En un estudio prospectivo de cohorte publicado antes por Norris *et al.* [27], tanto la introducción temprana (< 3 meses de edad) como la tardía (> 7 meses de edad) de gluten en niños con riesgo incrementado de CD y diabetes tipo 1 se relacionaron con mayor riesgo de autoinmunidad para CD. Otros estudios no informaron dichos efectos [24, 29, 30, 35, 36].

Dos estudios de cohorte más grandes [31, 32] informaron datos de comparación sobre la introducción de gluten antes y después de los 6 meses de edad. El estudio Generation R encontró que la exposición tardía *vs.* temprana no tuvo una relación significativa con la autoinmunidad para CD [31]. El Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa) demostró que la exposición tardía, pero no la temprana, al gluten aumentó el riesgo de CD, aunque esta diferencia tuvo significancia limítrofe (OR ajustado 1.27, IC 95% 1.01-1.65) [32].

En el estudio The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) se comparó la primera exposición al gluten antes de las 17 semanas, entre las 17 y 26 semanas, o después de las 26 semanas de edad, y no se encontraron diferencias en el riesgo de CD o autoinmunidad para CD entre los grupos [38]. Otro estudio de cohorte (BABYDIAB) no informó diferencias en la autoinmunidad para CD en lactantes a la introducción de gluten antes o después de los 3 meses de edad [33].

El estudio ETICS de diseño de corte transversal comparó dos cohortes desde el nacimiento compuestas por niños de 12 años de edad, y encontró una diferencia significativa en la prevalencia total de CD en niños nacidos durante la epidemia de CD (en 1993, cuando el gluten se introdujo desde los 6 meses de edad) y aquellos nacidos después de la epidemia (en 1997, en que la introducción de gluten implicó pequeñas cantidades administradas desde los 4 a los 6 meses de edad) [34].

Los resultados de los estudios de intervención diseñados para valorar el papel del momento de la introducción del gluten se publicaron en fecha reciente. En el estudio PREVENTCD el

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

Cuadro 3. Tiempo de introducción del gluten y riesgo de CD o autoinmunidad para CD [adaptada de 6, 7]

Primer autor [Ref.], estudio	Resultados
Estudios de intervención	
Vriezinga [7], PREVENTCD	Sin diferencia significativa en el riesgo de CD para distintos momentos de introducción del gluten (4 *vs.* 6 meses) a los 3 años
Lionetti [8], CELIPREV	6 *vs.* 12 meses: RR 2.36 (1.27-4.36) a los 2 años —predisposición—; sin diferencia significativa a los 5 años (desenlace primario)
Hummel [41]a/Beyerlein [42]a	Sin diferencia significativa en CD ni autoinmunidad para CD para distintos momentos de introducción del gluten (6 *vs.* 12 meses)
Sellitto [43]	Sin diferencia significativa en el riesgo de autoinmunidad para CD para distintos momentos de introducción del gluten (6 *vs.* 12 meses)
Estudios observacionales	
Falth-Magnusson [35]	Sin relación significativa entre CD y momento de introducción del gluten
Ivarsson [36]	Sin relación significativa entre CD y momento de introducción del gluten (diferentes intervalos temporales de 1 a 12 meses)
Norris [27], DAISY	1-3 vs. 4-6 meses: HR 2.94 (IC 95% 0.83-10.4) —predisposición a CD—; ≥ 7 vs. 4-6 meses: HR 1.78 (IC 95% 0.92-3.42) —predisposición
Peters [24]	Sin relación significativa entre CD y momento de introducción del gluten (diferentes intervalos temporales de ≤ 3 a > 5 meses)
Welander [29]	Sin relación significativa entre CD y momento de introducción del gluten (diferentes intervalos temporales de 0 a 12 meses)
Ziegler [30]	Sin relación significativa entre CD y momento de introducción del gluten (diferentes intervalos temporales de ≤ 3 a > 6 meses)
ansen [31], Generation R	Sin relación significativa entre autoinmunidad para CD y momento de introducción del gluten (< 6 vs. > 6 meses)
Størdal [32], MoBab	< 6 vs. > 6 meses: OR ajustado 1.27 (IC 95% 1.01-1.65) —significancia limítrofe para riesgo de CD
Hummel 2007 [33], BABYDIAB	Sin relación significativa entre autoinmunidad para CD y momento de introducción del gluten (< 3 o > 3 meses)
Aronsson [38], TEDDY	Sin relación significativa entre CD o autoinmunidad para CD y momento de introducción del gluten (< 17 vs. 17-26 vs. > 26 semanas)
Ivarsson [34], ETICS	Más CD en niños nacidos durante la epidemia de CD (1993; introducción de gluten a partir de los 6 meses de edad) que después de la epidemia (1997; introducción de gluten en pequeñas cantidades de los 4 a 6 meses de edad)

