

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LAS PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL GLUTEN Y EVOLUCIÓN DE LOS ALIMENTOS SIN GLUTEN

Editado por:

Eduardo Arranz, Fernando Fernández-Bañares,
Cristina M. Rosell, Luis Rodrigo, Amado Salvador Peña.

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LAS PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL GLUTEN Y EVOLUCIÓN DE LOS ALIMENTOS SIN GLUTEN

E. Arranz, F. Fernández-Bañares, C. M. Rosell, L. Rodrigo y A.S. Peña.

Avances en el conocimiento de las patologías relacionadas con el gluten y evolución de los alimentos sin gluten
Publicado y editado por la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC) 2018
Diseño y maquetación: Cocomood Minds, S.L.
ISBN: 978-84-697-3325-7

Este libro es una traducción del libro original:
Advances in the Understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods E.
Arranz, F. Fernández Bañares, C.M. Rosell, L. Rodrigo and A.S. Peña 1st edition. 2015 OmniaScience
(Omnia Publisher SL) DOI: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.274> ISBN: 978-84-943418-2-3. Libro on line.
Acceso desde: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/view/274/173>

Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma

PRESENTACIÓN

La Sociedad Española de Enfermedad Celiaca (SEEC) es una sociedad científica multidisciplinar integrada por especialistas y personas interesadas pertenecientes a grupos clínico-asistenciales y de investigación, asociaciones de pacientes y empresas. Su objetivo es promover la comunicación y difusión de la enfermedad celíaca, y el intercambio de ideas para profundizar en el conocimiento tanto de sus bases biológicas como de los aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos, y de prevención; así como en el desarrollo y mejora de productos alimenticios que favorezcan la calidad de vida de los pacientes.

El presente libro cumple perfectamente con los objetivos de SEEC. Es una excelente obra de divulgación de los conocimientos actuales de la enfermedad desde un punto de vista multidisciplinar, que toca todos los aspectos descritos en el párrafo previo. Además es de los pocos libros sobre la enfermedad que incluye aspectos relacionados con la fabricación de alimentos sin gluten y las líneas de investigación para obtener alimentos libres de gluten nutricionalmente adecuados.

Los autores de los diferentes capítulos, tanto nacionales como internacionales, son expertos renombrados en sus diferentes campos, lo que proporciona al libro un valor innegable de profundización en los conocimientos científicos y bases biológicas de la enfermedad celíaca y otras enfermedades relacionadas con la ingesta de gluten. La divulgación y educación sanitarias son importantes para aumentar la concienciación de la enfermedad entre médicos de asistencia primaria y otros profesionales implicados en el diagnóstico, pero también entre los responsables políticos implicados en implementar medidas de ayuda para sufragar el costo de los alimentos sin gluten.

SEEC pretende ser un foro abierto al diálogo y al intercambio de ideas entre los diferentes profesionales implicados y también con las asociaciones de pacientes. Es un foro creativo en ideas innovadoras y nuevas líneas de investigación colaborativa, que es la base de los futuros avances en la enfermedad. El libro que presentamos refleja este espíritu innovador y transformador.

Fernando Fernández-Bañares
Presidente de la SEEC

PREFACIO GENERAL

Este libro es uno de los pocos que combinan el conocimiento de los aspectos básicos y clínicos de los desórdenes relacionados con el gluten con el conocimiento de la evolución del pan y de los productos libres de gluten.

Varios artículos han cubierto plenamente entidades de enfermedad tales como la enfermedad celíaca, dermatitis herpetiforme, ataxia cerebelosa y alergia al gluten y síndromes clínicos tales como la enteropatía no celíaca sensible al gluten. Otro artículo reseñó las complicaciones y enfermedades asociadas con los procesos clínicos.

En este libro, el término “pan” se refiere a un amplio concepto incluyendo una variedad de productos alimenticios con cereales que contienen gluten y así como los que son libres de gluten. Artículos subsiguientes se refieren a la evolución del pan, los diferentes cereales y las mejoras en los materiales básicos para la preparación del pan, en particular de los productos sin gluten.

Las dos áreas del conocimiento arriba mencionadas son presentadas en este ambicioso volumen con la intención de cubrir la necesaria integración del conocimiento entre campos que, hasta recientemente, estaban separados. Ambos campos son esenciales para pacientes, médicos y para las industrias alimentaria y farmacéutica. Si deseamos beneficiarnos de los más recientes avances que se han realizado en diferentes áreas del conocimiento, es crucial contar con una plataforma común para mejorar la calidad de vida de los pacientes. Este libro servirá como un primer paso en la construcción de dicha plataforma.

La predisposición genética es fundamental para el desarrollo de la enfermedad celíaca, la dermatitis herpetiforme, la alergia al gluten y, posiblemente, la ataxia por gluten. Sin ciertos factores ambientales, entre los cuales la ingesta de gluten es el principal ofensor, estas enfermedades no se declararán y no se manifestará ninguna enfermedad.

Basándose en la visión de establecer una plataforma común de conocimiento, nuestro libro tiene tres secciones. La primera sección trata sobre el conocimiento básico de las disciplinas que con-

trolan la respuesta inmune a los péptidos tóxicos resultantes de la digestión enzimática del gluten. La segunda sección reseña los avances en la comprensión del espectro clínico de los síndromes clínicos. La tercera sección explora la evolución del gluten en particular y de los productos basados en pan más ampliamente consumidos en el Occidente. También describe el gran reto de la elaboración de productos libres de gluten de alta calidad los cuales, no obstante, serían menos caros que los productos disponibles actualmente.

En el prefacio de la sección I, Eduardo Arranz resume los temas discutidos por un grupo de expertos que laboran en las áreas básicas de la investigación clínica. En su prefacio, dirige la atención del lector hacia el capítulo sobre nuevos avances en genética y genómica de los genes HLA y no-HLA. Adicionalmente, hace referencia a los mecanismos inmunológicos de intolerancia intestinal a las proteínas de la dieta presentes en los cereales; a los péptidos inmunoestimuladores y tóxicos; al papel modulador de la microbiota intestinal, los cuales también son descritos en otros capítulos. Este nuevo conocimiento ha llevado a nuevas estrategias para desarrollar alternativas a la dieta libre de gluten. Estas nuevas posibilidades se discuten hacia el final de la sección I. Con estos desarrollos, la industria farmacéutica probablemente se interesará en estos procesos tan comunes.

En el prefacio de la sección II, Fernando Fernández-Bañares hace un sumario de las diferentes perspectivas de los avances en el diagnóstico, las pruebas serológicas más apropiadas y sobre las nuevas herramientas. En uno de los capítulos se refiere al tema de si la biopsia intestinal sigue siendo aún el “estándar de oro” que hasta recientemente ha dominado el diagnóstico y la patología de la enfermedad celíaca. Otro capítulo describe las diferencias en manifestaciones clínicas y criterios diagnósticos en niños, adolescentes y adultos. Otros capítulos resumen el conocimiento sobre diferentes entidades clínicas, las manifestaciones extra-intestinales muy comunes, los nuevos síndromes relacionados con el gluten y los desórdenes asociados que a menudo se encuentran en pacientes que sufren de enfermedad celíaca y/o dermatitis herpetiforme.

Se presta especial atención al capítulo sobre la enfermedad celíaca refractaria. Esta condición tiene una grave significación pronóstica. Los capítulos hacia los que Fernando Fernández-Bañares dirige la atención del lector tratan sobre el seguimiento de pacientes con enfermedad celíaca en quienes la diana terapéutica debería ser una total recuperación de la mucosa. También se refiere a la calidad de vida y al malestar psicológico en algunos pacientes con enfermedad celíaca y a aquellos con sensibilidad al gluten no celíaca. Hacia el final de la sección II incluye un capítulo comprensivo sobre entidades médicas que se desarrollan cuando el trigo se comporta como un alérgeno, tales como el asma de los panaderos y la alergia a los alimentos y al polen de trigo.

En el prefacio de la sección III, Cristina M. Rosell, actualiza la información disponible sobre la evolución de los alimentos sin gluten. Ella dirige la atención del lector hacia los capítulos sobre la taxonomía de los cereales, el papel de la domesticación y crianza de los cereales, así como a las recientes herramientas analíticas para la detección del gluten. Estas son áreas en desarrollo que requerirán nuevas políticas y regulaciones tal y como se describe en uno de los capítulos. También se refiere a capítulos que tratan sobre productos de panadería libres de gluten y sobre la pasta,

así como sobre alimentos autóctonos libres de gluten. Estos productos aún son importantes en América Latina. Ella también dirige la atención del lector al capítulo sobre el desarrollo de bebidas espirituosas y bebidas en general sin gluten. El capítulo final de esta sección hace énfasis sobre el mercadeo y los temas nutricionales pertinentes a la calidad de los productos libres de gluten.

Este libro será de interés para los científicos clínicos e investigadores en los campos de la medicina, inmunología y patología, para los profesionales en el campo de los beneficios nutricionales y de salud de los productos sin gluten, para las autoridades reguladoras, para los químicos y tecnólogos de alimentos. Confiamos en que será de ayuda para la práctica de nutricionistas, dietistas, panaderos industriales y académicos involucrados en la enseñanza de pregrado y postgrado sobre los desórdenes relacionados con el gluten, para pacientes, asociaciones de pacientes, así como para el público general que se interese en la nutrición.

El capítulo introductorio sobre la epidemiología de la enfermedad celíaca y de los desórdenes relacionados con el gluten resume el conocimiento más reciente y subraya la necesidad de los estudios sistemáticos a nivel mundial en esta área. Los datos disponibles sugieren la necesidad de planear subsecuentes estudios epidemiológicos para comprender la historia natural de los desórdenes relacionados con el gluten y para obtener los datos para evaluar el costo financiero de estas enfermedades sobre los sistemas de salud.

Reconocimientos

Hemos tenido la fortuna de trabajar con tres editores, líderes en sus respectivos campos de investigación.

Eduardo Arranz, MD, PhD, Catedrático de Inmunología, Universidad de Valladolid, España.

Fernando Fernández-Bañares, MD, PhD, especialista en Enfermedades Digestivas en el Servei de Digestiu, Hospital Universitari Mutua Terrassa, Terrassa, España, y Presidente de SEEC, las Sociedad Española de Enfermedad Celíaca.

Cristina M. Rosell, PhD en el departamento de Ciencia de los Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Valencia, España. Es la actual editora de la Revista de Ciencia Alimentaria y Tecnología (Journal of Food Science and Technology).

Los tres editores han podido reunir un grupo de excelentes autores, todos investigadores activos y reconocidos. Estamos muy agradecidos porque hayan compartido su conocimiento y pericia.

Queremos expresar nuestro reconocimiento a Dña. Amavilia Pérez Villavicencio y a su marido D. Carlos Beirute, Directivos de la Asociación de Celíacos de San José de Costa Rica, por su magnífica colaboración en la traducción de los capítulos del inglés del libro publicado en el 2015, en circunstancias difíciles y que han llevado a cabo altruistamente y con gran eficacia.

Agradecemos las correcciones de estilo llevadas a cabo por el Dr. Luis Rodrigo y la revisión final de todos los autores de los diferentes capítulos que componen el libro.

Finalmente, deseamos agradecer a Dña. Berta Velasco Gatón, Secretaria de la SEEC de Valladolid, por su pericia y organización en todo lo referente a la producción de este libro y a Cocomood Minds S.L por su maquetación.

Enero de 2018

Amado Salvador Peña y Luis Rodrigo

ÍNDICE DE AUTORES

ÁLVAREZ Juan B.

Departamento de Genética, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba. Córdoba, España.

ARIAS RODRÍGUEZ Laura

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina. Universidad de León. León, España.

ARMENTIA Alicia

Servicio de Alergia. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid, España.

ARRANZ SANZ Eduardo

Laboratorio de la Inmunología de las Mucosas. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valladolid, España.

BARRO LOSADA Francisco

Instituto para la Agricultura Sostenible. Consejo de Investigación Nacional Español, (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Córdoba, España.

BERNARDO David

Unidad de Gastroenterología. Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (ISS-IP). Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Madrid, España.

BILBAO José Ramón

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.
Bizkaia, España

BUSTAMANTE María Ángeles

Departamento de Nutrición y Ciencia Alimentaria. Universidad del País Vasco (UPV-EHU).
Álava, España.

CAMINERO Alberto

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University.
Hamilton, Canadá.

CARRASCO Anna

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa.
Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).
Terrassa, Barcelona, España.

CASELLAS Francesc

Unidad de Investigación del Sistema Digestivo, Hospital Universitari Vall d'Hebron Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).
Barcelona, España.

CHIRDO Fernando G.

Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos-IIFP (UNLPCONICET). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.
La Plata, Argentina.

ESCUDERO-HERNÁNDEZ C.

Laboratorio de Inmunología de la Mucosa. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
Valladolid, España.

ESTEVE María

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).
Terrassa, Barcelona, España.

FARRÉ MASIP Carme

Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital Universitari Sant Joan de Déu. University of Barcelona.

Esplugues de Llobregat, Barcelona, España.

FERNÁNDEZ-BAÑARES Fernando

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Terrassa, Barcelona, España.

FERNÁNDEZ-JIMÉNEZ Nora

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.

Bizkaia, España.

GARCÍA María Alejandra

Universidad Nacional de La Plata (UNLP) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA).

La Plata, Argentina.

GARROTE José Antonio

Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega.

Valladolid, España.

GIL-HUMANES Javier

Departamento de Genética, Biología y Desarrollo Celular y Centro para Ingeniería del Genoma. Universidad de Minnesota.

Minneapolis, Minnesota, USA.

GIMÉNEZ María J.

Instituto para la Agricultura Sostenible. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Córdoba, España.

GÓMEZ-PALLARES Manuel

Área de Tecnología de Alimentos, Colegio de Ingeniería Agrícola (ETSIAA), Universidad de Valladolid.

Palencia, España.

HERRERA-DE GUISE Claudia

Unidad de Investigación del Sistema Digestivo, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).
Barcelona, España.

KNIGHT Stella C.

Antigen Presentation Research Group. Imperial College London. Northwick Park and St Mark's Campus.
Harrow, Reino Unido.

LUCENDO Alfredo J.

Departamento de Gastroenterología. Hospital General de Tomelloso.
Tomelloso, Ciudad Real. España.

MARINÉ Meritxell

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. University of Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).
Terrassa, Barcelona, España.

MATOS S. María Estela

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
Caracas, Venezuela.

MCCARVILLE Justin L.

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University.
Hamilton, Canadá.

MEARIN María Luisa

Unidad de Gastroenterología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Centro Médico de la Universidad de Leiden (LUMC).
Leiden, Holanda.

MENA M^a Carmen

Facilidad Departamento de Proteómica y Unidad del Gluten. Centro Nacional Español para la Biotecnología. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Madrid, España.

MOLINA-INFANTE Javier

Servicio de Gastroenterología. Hospital San Pedro de Alcántara.
Cáceres, España.

MONTORO HUGUET Miguel

Departamento de Medicina. Universidad de Zaragoza. Jefe de la Unidad de Gastroenterología y Hepatología. Hospital San Jorge.
Huesca, España.

OLIVARES Marta

Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA). Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Valencia, España.

PALAZZO Juan P.

Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio. Sidney Kimmel Medical College at Thomas Jefferson University.
Philadelphia, EE.UU.

PEÑA Amado Salvador

Profesor Emérito, Centro Médico de la *Vrije Universiteit* (VUmc), Laboratorio de Inmunogenética, Departamento de Microbiología Médica y Control de Infecciones.
Amsterdam, Holanda.

PLAZA-IZURIETA Leticia

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.
Bizkaia, España.

POLANCO Isabel

Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Jefe del Servicio de Gastroenterología y de Nutrición Pediátrica, La Paz. Hospital de Niños de la Universidad Autónoma. La Paz.
Madrid, España.

RIBES-KONINCKX Carmen

Jefe de la Unidad de Gastrohepatología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe.
Valencia, España.

RODRIGO Luis

Profesor Emérito de Medicina. Universidad de Oviedo.
Jefe del Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA).
Oviedo, España.

ROSELL Cristina M.

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Valencia, España.

SANTOLARIA-PIEDRAFITA Santos

Unidad de Gastroenterología y Hepatología. Hospital San Jorge.
Huesca, España.

SANTOS Javier

Departamento de Gastroenterología. Hospital Universitario Río Hortega.
Valladolid, España.

SANZ Yolanda

Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA). Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Valencia, España.

SCIARINI Lorena S.

Instituto de Ciencia Alimentaria y Tecnología (ICYTAC). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional de Córdoba (UNC).
Córdoba, Argentina.

SIMÓN Edurne

Departamento de Nutrición y Ciencia Alimentaria. Universidad del País Vasco (UPV-EHU).
Vitoria, España.

SOUSA Carolina

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.
Sevilla, España.

VAQUERO AYALA Luis

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina. Universidad de León.

León, España.

VERDU Elena F.

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University;

Hamilton. Canadá.

VIÑA Sonia Zulma

Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Curso Bioquímica y Fitoquímica.

La Plata, Argentina.

VIVAS ALEGRE Santiago

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina.

León, España.

ÍNDICE

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y DE LOS PROCESOS NO CELÍACOS RELACIONADOS CON EL GLUTEN.

Amado Salvador Peña, Luis Rodrigo 18

SECCIÓN I: GENÉTICA, GENOMICA, INMUNOLOGÍA Y SU APLICACIÓN AL TRATAMIENTO.

Eduardo Arranz 57

CAPÍTULO 1 | GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA. GENES HLA Y NO-HLA.

Leticia Plaza-Izurietta, Nora Fernández-Jiménez, José Ramón Bilbao 61

CAPÍTULO 2 | MECANISMOS DE LA TOLERANCIA INTESTINAL A LAS PROTEÍNAS DE LA DIETA.

David Bernardo, Stella C. Knight 81

CAPÍTULO 3 | PROTEÍNAS DE LOS CEREALES: PÉPTIDOS INMUNOESTIMULADORES Y TÓXICOS.