HR = razón de riesgo; RR = riesgo relativo.
[a] Misma población. [b] The Norwegian Mother and Child Cohort Study.

riesgo de CD a los 3 años de edad fue similar en el grupo que recibió 100 mg de gluten con actividad inmunitaria a diario de las 16 a las 24 semanas de edad, en comparación con el grupo placebo. La incidencia acumulada de CD fue 5.2% (IC 95% 3.6-6.8) [7]. Se comparó la introducción del gluten a los 6 *vs.* 12 meses en otros tres estudios. En el estudio CELIPREV la introducción más temprana de gluten aumentó el riesgo de autoinmunidad para CD (16 *vs.* 7%, $p = 0.002$) y CD manifiesta (12 *vs.* 5%, $p = 0.01$) a los 2 años, pero no tuvo efecto sobre el riesgo a los 5 años de edad, lo cual fue el desenlace primario del estudio [8]. De este modo, la introducción más tardía del gluten retrasó el inicio de la enfermedad sin influir sobre el riesgo global. Los resultados de PREVENTCD y CELIPREV se presentan en la Figura 2. Otros estudios de intervención tampoco informaron diferencias entre grupos respecto al riesgo de CD y/o autoinmunidad para CD [41-43] (Cuadro 3).

Cantidad de gluten a la introducción

Un estudio de Suecia analizó la cantidad de gluten ingerida por los niños. En aquellos < 2 años de edad, el riesgo de desarrollar CD fue mayor cuando el gluten se introdujo a la dieta en "mayores" cantidades en comparación con cantidades "pequeñas" o "medianas" sin cuantificación en gramos por día (OR ajustado 1.5, IC 95% 1.1-2.1). El efecto no se observó en niños de mayor edad [36]. Dichos datos provienen de la epidemia sueca de CD. Durante la década de 1980 Suecia presentó un incremento de cuatro veces el número de casos de CD. Este fenómeno fue precedido por el cambio de los hábitos dietéticos infantiles: aumento de la ingesta diaria de gluten y retraso del momento de la introducción del gluten. La cantidad de nuevos casos de CD disminuyó de manera significativa después de modificar las recomendaciones nutricionales y reducir la cantidad de gluten ingerido. Los