Fernando G. Chirido, Eduardo Arranz 111

CAPÍTULO 4 | PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Celia Escudero-Hernández, José Antonio Garrote, Eduardo Arranz 130

CAPÍTULO 5 | MICROBIOTA INTESTINAL Y ENFERMEDAD CELÍACA.

Marta Olivares, Yolanda Sanz 156

CAPÍTULO 6 | TERAPIAS ADYUVANTES Y OPCIONES A LA DIETA SIN GLUTEN EN LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Justin L. Mc Carville, Alberto Caminero, Elena F, Verdu 180

CAPÍTULO 7 | NUEVAS TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Fernando Fernández-Bañares, Carme Farré, Anna Carrasco, Meritxell Mariné, María Esteve 207

CAPÍTULO 8 | LA BIOPSIA INTESTINAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA: ¿ES AÚN EL PATRÓN ORO?

Juan P. Palazzo 222

CAPÍTULO 9 | MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS: DIFERENCIAS ENTRE NIÑOS, ADOLESCENTES Y ADULTOS.

María Luisa Mearin, Miguel Montoro-Huguet, Isabel Polanco, Carmen Ribes-Köninckx, Santos Santolaria 235

CAPÍTULO 10 | MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y TRASTORNOS ASOCIADOS.

Alfredo J. Lucendo, Luis Rodrigo, A. Salvador Peña 276

CAPÍTULO 11 | SEGUIMIENTO DEL PACIENTE CELÍACO: ¿ES LA RECUPERACIÓN DE LA MUCOSA UN OBJETIVO DEL TRATAMIENTO?

Santiago Vivas, Laura Arias, Luis Vaquero 328

CAPÍTULO 12 | CALIDAD DE VIDA Y TRASTORNOS PSICOLÓGICOS EN EL PACIENTE CELÍACO.

Claudia Herrera de Guise, Francesc Casellas 342

CAPÍTULO 13 | SENSIBILIDAD AL GLUTEN NO CELÍACA.

Javier Molina-Infante, Santos Santolaria, Fernando Fernández-Bañares 356

CAPÍTULO 14 EL TRIGO COMO ALÉRGENO: ASMA DE LOS PANADEROS, ALERGIA ALIMENTARIA Y AL TRIGO. Alicia Armentia, Eduardo Arranz, José Antonio, Javier Santos	375
CAPÍTULO 15 TAXONOMÍA DE LOS CEREALES: EL PAPEL DE LA DOMESTICACIÓN Y LA MEJORA GENÉTICA EN LA INTOLERANCIA AL GLUTEN. María J. Giménez, Javier Gil-Humanes, Juan B. Álvarez, Francisco Barro	398
CAPÍTULO 16 HERRAMIENTAS ANALÍTICAS PARA LA DETECCIÓN DE GLUTEN. POLÍTICAS Y REGULACIÓN. M ^a . Carmen Mena, Carolina Sousa	425
CAPÍTULO 17 PRODUCTOS DE PANADERÍA Y PASTA SIN GLUTEN. Manuel Gómez, Lorena S. Sciarini	457
CAPÍTULO 18 PRODUCTOS ALIMENTARIOS AUTÓCTONOS LIBRES DE GLUTEN (AMÉRICA DEL SUR Y OTROS PAÍSES). María Alejandra García, Sonia Zulma Viña	490
CAPÍTULO 19 BEBIDAS ALCOHÓLICAS SIN GLUTEN. María Ángeles Bustamante, Edurne Simón	522
CAPÍTULO 20 ASPECTOS NUTRICIONALES Y COMERCIALIZACIÓN DE ALIMENTOS SIN GLUTEN. Cristina M. Rosell, María Estela Matos	546

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y DE LOS PROCESOS NO CELÍACOS RELACIONADOS CON EL GLUTEN

Amado Salvador Peña¹, Luis Rodrigo²

¹ Profesor Emérito, Laboratorio de Inmunogenética, Departamento de Microbiología Médica y Control de Infecciones, Centro Médico VU, Vrije Universiteit, Amsterdam, Holanda.

² Profesor Emérito de Medicina, Departamento de Gastroenterología y Medicina, Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

pena.as@gmail.com

lrodrigosaez@gmail.com

Cómo citar este capítulo:

Peña AS, Rodrigo L. *Epidemiología de la Enfermedad Celíaca y de los Procesos No Celíacos Relacionados con el Gluten*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, Editores. *Avances En la Comprensión de la Patología Relacionada con el Gluten y la Evolución de los Alimentos Libres de Gluten*.

Resumen:

La epidemiología de la enfermedad celíaca y de los procesos no celíacos relacionados con el gluten aún es un campo abierto esperando ser explorado. No se han realizado muchos estudios en poblaciones bien definidas. Hemos analizado la prevalencia reportada en estudios que han usado diferentes metodologías y considerado los hallazgos obtenidos en áreas nuevas y antiguas, con la intención de incrementar la conciencia sobre la frecuencia de estos trastornos. Los datos resaltan la necesidad de planear nuevos estudios epidemiológicos apropiados para comprender la historia natural de la enfermedad y evaluar la carga de estas enfermedades sobre los Sistemas de Salud.

La enfermedad celíaca presenta una distribución global. En la infancia, los estudios epidemiológicos, hasta el momento, se han concentrado sobre la determinación de su incidencia. Existe una prevalencia homogénea, relativa en los descendientes de origen caucasoide. No obstante, se observa una notable heterogeneidad de la misma en varios países y continentes. En algunos países, los estudios en donantes de sangre han contribuido a generar conciencia sobre la enfermedad celíaca y son la única fuente de información disponible.

La prevalencia promedio de la enfermedad celíaca en los EE.UU. es muy similar a la que se ha observado en Europa. La prevalencia más elevada se encuentra entre la población Saharawi y la más baja en Japón. Estudios recientes han confirmado la presencia de la enfermedad celíaca en China y América Central, países en los que previamente se consideraba que los trastornos relacionados con el gluten eran desconocidos.

Analizamos la casi inexistente epidemiología de los trastornos relacionados con el gluten, no celíacos. La epidemiología mundial de la dermatitis herpetiforme sugiere una heterogeneidad más fuerte de la que se encuentra en la enfermedad celíaca. La incidencia de alergias y enfermedades autoinmunes en los EE.UU. y otras naciones industrializadas está aumentando en los últimos años, Los procesos relacionados con el gluten no son una excepción.

Esperamos que un conocimiento mejorado sobre la distribución mundial de los diferentes procesos relacionados con el gluten nos ayudará a comprender mejor el papel que desempeñan los diferentes factores genéticos y las diversas influencias ambientales involucradas en la patogénesis de estas enfermedades. Los estudios epidemiológicos realizados a nivel mundial son necesarios para determinar el impacto global que representan sobre los Sistemas de Salud en los diferentes países.

Palabras clave:

Epidemiología, enfermedad celíaca, procesos relacionados con el gluten no celíacos, dermatitis herpetiforme, ataxia por gluten, prevalencia, incidencia.

1. Introducción

La enfermedad celíaca es un proceso sistémico de naturaleza autoinmune relacionada con la existencia de una intolerancia permanente al gluten que se presenta en individuos genéticamente susceptibles. A pesar de que se trata principalmente de una enfermedad del intestino delgado, a menudo afecta varios órganos, tanto dentro, como fuera del tracto gastrointestinal. Las características clínicas son cambiantes, a menudo carentes de síntomas gastrointestinales, lo que hace aún más complicado el diagnóstico, así como los estudios sobre su patogenia y epidemiología. Su realización es importante para ayudar a entender las causas de la enfermedad y para cuantificar su impacto sobre la salud en diversas áreas geográficas.

En la enfermedad celíaca de la infancia, los estudios epidemiológicos se han concentrado, por el momento, principalmente sobre la determinación de su incidencia. Existen, a través de Europa, diversas investigaciones sobre el tema. Las determinaciones de la prevalencia de la enfermedad celíaca en diferentes países incluyen a niños y adultos.

En lo referente a la incidencia, un estudio danés demográficamente homogéneo que cubrió un período de 15 años¹ halló una tasa bruta de 0,10 por cada 1000 nacimientos vivos, representando la tasa más baja hallada en cualquier estudio epidemiológico de similares características. En los Países Bajos, se halló una baja incidencia de 0'18 por cada 1.000 nacimientos vivos² durante el período que va de 1976 a 1990. En contraste, en otros países occidentales, se han hallado tasas más elevadas de 0'33 a 8 casos, por cada 1.000 nacimientos vivos. En Suecia, entre 1970 y 1988, la incidencia acumulada de enfermedad celíaca a los 2 años de edad por cada 1.000 niños nacidos vivos se incrementó significativamente de 0'31 en la primera cohorte de nacimientos a 2'93 en la última cohorte³. De acuerdo con los autores de Göteborg, esta incidencia convierte a la enfermedad celíaca en una de las enfermedades crónicas más comunes entre los niños suecos.

En Sicilia, se alcanzó en 1986, una tasa de incidencia cumulativa máxima por cohorte de nacimiento, de hasta 1'65 por cada 1.000 nacimientos vivos. Cuando la tasa de incidencia fue ajustada para los años del seguimiento, la tasa real fue de 3 casos por cada 1.000 nacimientos vivos⁴ y recientemente en España, un registro prospectivo y multicéntrico a nivel nacional de la enfermedad celíaca, en niños menores de 15 años, analizando los casos descritos desde el primero de junio del 2006 al 31 de mayo del 2007, halló una tasa de incidencia de 7'9 casos por cada 1.000 nacimientos vivos. Esta tasa es mucho más elevada que las actuales tasas de incidencia de enfermedad celíaca observada en otros países europeos⁵.

En este capítulo se hace también un enfoque sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca en adultos. Revisamos la prevalencia que se ha observado en muchos estudios, utilizando métodos diferentes de epidemiología formal. No se han llevado a cabo muchos estudios en poblaciones bien definidas. Nos concentramos sobre los hallazgos obtenidos en diversas áreas, para dirigir la atención a la necesidad de planear más estudios epidemiológicos apropiados con el fin de comprender mejor la historia natural de la enfermedad.

La enfermedad celíaca tiene una distribución global a nivel mundial. Hay una prevalencia relativamente homogénea en las personas de de ascendencia caucasoide. Existe una cierta heterogeneidad entre los diversos varios países y continentes. Varias causas podrían explicar las diferencias observadas entre países, inclusive entre diferentes regiones del mismo país. Una posible explicación es la variabilidad en el conocimiento y la experiencia de los médicos que realizan el diagnóstico de la enfermedad, debido a la existencia de múltiples formas de presentación clínica. Ello probablemente resulta, en una identificación retrasada de la enfermedad. Además, desde el nivel del especialista, varía el grado de conciencia de sospecha de la enfermedad celíaca. También existen diferencias en la disponibilidad de pruebas diagnósticas y en su interpretación adecuada⁶. Existe un incremento en la incidencia de las formas subclínicas o silentes de la enfermedad celíaca, lo que también dificulta su diagnóstico. Los marcadores extraintestinales más frecuentes de enfermedad celíaca subclínica, son la presencia de anemia por deficiencia de hierro, la dermatitis herpetiforme, osteoporosis y estomatitis aftosa recurrente. Las presentaciones más frecuentes de la enfermedad celíaca silente, se encuentran entre familiares de primer grado, en diversos tipos de enfermedad tiroidea y en pacientes con diabetes mellitus insulín-dependiente⁷.

Consideramos que un mejor conocimiento sobre la distribución mundial de la enfermedad celíaca, ayudará a comprender mejor cual es el papel que desempeñan los diferentes factores genéticos y de las diversas influencias ambientales involucradas en la patogenia de la enfermedad celíaca. La determinación de la epidemiología de la enfermedad celíaca ayudará a evaluar mejor cual es su verdadero impacto sobre los sistemas de salud en diferentes países.

2. Heterogeneidad y Dificultades en la Realización de Estudios Epidemiológicos

La mayoría de los estudios epidemiológicos han sido llevados a cabo mediante la determinación en sangre de marcadores serológicos específicos de la enfermedad celíaca, tales como la detección de los anticuerpos antigliadina IgA (AGA), los anticuerpos transglutaminasa antitissular IgA (tTG) y/o los anticuerpos antiendomiso IgA (EMA). Los marcadores de susceptibilidad genética más empleados habitualmente son los antígenos HLA de clase II, HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8, no han sido tomados en cuenta de forma habitual, excepto por algunos estudios. El tipaje completo del HLA-DQ de todos los pacientes ha sido estudiado por Hadithi y cols.⁸. Algunos autores han incluido los hallazgos histológicos de muestras de biopsia duodenal, basándose en la presencia de atrofia vellositaria y más recientemente, en el incremento de los linfocitos

Durante la última década, los grandes estudios de asociaciones de todo el genoma (*large genome-wide associations studies*, GWAS), han identificado más de 40 genes no-HLA, asociados con la enfermedad celíaca. No obstante, estos genes, identificados por medio de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) dentro de o cercanos al gen, solo podrán proporcionar una pequeña contribución al modo de herencia de la enfermedad celíaca. No se han publicado, aparte de los genes HLA situados en el brazo corto del cromosoma 6, estudios de cribado basados en otros marcadores genéticos que posiblemente tengan una influencia sobre la aparición y desarrollo de la enfermedad celíaca⁹⁻¹¹.

En familias con enfermedad celíaca, la presencia de ciertos SNPs mejora la capacidad de predicción de padecer una enfermedad celíaca en familiares de primer grado, en particular en los grupos HLA de bajo riesgo¹². Romanos et al. han sugerido usar GWAS como un primer paso para lograr mejores diagnósticos y pronóstico en familias de alto riesgo y en cribados llevados a cabo en poblaciones¹³. A pesar de los avances de la estrategia GWAS, esta tecnología aún parece ser prematura y costosa. Adicionalmente, los genes ligados con los SNPs de alto riesgo no han sido identificados todavía.

A pesar de la diversidad y de las debilidades de los estudios epidemiológicos, por ejemplo, como la incapacidad de detectar Marsh I en pacientes celíacos por medio de pruebas serológicas específicas, se reconoce que la prevalencia mundial de la enfermedad celíaca está comprendida entre el 0.5% al 1%. Las diferencias entre las poblaciones que tienen bajo consumo de gluten y/o un acceso limitado a herramientas diagnósticas presentan una menor prevalencia. Por lo tanto, a pesar de los fallos técnicos, la carencia de orientación y/o el muestreo de biopsias insuficientes, para el diagnóstico de la enfermedad celíaca, la biopsia del intestino delgado sigue siendo el “estándar de oro”¹⁴. Durante la endoscopia, deben tomarse biopsias múltiples en el bulbo duodenal y por lo menos 4 en el duodeno distal. En un estudio multicéntrico llevado a cabo en niños, se confirmó que en un 24% de 665 pacientes, las lesiones se hallaban virtualmente limitadas al bulbo duodenal¹⁵. La mayoría de los estudios publicados hasta la fecha, no cumplen con el protocolo sugerido por Bonamico et al.¹⁵. Tomar biopsias intestinales no es factible para incluirlas en el protocolo de cribado en estudios poblacionales y, sin mejoras en la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas, para diagnosticar la enfermedad celíaca, los estudios epidemiológicos no habrían avanzado hasta el nivel en el que estamos. Los estudios serológicos han permitido la posibilidad de llevar a cabo programas de cribado masivo, útiles para identificar pacientes que puedan beneficiarse de una dieta sin gluten y de un seguimiento, ya que en la población en general la enfermedad celíaca es frecuente y clínicamente relevante, independientemente de la severidad histológica¹⁶. No obstante, ya que los costes económicos del cribado y del tratamiento frente a la prevención de la enfermedad no se han calculado, aún no ha llegado el momento para recomendar la realización de cribados poblacionales en masa¹⁷.

2.1. Prevalencia Global

Hasta hace unos 25 años, la enfermedad celíaca se consideraba como una enfermedad de poblaciones europeas. Ahora se admite que afecta a todos los grupos raciales y de que hay un cambio gradual en su distribución global; por lo tanto, es importante cuantificar el peso de la carga de la enfermedad en cada región. El resultado tendrá diferentes implicaciones para los sistemas de salud en los diferentes países.

En poblaciones de ancestría caucasoide, se estima que su prevalencia media, es de alrededor del 1-2%, de acuerdo con diferentes estudios, usando pruebas serológicas específicas, evaluadas por medio de diferentes métodos y marcadores¹⁸⁻²⁰.

Las formas de presentación de la enfermedad celíaca han cambiado notablemente. Hasta hace algunos años, predominaban las formas clásicas que se caracterizan clínicamente por la presencia de diarrea crónica, esteatorrea, malabsorción y pérdida de peso. Durante las últimas décadas, las formas oligosintomáticas y atípicas con pocos síntomas digestivos, o prácticamente ninguno, se han incrementado notablemente. En el momento actual encontramos un notable predominio de las manifestaciones extraintestinales, tales como la anemia por deficiencia de hierro y la osteoporosis. El aumento de la enfermedad celíaca observada en algunos estudios, puede deberse al éxito de la estrategia de localizar casos y a la accesibilidad de pruebas serológicas más sensibles y específicas para el diagnóstico^{21,22}.

2.2. Estudios de Prevalencia en Donantes de Sangre

Los estudios epidemiológicos efectuados en donantes de sangre voluntarios no son considerados como representativos, de lo que sucede en la población general, en parte, debido a la limitación de la selección de edades. Adicionalmente, la anemia, una forma de presentación relativamente común de la enfermedad celíaca, excluye donar sangre por parte de voluntarios sanos. No obstante, en algunos países los estudios de donantes de sangre han contribuido a generar una clara conciencia sobre la enfermedad celíaca. Por ejemplo, en el Norte de la India, por medio del uso de anticuerpos anti-tTG y de la toma de biopsias duodenales en sujetos tTG positivos, se halló una prevalencia de enfermedad celíaca de 1 por cada 179 donantes (0'56%)²³, de los cuales 98,2% eran varones. En Madrid, España, se halló una prevalencia de enfermedad celíaca de 1 caso entre 370, o de 1 por cada 222, si se incluían lesiones Marsh I en biopsia duodenal en 2.215 donantes de sangre aparentemente saludables cribados con anticuerpos tTG respectivamente²⁴.