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

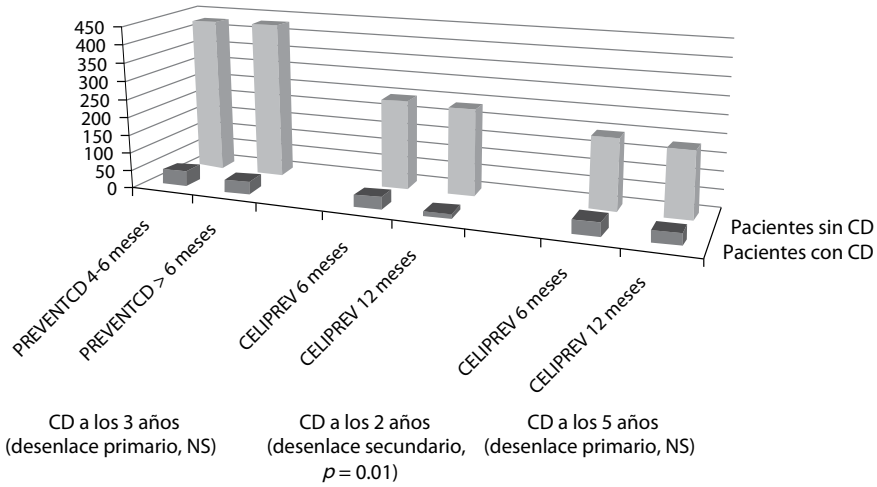


Figura 2. Momento de introducción del gluten y riesgo de CD: datos de los estudios PREVENTCD (sin diferencias significativas entre grupos) y CELIPREV [una diferencia significativa entre los grupos a los 2 años, pero no a los 5 años (desenlace primario)]. NS = no significativo.

datos de la epidemia sueca sugieren que la ingesta de grandes cantidades de gluten a la introducción, y quizá grandes cantidades ulteriores, incrementa el riesgo de un inicio temprano de CD. Sin embargo, no se descarta el hecho de que otros elementos, como productos específicos administrados en Suecia u otros factores ambientales, hayan tenido un papel en la epidemia.

Por último, se informó que el riesgo de desarrollar CD en individuos homocigotos para HLA-DQ2.5 y heterocigotos para HLA-DQ2.2/2.5 es significativamente mayor que en los sujetos heterocigotos para HLA-DQ2.5/no-DQ2. Es posible que la dosis del gen HLA-DQ2 esté relacionada con la diversidad de epítopes del gluten y el riesgo de CD [44]. Es plausible que la cantidad necesaria de gluten para desarrollar CD sea diferente en individuos de diferente riesgo genético.

El estudio PREVENTCD informó que la cantidad de gluten al destete no tuvo relación con el desarrollo de CD. Esta conclusión se basó en la ingesta diaria media de gluten después de la intervención en un subconjunto de participantes [7]. Empero, es importante señalar que no fue un desenlace planeado del estudio.

Otros factores ambientales

La predisposición genética y la exposición al gluten son dos factores innegables necesarios para el desarrollo de CD. Sin embargo, la mayoría de los pacientes positivos para HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 expuestos a gluten no desarrolla la enfermedad. El 30% de la población general porta genes predisponentes[45], en tanto que la CD ocurre sólo en 1% [1]. Además de la nutrición temprana, otros factores ambientales deben tener un papel. Se ha informado que las infecciones gastrointestinales repetidas aumentan el riesgo de CD [13, 14]. La permeabilidad intestinal aumentada es una probable causa, al permitir que las proteínas, como la gliadina, entren a la lámina propia y activen la reacción autoinmune. No obstante, la evidencia no es clara. Algunos estudios han encontrado que las infecciones al momento de la introducción del gluten no tienen relación con un mayor riesgo de CD [46, 47].

La microbiota intestinal también se ha investigado como un factor patogenético potencial en la CD. Se ha informado un desequilibrio de la microbiota duodenal y fecal en niños con CD, con proporciones aumentadas de especies de *Bacteroides* y reducidas de *Bifidobacterium*. Al introducir una dieta libre de gluten, se restauró un patrón más favorable sólo de manera parcial [48, 49]. La administración de *Bifidobacterium* junto con una dieta libre de gluten en niños con CD se investigó en un estudio de asignación aleatoria controlado con placebo [50]. Se encontró una disminución de la cantidad de *Bacteroides fragilis* y del contenido de IgA secretora en heces, lo cual podría confirmar el papel de la microbiota en la patogenia de la CD. Sin embargo, aún no queda claro si las diferencias en los patrones microbianos entre individuos celiacos y sin CD son un factor causal o una consecuencia de la enfermedad. De manera interesante, ha surgido una posible interacción entre el genotipo y la microbiota intestinal que predispone al desarrollo de CD en algunos estudios, lo cual se encuentra bajo investigación [20]. En lactantes con alto riesgo genético de desarrollar CD, el patrón bacteriano presenta diferencias significativas al compararse con lactantes en riesgo moderado o bajo [51-53]. Estudios adicionales sobre el papel potencial de la microbiota alterada en lactantes con predisposición genética para CD serán de utilidad para obtener más información [20].

Se ha sugerido que el parto por cesárea y las alteraciones relacionadas en el desarrollo de la homeostasis entéri-

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

ca durante el periodo neonatal influyen sobre la incidencia de CD [54]. No obstante, estudios de cohorte grandes más recientes no han encontrado una relación entre el modo de parto y la incidencia de CD [55, 56]. Se ha propuesto que, debido a la modulación de la inmunidad, la vacunación está implicada en el proceso del desarrollo de enfermedades autoinmunes [57]. Los escasos datos disponibles respecto a la CD no apoyan esta hipótesis [58].

Ni el momento específico de la introducción del gluten ni la lactancia materna protegieron contra CD en individuos con predisposición genética

Conclusiones

Los resultados de estudios de intervención publicados en fecha reciente no confirmaron los hallazgos previos de estudios observacionales y no respaldaron las recomendaciones actuales. Ni el momento específico de la introducción del gluten ni la lactancia materna protegieron contra CD en individuos con predisposición genética. Por lo tanto, es necesario actualizar las recomendaciones actuales para sugerir que debido a que la edad de la introducción del gluten (entre los 4 y 12 meses) no tiene efecto sobre la prevención de CD, el gluten sólo debe introducirse como parte de las recomendaciones para introducir los alimentos complementarios en general. Es importante enfatizar que, en niños sin predisposición genética a CD, el momento y modo de introducción del gluten no influyó en modo alguno sobre el riesgo. Inclusive, la lactancia materna por 6 meses y más debe promoverse debido a sus numerosos efectos positivos sobre la salud, pero la prevención de CD no debe utilizarse como una razón para hacerlo; no es necesario introducir el gluten mientras el lactante aún reciba leche materna. Respecto al modo de administración, a pesar de que alguna vez se sugirió una relación con la CD, parece no haber respaldo alguno para dicho vínculo. Por último, es posible que la microbiota intestinal tenga un mayor papel en la patogenia de la CD de lo que se consideró antes. El papel de otros factores ambientales como las infecciones o la vacunación aún se desconoce.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no cuentan con conflictos de intereses ni financieros relacionados con el contenido de este artículo. La redacción de este artículo se llevó a cabo mediante fondos del Nestlé Nutrition Institute.

Referencias

1 Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, et al: Guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012;54: 136–160.
2 Mustalahti, K, Catassi C, Reunanen A, et al:The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. Ann Med 2010; 42: 587– 595.
3 Kurppa K, Collin P, Mäki M, et al: Celiac disease and health-related quality of life. Expert Rev Gastroenterol Hepatol 2011; 5: 83–90.
4 Shamir R, Hernell O, Leshno M: Cost-effectiveness analysis of screening for celiac disease in the adult population. Med Decis Making 2006; 26: 1–12.
5 Hershcovici T, Leshno M, Goldin E, et al: Cost effectiveness of mass screening for celiac disease is determined by time-delay to diagnosis and quality of life on a gluten free diet. Aliment Pharmacol Ther 2010; 31: 901–910.
6 Troncone R, Ivarsson A, Szajewska H, Mearin ML; Members of European Multistake holder Platform on CD (CDEUSSA): Review article: future research on coeliac disease – a position multistakeholder platform on celiac disease (CDEUSSA). Aliment Pharmacol Ther 2008; 27: 1030–1043.
7 Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, et al: Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. N Engl J Med 2014; 371: 1304–1315.
8 Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, et al: Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. N Engl J Med 2014; 371: 1295–1303.
9 Szajewska H, Chmielewska A, Pieścik-Lech M, et al: Systematic review: early infant feeding and coeliac disease prevention. Aliment Pharmacol Ther 2012; 36: 607–618.
10 Szajewska H, Shamir R, Chmielewska A, et al: Systematic review with meta-analysis: early infant feeding and coeliac disease – update 2015. Aliment Pharmacol Ther 2015; 41: 1038–1054.
11 World Health Organization: The optimal duration of exclusive breastfeeding: report of an expert consultation. Geneva, Word Health Organization, 2001. http://www.who. int/nutrition/publications/optimal_duration_of_exc_bfeeding_report_eng.pdf(accessed September 4, 2012).
12 ESPGHAN Committee on Nutrition; Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, Michaelsen KF, Mihatsch W, Moreno LA, Puntis J, Shamir R, Szajewska H, Turck D, van Goudoever J: Breast-feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009; 49: 112–125.
13 Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, et al: Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. Am J Gastroenterol 2006; 101: 2333–2340.
14 Troncone R, Auricchio S: Rotavirus and celiac disease: clues to the pathogenesis and perspectives on prevention. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2007; 44: 527–528.
15 Solid LM: Breast milk against celiac disease. Gut 2002; 51: 767–768.
16 Heyman M, Abed J, Lebreton C, et al: Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. Gut 2012; 61: 1355–1364.
17 Shulman RJ, Schanler RJ, Lau C, et al: Early feeding, antenatal glucocorticoids, and human milk decrease intestinal permeability in preterm infants. Pediatr Res 1998; 44: 519– 523.
18 Chirdo FG, Rumbo M, Anon MC, et al: Presence of high levels of non-degraded gliadin in breast milk from healthy mothers. Scand J Gastroenterol 1998; 33: 1186–1192.
19 Verhasselt V: Neonatal tolerance under breastfeeding influence. Curr Opin Immunol 2010; 22: 623–630.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