En muchos países, la única información disponible sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca se ha obtenido única y exclusivamente, a través de donantes de sangre^{25,26}.

Muchos estudios epidemiológicos usan los datos obtenidos en donantes de sangre como controles para sus estudios; por ejemplo, en Túnez, Ghazzi et al. han usado anticuerpos EmA, para estudiar a 211 pacientes que sufrían de artritis o artralgia sin causa evidente y 2.500 donantes de sangre como grupo de control. Cinco presentaron anticuerpos EmA positivos, 237% en el grupo de pacientes y 028% entre los donantes de sangre²⁷. En Italia, Carroccio et al. compararon la frecuencia de tTG y de EmA en 80 pacientes consecutivos (edad media, 61 años) que padecían linfoma no Hodgkin (LNH) frente a 500 donantes de sangre. La frecuencia entre pacientes con LNH fue de 12% frente a un 0'4% para los donantes de sangre ($p=0.4$). Resulta de interés en este estudio el que, en los pacientes con LNH, la prueba tTG a menudo presentaba resultados que fueron discordantes con la prueba EmA. Hallaron una elevada frecuencia de pruebas falsas positivas para la tTG²⁸. Vancikova et al. determinaron en la República Checa, la prevalencia de la enfermedad celíaca usando un panel de anticuerpos específicos secuencialmente en 1.312 donantes sanos comparándolos frente a 102 pacientes con osteoporosis primaria, 58 pacientes con enfermedades autoinmunes y en 365 hembras en edades no fértiles. Hallaron positividad para los AGA y/o EmA, en un 0'45% de los donantes de sangre, un 0'98% de los pacientes con osteoporosis, un 2'7% de los pacientes que

presentaban enfermedades autoinmunes y un 1'13% de las hembras con infertilidad²⁹. En el Este de Arabia Saudita, Al Attas et al. hallaron, en un grupo de 145 pacientes con sospecha clínica de enfermedad celíaca, que la prevalencia serológica (EmA positiva) era del 7'6%. Seis de dichos pacientes presentaron enfermedad celíaca, confirmada por biopsia intestinal, lo que indicaba una prevalencia de enfermedad celíaca media, de un 4%. En el 80% de los pacientes con enfermedades autoinmunes, 2 pacientes eran EmA positivos (2'5%) mientras que ninguno de los 20 pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y de los 100 donantes de sangre, todos fueron EmA negativos³⁰. En un estudio llevado a cabo en Italia basado en la recolección de suero de 220 pacientes con tiroiditis autoinmune, 50 sujetos eutiroides con nódulos tiroideos y 250 donantes de sangre fueron analizados en busca de anticuerpos anti-tTG y EmA. La prevalencia de la enfermedad celíaca en pacientes con tiroiditis autoinmune (3'2%) fue significativamente más elevada que la que se halló en donantes de sangre (0'4%) ($p=0.022$, prueba exacta de Fisher). Los 50 sujetos eutiroides carecían de anticuerpos y de signos de enfermedad celíaca³¹. Cuoco et al. hallaron, entre 92 pacientes con enfermedad tiroidea autoinmune, 4 pacientes que presentaban anticuerpos AGA y EmA positivos y enfermedad celíaca; entre 90 pacientes con enfermedad tiroidea no-autoinmune, solamente 1 paciente tenía enfermedad celíaca. En 236 donantes de sangre, un sujeto (0'4%) era AGA y EmA positivo y tenía enfermedad celíaca³².

Estos estudios confirman que la prevalencia entre donantes de sangre no es representativa de la prevalencia de la enfermedad celíaca en población general y que la prevalencia detectada es generalmente inferior a la que se encuentra en enfermedades que se sabe están asociadas con la enfermedad celíaca.

2.3. Prevalencia en Grupos de Alto Riesgo

Existen varios grupos de riesgo, los cuales presentan una mayor predisposición para padecer la enfermedad, que la población general. Los grupos de riesgo más comunes son los familiares de primer grado. Estos presentan una prevalencia promedio entre 10 y 20%³³. Los miembros de la familia que portan el antígeno de susceptibilidad HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 y los hermanos presentan un riesgo más elevado de padecer enfermedad celíaca. Algunos autores han hallado una mayor prevalencia en hermanos, que entre el resto de los miembros de la familia³⁴⁻³⁶. Hansen et al. hallaron una elevada prevalencia de enfermedad celíaca, 10'4% (95% I.C. 4.6-16.2%) en jóvenes daneses diabéticos tipo 1³⁷. En Suecia, un estudio llevado a cabo en gente joven, por debajo de 20 años, que presentaban una diabetes mellitus tipo 1, hallaron una baja prevalencia del 0'7% en niños sintomáticos. No obstante, después de 5 años de seguimiento tras el diagnóstico, la prevalencia incrementó hasta un 10%³⁸.

Los estudios de prevalencia de la enfermedad celíaca han sido llevados a cabo en grupos de alto riesgo, tal y como se muestra en la Tabla 1, en familiares de primer grado, en individuos con síndrome de Down y en pacientes con diabetes juvenil tipo 1 dependiente de insulina (ver Tabla 1). Un estudio en 35 pacientes con síndrome de Turner halló una prevalencia de enfermedad celíaca de 8'1 (3 pacientes con atrofia vellositaria) o de 10'4 (4 pacientes con anticuerpos antiendomiso

positivos se consideraron como celíacos). Esta prevalencia es muy elevada y Bonamico y cols. han sugerido que la asociación entre estas dos enfermedades no podría ser presentada como una mera coincidencia³⁹.

Tabla 1. Grupos de Riesgo para el Desarrollo de la Enfermedad Celíaca.

<i>Grupos de Riesgo para la Enfermedad Celíaca (Ref 33 y 40-69)</i>
· Familiares de primer y segundo grado ³³
· Anemia por deficiencia de hierro crónica y anemia refractaria ^{40,41}
· Osteoporosis, osteopenia y osteomalacia ^{42,43}
· Diabetes mellitus tipo 1 (principalmente en niños y adolescentes) ⁴⁴⁻⁴⁶
· Endocrinopatías de origen autoinmune, especialmente enfermedades tiroideas ⁴⁷⁻⁴⁹
· Hepatitis autoinmune y colangitis biliar primaria ⁵⁰
· Enfermedades de la piel, dermatitis herpetiforme, psoriasis ⁵¹⁻⁵³
· Alteraciones cromosómicas tales como Síndrome de Down ⁵⁴ , Síndrome de Turner ⁵⁵ y Síndrome de Williams ^{56,57}
· Desórdenes Neurológicos, tales como Ataxia por gluten, Epilepsias, Calcificaciones occipitales, Polineuropatías ⁵⁸⁻⁶¹
· Poliartritis y Poliartralgias recurrentes ^{53,62}
· Dolores de cabeza recurrentes tipo Migraña ⁶³
· Nefropatía por depósitos de IgA ⁶⁴⁻⁶⁷
· Abortos repetidos, Trastornos menstruales, Infertilidad ^{68,69}

2.4 Prevalencia en Europa

La prevalencia en Europa es ligeramente mayor en los países del Norte que en los de la cuenca Mediterránea. Parece que las diferencias en la prevalencia han disminuido en los últimos años⁷⁰. Los países Escandinavos, el Reino Unido e Irlanda han mostrado prevalencias que varían del 1 a 2'5%⁷¹⁻⁷⁴.

Un estudio llevado a cabo entre donantes de sangre, en Holanda, halló una baja prevalencia del 0'3% en el año 1999⁷⁵. Un estudio de mayor envergadura incluyó 50.760 individuos, que anteriormente habían participado en dos grandes estudios basados en población sobre el estado de la salud en relación con factores de estilo de vida, fueron analizados por medio de la identificación de una adherencia auto reportada a una dieta libre de gluten y de la posterior confirmación del diagnóstico de enfermedad celíaca. Este estudio halló una prevalencia de la enfermedad celíaca de un 0'016% (intervalo de confianza del 95%, entre 0'0080-0'0310). En una muestra aleatoria de 1.440 participantes, todos fueron analizados mediante pruebas serológicas y tipado de antígenos linfocitarios humanos. Se halló una prevalencia del 0'35% (IC del 95%, 0'15-0'81). La prevalencia de

enfermedad celíaca reconocida en adultos en los Países Bajos es una de las más bajas de Europa, mientras que la prevalencia de la enfermedad celíaca no reconocida, es comparable con la de otros países del Sur de Europa, lo que sugiere que la enfermedad celíaca se halla infra-diagnosticada en los Países Bajos⁷⁶. Un estudio llevado a cabo entre adolescentes en Suiza demostró una prevalencia del 0'75%⁷⁷.

La prevalencia media de enfermedad celíaca en los países europeos se halla dentro del rango medio estimado a nivel mundial. A pesar de que la enfermedad celíaca tradicionalmente ha sido considerada como una enfermedad con predominio en niños, en las últimas décadas la mayoría de los casos han sido diagnosticados en adultos⁷⁸.