20 Verdu EF, Galipeau HJ, Jabri B: Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2015; 12: 497–506.
21 Nash S: Does exclusive breast-feeding reduce the risk of coeliac disease in children? Br J Community Nurs 2003; 8: 127–132.
22 Auricchio S, Follo D, de Ritis G, et al: Does breast feeding protect against the development of clinical symptoms of celiac disease in children? J Pediatr Gastroenterol Nutr 1983; 2: 428–433.
23 Greco L, Auricchio S, Mayer M, et al: Case control study on nutritional risk factors in celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1988; 7: 395–399.
24 Peters U, Schneeweiss S, Trautwein EA, et al: A case-control study of the effect of infant feeding on celiac disease. Ann Nutr Metab 2001; 45: 135–142.
25 Decker E, Engelmann G, Findeisen A, et al: Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. Pediatrics 2010; 125:e1433–e1440.
26 Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, et al: Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Arch Dis Child 2006; 91: 39–43.
27 Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, et al: Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. JAMA 2005; 293: 2343–2351.
28 Roberts SE, Williams JG, Meddings D, et al: Perinatal risk factors and coeliac disease in children and young adults: a record linkage study. Aliment Pharmacol Ther 2009; 29: 222–231.
29 Welander A, Tjernberg AR, Montgomery SM, et al: Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood. Pediatrics 2010; 125:e530–e536.
30 Ziegler AG, Schmid S, Huber D, et al: Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. JAMA 2003; 290: 1721–1728.
31 Jansen MA, Tromp II, Kiefte-de Jong JC, et al: Infant feeding and anti-tissue transglutaminase antibody concentrations in the Generation R Study. Am J Clin Nutr 2014; 100: 1095–1101.
32 Størdal K, White RA, Eggesbø M: Early feeding and risk of celiac disease in a prospective birth cohort. Pediatrics 2013; 132: 1202–1209.
33 Hummel S, Hummel M, Banholzer J, et al: Development of autoimmunity to transglutaminase C in children of patients with type 1 diabetes: relationship to islet autoantibodies and infant feeding. Diabetologia 2007; 50:390–394.
34 Ivarsson A, Myléus A, Norström F, et al: Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding. Pediatrics 2013;131:e687–e694.
35 Falth-Magnusson K, Franzen L, Jansson G, et al: Infant feeding history shows distinct differences between Swedish celiac and reference children. Pediatr Allergy Immunol 1996; 7: 1–5.
36 Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, et al: Breast-feeding protects against celiac disease. Am J Clin Nutr 2002; 75: 914–921.
37 Ascher H, Krantz I, Rydberg L, et al: Influence of infant feeding and gluten intake on coeliac disease. Arch Dis Child 1997; 76: 113–117.
38 Aronsson CA, Lee H-S, Liu E, et al: Age at gluten introduction and risk of celiac disease. Pediatrics 2015; 135: 239–245.
39 ESPGHAN Committee on Nutrition; Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, et al: Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2008; 46: 99–110.
40 EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific opinion on the appropriate age for introduction of complementary feeding of infants. http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1423.pdf (accessed June 9, 2015).
41 Hummel S, Pfluger M, Hummel M, et al: Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. Diabetes Care 2011; 34: 1301–1305.
42 Beyerlein A, Chmiel R, Hummel S, et al: Timing of gluten introduction and islet autoimmunity in young children: updated results from the BABYDIET study. Diabetes Care 2014; 37:e194–e195.