Existen estudios longitudinales llevados a cabo en Finlandia, que confirman el incremento en la prevalencia de la enfermedad celíaca a lo largo de las últimas décadas. En una gran cohorte de 8.000 participantes seleccionados entre población general, la prevalencia promedio de 1978 a 1980, fue del 1%, ascendiendo al 2%, en el período que va del año 2000 al 2001⁷⁹.

Un cribado masivo internacional y centralizado de 29.212 participantes de Finlandia, Alemania e Italia, fué realizado mediante un exámen de anticuerpos del tipo anti-tTG. Cuando la prueba era positiva o mostraba resultados limítrofes, se efectuaba una prueba EmA. Este estudio de gran envergadura, halló una prevalencia media de enfermedad celíaca del 2'4% (2'0-2'8) en Finlandia, 0'3% (0'1-0'4) en Alemania y de 0'7% (0'4-1'0) en Italia. Un 68% de los individuos positivos para estos anticuerpos presentaron cambios en la mucosa de intestino delgado sugestivos de enfermedad celíaca (Marsh II/III)⁸⁰.

Las diferencias epidemiológicas entre los países vecinos, bien pudieran deberse a diferencias en los niveles socio-económicos de las diferentes poblaciones, así como a las medidas de salud ambientales. La prevalencia de la tTG en la enfermedad celíaca, es menor en la Karelia rusa que en Finlandia, a pesar de la frecuencia similar de haplotipos de riesgo HLA en ambas regiones. Se ha pensado que esto puede estar asociado con un ambiente protector caracterizado por el menor nivel económico y niveles de higiene inferiores en Karelia⁸¹. Desafortunadamente, la disponibilidad de las herramientas diagnósticas y del conocimiento sobre la enfermedad en los centros de cuidados primarios difieren mucho de un país a otro.

2.5. Prevalencia en los Estados Unidos

La prevalencia promedio de la enfermedad celíaca en los EE.UU. es muy similar a la observada en Europa. En los últimos años, una mayor conciencia sobre la enfermedad celíaca y una búsqueda más activa, mediante campañas de información y difusión de su conocimiento por medio de asociaciones de pacientes y grupos activos en Internet, han contribuido a encontrar una prevalencia más elevada. Los pacientes con enfermedad celíaca sintomática en los EE.UU. mostraron una prevalencia del 1'7% en el año 2003⁸².

Otro estudio comparó los resultados obtenidos con muestras almacenadas entre los años 1948-54, con dos cohortes de muestras recogidas entre 1995-2003 y 2006-2008. Los autores hallaron un incremento notable de hasta cuatro veces mayor en los últimos períodos, en comparación con los anteriores⁸³.

En un estudio comparativo retrospectivo realizado a lo largo de un período de 15 años de seguimiento de voluntarios sanos se halló una prevalencia de 1 por cada 501 individuos en 1974, frente a 1 por cada 219 sujetos en 1989⁸⁴ (la tabla 2 muestra un resumen de los estudios descritos, llevados a cabo en los EE.UU.).

Estos cambios epidemiológicos en la enfermedad celíaca a lo largo del tiempo en los EE.UU. se han observado también en muchos otros países. No solo en las áreas geográficas bien conocidas, en las que la enfermedad celíaca está presente, tales como el Norte de Europa, sino también en regiones donde la enfermedad celíaca era desconocida, tales como en América Central y países asiáticos. Este aspecto será descrito más adelante. En gran medida, el incremento en la prevalencia de la enfermedad celíaca, se debe a los cambios instaurados en los hábitos alimenticios en las últimas décadas. Ha habido un incremento considerable en el consumo de alimentos que contienen gluten.

Tabla 2. Prevalencia en los Estados Unidos

<i>Características</i>	<i>Año (Ref)</i>	<i>Población estudiada</i>	<i>Prevalencia en %</i>
Global	2003 ⁸²	13.145 en riesgo y no en riesgo	4´54-075
Nacional	2012 ⁸³	7.798 adolescentes y adultos	0´71
Estudio de cohorte	2010 ⁸⁴	4.351 adultos	0´19-0´45

2.6. Prevalencia en África

En los países del Norte de África (Marruecos, Argelia, Túnez, Libia y Egipto) se ha descrito una elevada prevalencia de la enfermedad celíaca. La más elevada se ha hallado entre la población Saharawi, de origen árabe-bereber. La prevalencia varía entre 0´3 y 5´6%. Existe una fuerte asociación con el haplotipo HLA-DR3-DQ2 en la población saharawui en general y un elevado consumo de alimentos basados fundamentalmente en cereales con gluten, asociados con un menor consumo de vegetales y frutas⁸⁵.

Existe poca información sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca en los países del África subsahariana. Algunos estudios individuales, tales como el que se llevó a cabo en Djibouti, en la

región del Cuerno de África, confirman que efectivamente, la enfermedad celíaca existe también en estas regiones del centro de Africa. La presentación clínica es similar a la observada en el resto del mundo. Su diagnóstico es más difícil, debido al conocimiento limitado, bajo índice de sospecha de la enfermedad, así como por la infraestructura disponible la cual resulta muy limitada para poder efectuar un diagnóstico certero⁸⁶. En África y en general, en los países tropicales, las principales causas de anemia por deficiencia de hierro, son debido a una infestación incrementada por anquilostomas (*Schistosoma mansoni*, particularmente en pacientes egipcios) y de *Trichiuris trichiura*. En el continente africano, la etiología de la anemia en niños, aparte de la deficiencia de hierro, incluye malaria, infecciones bacterianas o virales, deficiencia de folato y anemia falciforme⁸⁷ (la Tabla 3 ilustra, la única información disponible sobre enfermedad celíaca en África).

Tabla 3. Prevalencia en África

País	Año (Ref)	Población estudiada	Prevalencia en %
Sahara	2010 ⁸⁵	975 niños y adultos	5´6
Inter-tropical (Cuerno de África)	2008 ⁸⁶	Niños y adolescentes durante 3 años, 8 pacientes con enfermedad celíaca diagnosticados	No especificado

2.7. Prevalencia en el Próximo Oriente

En diversos países de dicha región, tales como Irán, Irak y Kuwait, la enfermedad celíaca es una causa frecuente de diarrea crónica, principalmente en niños y en pacientes con diabetes mellitus tipo 1⁸⁸.

La prevalencia de enfermedad celíaca entre donantes de sangre adultos en Irán⁸⁹ e Israel²⁶ es de 0´6% en ambos países; en Siria y en Turquía la prevalencia es del 1´6%⁹⁰. En Anatolia, se halló un resultado similar de 1%⁹¹. Un estudio iraní en niños con diarrea crónica halló una prevalencia del 6´5%⁹²; en Turquía, la prevalencia en niños sanos fue de 1 por cada 115 (0´86%), basándose en estudios serológicos. No obstante, la prevalencia de enfermedad celíaca comprobada por medio de biopsias, fue de 1 por cada 158 (0´63%)⁹³. La Tabla 4 muestra estudios sobre la prevalencia en el Próximo Oriente.

Tabla 4. Prevalencia en el Próximo Oriente.

País	Año (Ref)	Población estudiada	Prevalencia en %
Irán (Sur)	2013 ⁸⁸	83 niños con DMT1	4´80
Irán (Teherán)	2013 ⁸⁹	2.000 donantes de sangre	0´60
Irán	2005 ⁹²	825 niños con diarrea crónica	6´50
Irán (Norte y Sur)	2006 ⁹⁴	2.799 individuos	0´96
Israel	2002 ²⁶	1.571 donantes de sangre	0´63
Turquía	2004 ⁹⁵	2.000 donantes de sangre	1´30
Turquía (Anatolia)	2005 ⁹¹	906 adultos	0´99
Turquía	2005 ⁹³	1.263 niños saludables	0´86

DMT1: *Diabetes Mellitus Tipo 1*

2.8. Prevalencia en Asia

La enfermedad celíaca es aún poco frecuente en Asia. Se ha descrito solo en forma de casos aislados. La Organización Gastroenterológica Mundial y la Asociación de Gastroenterología del Pacífico Asiático crearon un grupo de trabajo para analizar los temas clave de la emergencia de la enfermedad celíaca en Asia⁹⁶. Dicho equipo sugirió que llevar a cabo estudios sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca incrementaría la conciencia entre médicos y pacientes, así como el reconocimiento de las manifestaciones atípicas de la enfermedad. Se identificaron varios problemas que plantean diversos retos. El grupo de trabajo halló variabilidad en el rendimiento de las pruebas serológicas, una carencia de valores de corte para pruebas negativas y positivas, específicos para dichas poblaciones, la necesidad de educar a los dietistas para que puedan ofrecer consejos y supervisión apropiadas para los pacientes, así como mejorar la infraestructura de la dieta sin gluten en la provisión de alimentos. También se hizo énfasis en el establecimiento de organizaciones que asesoren a los pacientes celíacos.