43 Sellitto M, Bai G, Serena G, et al: Proof of concept of microbiome-metabolome analysis and delayed gluten exposure on celiac disease autoimmunity in genetically at-risk infants. PLoS One 2012; 7:e33387.
44 Vader W, Stepniak D, Kooy Y, et al: The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 12390–12395.
45 Kagnoff MF: Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. J Clin Invest 2007; 117: 41–49.
46 Welander A, Tjernberg AR, Montgomery SM, et al: Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood. Pediatrics 2010; 125: e530–e536.
47 Lebwohl B, Green PHR, Murray JA: Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. Arch Dis Child 2013; 98: 48–51.
48 Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, et al: Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and nonactive coeliac disease. BMC Microbiol 2008; 8: 232.
49 Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, et al: Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. J Clin Pathol 2009; 62: 264–269.
50 Olivares M, Castillejo G, Varea V, et al: Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of Bifidobacterium longum CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease. Br J Nutr 2014; 112: 30–40.
51 De Palma G, Capilla A, Nadal I, et al: Interplay between human leukocyte antigen genes and the microbial colonization process of the newborn intestine. Curr Issues Mol Biol 2010; 12: 1–10.
52 Sánchez E, De Palma G, Capilla A, et al: Influence of environmental and genetic factors linked to celiac disease risk on infant gut colonization by Bacteroides species. Appl Environ Microbiol 2011; 77: 5316–5323.
53 De Palma G, Capilla A, Nova E, et al: Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: the PROFICEL study. PLoS One 2012; 7:e30791.
54 Decker E, Engelmann G, Findeisen A, et al: Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. Pediatrics 2010; 125:e1433–e1440.
55 Emilsson L, Magnus MC, Størdal K: Perinatal risk factors for development of celiac disease in children, based on the prospective Norwegian Mother and Child Cohort Study. Clin Gastroenterol Hepatol 2015; 13: 921–927.
56 Sevelsted A, Stokholm J, Bønnelykke K, et al: Cesarean section and chronic immune disorders. Pediatrics 2015; 135:e92–e98.
57 Wraith DC, Goldman M, Lambert PH: Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? Lancet 2003; 362: 1659–1666.
58 Myléus A, Stenlund H, Hernell O, et al: Early vaccinations are not risk factors for celiac disease. Pediatrics 2012; 130:e63–e70.
59 Ziegler AG, Schmid S, Huber D, et al: Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. JAMA 2003; 290: 1721–1728.

Reimpreso con permiso de:
Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 2):43–50
DOI: 10.1159/000440992

73 | 3 | 15

Annales Nestlé

Gluten: amigo o enemigo

5 **Editorial**
Shamir, R. (Tel Aviv); Szajewska, H. (Varsovia)

7 Enfoque sobre: Efectos adversos del gluten de trigo
8 **Efectos adversos del gluten de trigo**
Koning, F. (Leiden)

15 Enfoque sobre: Sensibilidad al gluten
16 **Sensibilidad al gluten**
Catassi, C. (Ancona)

27 Enfoque sobre: Microbioma y gluten
28 **Microbioma y gluten**
Sanz, Y. (Valencia)

42 Enfoque sobre: Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana
43 **Prevención primaria de la enfermedad celiaca: factores ambientales con un enfoque sobre la nutrición temprana**
Chmielewska, A.; Pieścik-Lech, M.; Szajewska, H. (Varsovia); Shamir, R. (Tel Aviv)

KARGER

Nestlé Nutrition Institute