2.9. Prevalencia en la India y Pakistán

En la India, la enfermedad celíaca ha sido recientemente descrita por un grupo de trabajo local como “que está sumergida dentro de un océano de malnutrición”⁹⁷. Su frecuencia en la India es más alta en el Norte del país, creando el así denominado “cinturón celíaco”. Este hallazgo, está parcialmente explicado por el desequilibrio gradual existente en la distribución de los cultivos de trigo del Norte al Sur^{98,99}. El *All India Institute of Medical Sciences* (“Instituto de Ciencias Médicas

de toda la India”), en Nueva Delhi, ha estudiado prospectivamente mediante la determinación de anticuerpos anti- tTG, en pacientes adolescentes y adultos que presentaban una anemia nutricional. Los pacientes con serología positiva fueron sometidos a una gastroscopia con toma de biopsias duodenales. Se cribó a 96 pacientes con anemia en un estudio de una duración media de 11 meses (rango: de 1 a 144 meses). Se diagnosticó enfermedad celíaca en 10 pacientes (10´41%) con anemia nutricional (deficiencia de hierro 9, deficiencia de vitamina B12)⁴¹.

Posiblemente debido a la presencia de malnutrición generalizada y epidemias de diarrea crónica, así como por la dificultad de diagnosticar la enfermedad celíaca^{100,101} existen datos limitados sobre la epidemiología en la India.

En el área de Delhi, con una numerosa muestra de población de 2.879 participantes, la prevalencia de la enfermedad celíaca fue del 1´04% (1 por cada 96)¹⁰². En otro estudio basado en un cuestionario administrado a 4.347 niños en edad escolar (3-17 años) en Ludhiana, una ciudad en el Norte del Punjab en la India, la prevalencia fue de 1 por cada 310 (0´32%)¹⁰³.

Con base a estos estudios, se estima que podría esperarse en la India alcanzar el nivel comprendido entre 5 a 8 millones de individuos con enfermedad celíaca y no obstante, solo parecen haberse diagnosticado unos pocos miles de casos. Existe una clara necesidad de llevar a cabo más estudios epidemiológicos en la India para poder determinar sus diferencias regionales en cuanto a prevalencia.

No se han descrito estudios epidemiológicos en Pakistán; algunos estudios, han descrito algunos casos de pacientes con enfermedad celíaca y señalado las dificultades diagnósticas en lugares como la India.^{104,105}.

2.10. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en China

En China, el principal factor causante (el consumo del gluten, particularmente en la parte Norte del país) y los genotipos HLA de riesgo (HLADQ2 y -DQ8) se hallan presentes, si bien con una prevalencia menor que en los países Occidentales¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Parece que existe una clara predominancia en su distribución en el Norte. El conocimiento sobre la enfermedad celíaca en China ha empezado en años recientes, aunque aún no se han realizado aún estudios epidemiológicos^{108,109}. En una serie reciente de estudios de 118 niños con diarrea crónica, admitidos en hospitales pediátricos en cuatro de las principales ciudades de China (Shanghai, Wuhan, Jinan y Chengdu) se hizo un diagnóstico de enfermedad celíaca en 14 pacientes (11´9%)¹¹⁰. Estas descripciones son de gran importancia ya que confirmaron la existencia de enfermedad celíaca en China, un país donde esta se había considerado previamente como inexistente.

Tabla 5. Prevalencia en Asia

País	Año (Ref)	Población estudiada	Prevalencia en %
India Punjabis (Ciudad de Leicester, Reino Unido)	1.993 ¹¹¹	20 adultos celíacos	2'7-3'8
India (Norte)	2.011 ¹⁰²	10.488 adultos	1'04
India (Punjab)	2.006 ¹⁰³	4.347 niños	0'32
China	2.011 ¹¹⁰	199 niños con diarrea crónica	11'9
Japón	2.014 ¹¹²	172 adultos con EII, tTG y PDG positivos sin HLA alto riesgo	0

EII = Enfermedad Inflamatoria Intestinal; PDG = Péptidos de Gliadina Deamidados

2.11. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en Japón y en las Islas del Sudeste de Asia

En Japón, en un reciente estudio, la prevalencia de los marcadores serológicos fue de 18% en una serie de 172 pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, comparada con 1'6% encontrada en 190 individuos sanos, reclutados entre población general. No obstante, no se realizaron biopsias duodenales y no hubo disponibilidad de información sobre marcadores genéticos de susceptibilidad¹¹².

No hay datos sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca en los países del Sudeste de Asia, incluyendo Malasia, Korea, Taiwán, las Filipinas y las islas más pequeñas del Pacífico. Se supone que existe una baja incidencia, debido al bajo consumo de productos que contienen harina de trigo, junto con una baja incidencia de marcadores del tipo HLA-DQ2 y HLA-DQ8 en población general. Existe una disponibilidad limitada de estudiar la enfermedad celíaca mediante la determinación de marcadores serológicos en estos países.

La prevalencia promedio del haplotipo de riesgo HLA-DQ2 es baja en Japón y en el Sudeste de Asia. Se halla presente solo en un 5-10% de la población en general y la prevalencia media del HLA-DQ8 en Asia es de menos de 5%¹¹³. La ingesta de productos basados en trigo es baja; pero se ha incrementado en años recientes.

2.12. Prevalencia de la enfermedad celíaca en Nueva Zelanda

Nueva Zelanda es un archipiélago independiente, cuyos habitantes tienen una gran proporción de predecesores de ascendencia caucasoide, con predominio anglosajón y elevada frecuencia de haplotipos genéticos de susceptibilidad a la enfermedad celíaca, al mismo tiempo que un elevado consumo de trigo.

En un estudio amplio, llevado a cabo en Australia Occidental, se halló una prevalencia del 0'4% en esta población¹¹³.

Un estudio hecho con el fin de determinar la prevalencia de la enfermedad celíaca y del grado en niños neozelandeses que evitan el gluten descubrió que el 1% presentaban enfermedad celíaca; pero un 5% confirmó evitar el gluten dietario. Los elementos que inducen a evitar el gluten en niños sin enfermedad celíaca adecuadamente diagnosticada, sugieren que existen importantes diferencias regionales en las creencias comunales o en las prácticas médicas en lo referido a la instauración de una dieta sin gluten¹¹⁴.

2.13. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en Australia

En un análisis retrospectivo llevado a cabo en una comunidad australiana, basado en muestras de suero recolectadas entre 1994-1995, sobre un total de 3.011 sujetos, se realizaron determinaciones de anticuerpos TGt-IgA y TGt-IgG. Las muestras dudosas fueron reanalizadas usando una prueba comercial de TGt diferente. La prevalencia de los anticuerpos anti-TGt en esta población fue del 1'56%; la prevalencia de la enfermedad celíaca es de 0'56%. De acuerdo con estos autores, el valor de un único resultado positivo en una prueba TGt en el cribado para hallar enfermedad celíaca en la comunidad es pobre y una evaluación con diferentes pruebas podría reducir la necesidad de gastroscopias y de biopsias duodenales¹¹⁵.

En una comunidad rural australiana, se halló una prevalencia de 12 entre 3.011 (1 cada 251) basándose en el hallazgo de anticuerpos EmA positivos y en biopsias duodenales compatibles con enfermedad celíaca¹¹⁶.

Tabla 6. Prevalencia en Australia y Nueva Zelanda

<i>País</i>	<i>Año (Ref)</i>	<i>Población estudiada</i>	<i>Prevalencia en %</i>
Nueva Zelanda	2.000 ¹¹³	1.064 adultos	1'2
Australia	2.001 ¹¹⁶	3.011	0'4
Nueva Zelanda	2.002 ¹¹⁴	916	1'0
Australia	2.009 ¹¹⁵	3.011	0'6

2.14. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en México

La información sobre la enfermedad celíaca en México es limitada; no obstante, basándose en la prevalencia de la TGt-IgA en un gran grupo de donantes de sangre, se halló una elevada prevalencia de positividad de 27 casos entre 1.009 personas analizadas (2'6%). Ello sugiere que, en la población mejicana de antecedentes mixtos europeo-amerindia, la presencia de la enfermedad celíaca es elevada¹¹⁷. En una reciente actualización¹¹⁸ que usó la prevalencia para serología doble positiva tTG e EmA, la prevalencia fue del 0'59% (IC 95%, 0'27-1'29). Una elevada prevalencia del 5'9% de enfermedad celíaca comprobada mediante biopsia, fue hallada en pacientes mejicanos de ascendencia mixta con diabetes mellitus tipo 1¹¹⁹. En un estudio sobre prevalencia en los EE.UU., realizado sobre 7.798 personas de 6 años de edad o mayores que participaron en el National Health and Nutrition Examination Survey (“Encuesta de Examen de la Salud y la Nutrición Nacionales”) entre 2009-2010, se halló una prevalencia del 0'71% (IC 95%, 0'58-0'86%), es decir, 1 por cada 141 participantes. Este estudio también se confirmó que la enfermedad celíaca es poco frecuente entre los grupos minoritarios, incluyendo latinos. La prevalencia fue del 0'03% o de 1 por cada 2.519 personas y en estadounidenses con ancestría mejicanos del 0%⁸³. Esta discrepancia ilustra el posible efecto de los factores ambientales al determinar la prevalencia de la enfermedad celíaca en personas con el mismo componente genético.

2.15. Prevalencia de la enfermedad celíaca en El Salvador y en Costa Rica

No existen estudios epidemiológicos publicados en América Central. Recientemente, se ha publicado, en El Salvador, el primer estudio que usó la clasificación Marsh modificada y el genotipado HLA-DQ. De los 32 casos analizados, 23 eran portadores del genotipo de riesgo para enfermedad celíaca¹²⁰. Se han descrito resultados similares de Costa Rica, en 35 pacientes¹²¹.

2.16. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en Brasil

Un estudio llevado a cabo en Brasil, que incluyó un total de 214 niños sintomáticos, con edades comprendidas entre los 12 y los 36 meses, estudió por medio de cribado serológico y subsecuente confirmación por medio de biopsia yeyunal en los casos positivos. Se hallaron cinco casos positivos (2'3%)¹²². Entre marzo del 2011 y noviembre del 2004, se estudió la prevalencia de la enfermedad celíaca en un grupo de familiares de primer grado de pacientes brasileños. Se halló una prevalencia del 4'8% entre los 188 analizados¹²³.

En otro estudio en adultos llevado a cabo en Brasil, efectuado en un área urbana entre 2.086 donantes de sangre, encontraron una prevalencia del 1'4%. Esta prevalencia es menor que la del estudio previo, pero es similar a la prevalencia hallada en países europeos o en América del Norte¹²⁴.

2.17. Prevalencia de la Enfermedad Celíaca en Argentina

Se han llevado a cabo estudios similares en hospitales de varias ciudades en Argentina, incluyendo

un estudio multicéntrico de la prevalencia en una población pediátrica en 5 distritos urbanos de Argentina. Se analizaron un total de 2.219 niños con edades comprendidas entre los 3 y los 16 años. Se halló una prevalencia de enfermedad celíaca del 1'26%. El 33% de los casos eran sintomáticos¹²⁵.

En la población adulta de Argentina, Gómez et al. hallaron una prevalencia del 1'16% en un estudio sobre 2.000 individuos escogidos entre población general¹²⁶.

Tabla 7. Prevalencia en México y América Central y Sur.

<i>País</i>	<i>Año (Ref)</i>	<i>Población estudiada</i>	<i>Prevalencia en %</i>
México	2.006 ¹¹⁷	1.009 adultos cribados por tTG	2'6
El Salvador	2.014 ¹²⁰	32 adultos	Sin definir
Costa Rica	2.014 ¹²¹	35 adultos	Sin definir
Brasil (Brasilia)	2.010 ¹²²	214 niños	2'3
Brasil (Brasilia)	2.008 ¹²³	188 familiares de primer grado	4.8
Brasil (Curitiba)	2.006 ¹²⁴	Donantes de sangre adultos	0'23
Argentina	2.012 ¹²⁵	2.219 niños	1'26
Argentina (La Plata)	2.001 ¹²⁶	2.000 adultos	0'59

2.18. Conclusiones

Actualmente es imposible determinar la verdadera prevalencia de la enfermedad celíaca a nivel mundial. Es necesaria una estrategia multidisciplinaria para realizar el diagnóstico. La colaboración entre clínicos, inmunólogos, genetistas y patólogos es esencial para integrar criterios clínicos, serológicos, genéticos e histológicos, así como la respuesta a la dieta sin gluten. Muchos pacientes presentan síntomas atípicos o ninguno y presentan lesiones mínimas duodenales, sin atrofia vellositaria, como aquellos que presentan lesión Marsh 1. Estos pacientes requieren de un diagnóstico diferencial que se encuentra más allá de los actuales estudios epidemiológicos.

La demostración de una clara diferencia entre las prevalencias de niños y adultos plantea el mayor reto para la comprensión de la epidemiología de la enfermedad.

En un estudio de gran envergadura de 4.230 sujetos, realizado en Terrassa (Barcelona, España) se determinó una prevalencia de la enfermedad celíaca basada en población de 1/250 (0'40%). La prevalencia de la enfermedad celíaca en la infancia fue cinco veces más elevada que en los adultos.

Los autores han subrayado correctamente que esta diferencia puede deberse a factores ambientales en la infancia o debido a la elevada incidencia de enfermedad celíaca latente durante la edad adulta. Esto queda por ser demostrado en prospectivos estudios longitudinales¹²⁷. El resultado tendrá consecuencias sobre la comprensión de la epidemiología y la historia natural de la enfermedad.

Están desarrollándose grandes cambios que podrían alterar la epidemiología de la enfermedad celíaca las alteraciones relacionadas con el gluten, tales como el cultivo de arroz en varias regiones de China donde ahora predomina el cultivo de trigo. El maíz originario de las tierras altas mexicanas, que ha sido el alimento predominante en México y América Central, las papas, que se desarrollaron en los Andes Peruanos y la quinoa, en Bolivia, ahora son complementados con dietas que contienen gluten.

Varios cambios ambientales indican un incremento de la enfermedad celíaca en estas regiones. La erradicación de parásitos intestinales, que contribuye un cambio en la respuesta inmune intestinal del tipo TH2 a una del tipo TH1, altera la microbiota intestinal probablemente en individuos que viven en áreas urbanas, cambios en los hábitos dietéticos, debido a la influencia de las comidas rápidas y cambios en la dieta tradicional arriba descrita, así como el uso difundido de antibióticos alterará, de un modo u otro, la epidemiología de la enfermedad celíaca¹⁰⁶.

La reseña presentada en este capítulo indica la importancia mundial de la enfermedad celíaca y de las patologías relacionadas con el gluten y debería ayudar a clarificar la necesidad de implementar medidas en los Sistemas Nacionales de Salud, para conocer mejor esta enfermedad en continua expansión a nivel mundial. Como estimaron Greco y cols.: “En un futuro cercano, la carga de la enfermedad celíaca se incrementará tremendamente. Pocos países mediterráneos serán capaces de encarar esta epidemia en expansión”¹²⁸.

3. Epidemiología de los Trastornos no Celíacos Relacionados con el Gluten

3.1. Epidemiología de la Dermatitis Herpetiforme

Un estudio publicado en el *Clinical Practice Research Datalink* (“Enlace de Datos de Investigación de la Práctica Clínica”) de la Universidad de Nottingham, han cuantificado la incidencia y prevalencia de la enfermedad celíaca y de la dermatitis herpetiforme entre los años 1990 y 2011. Se identificó un total de 9.087 casos de enfermedad celíaca y 809 casos de dermatitis herpetiforme. A pesar de que la dermatitis herpetiforme ha sido llamada “la enfermedad celíaca de la piel”¹²⁹ para subrayar el trasfondo genético común y la relación con el gluten, la expresión de una y otra, o de ambas enfermedades, es diferente. En Nottingham, la tasa de incidencia de la enfermedad celíaca se incrementó de 5.2 por cada 100.000 personas (IC 95%, 3.8-6.8) a 19.1 por cada 100.000 años-persona (IC 95%, 17.8-20.5); RDI 3.6; IC 95%, 2.7-4.8), mientras que la incidencia de la dermatitis herpetiforme ha disminuido a lo largo del mismo lapso de tiempo, de 1.8 por 100.000

a 0´8 por 100.000 años-persona (RDI promedio anual, 0´96; IC 95% 0´94-0´97)⁷². A pesar de que la prevalencia de las deficiencias nutricionales, enfermedades autoinmunes y linfomas, ocurrieron en tasas similares en pacientes con dermatitis herpetiforme, así como en pacientes con enfermedad celíaca sin dermatitis herpetiforme, un estudio reciente ha confirmado que la prevalencia de la atrofia vellositaria es significativamente más elevada en los pacientes que presentan enfermedad celíaca que en aquellos que solo presentan dermatitis herpetiforme (61´8 vs. 12´5%; $p=0´005$)⁵¹.

Al menos dos estudios en los EE.UU. y en Finlandia, demuestran una expectativa de prevalencia de dermatitis herpetiforme en familiares, la cual es significativamente más elevada de lo que se había calculado previamente. Esto posiblemente se deba a factores genéticos compartidos y a factores ambientales^{130,131}. En Tampere y Helsinki, un análisis de 105 familias con dermatitis herpetiforme demostró que un 13´6% de los padres, 18´7% de los hermanos y 14% de los niños estaban afectados. Los autores sugirieron que este patrón de distribución, encaja bien con una modalidad de herencia mendeliana de tipo dominante. No obstante, agregaron que el género también podría ser importante ya que los familiares de primer grado afectados con dermatitis herpetiforme, más a menudo, eran del género femenino¹³¹. En Brasil, dos pares de gemelos monocigotos han sido estudiados después de una dieta sin gluten, durante 16 a 21 años. Los resultados de dicho estudio fueron consistentes con enfermedad celíaca. La dermatitis herpetiforme estaba presente en tres pacientes pertenecientes a los dos pares de gemelos, demostrando una concordancia parcial de la dermatitis herpetiforme en gemelos monocigóticos¹³².

Estas observaciones encajan con una patogenia multifactorial y poligénica para la enfermedad, similar a la de otras enfermedades autoinmunes.

En el Hospital de la Universidad de Tampere. El 97´7% de los pacientes se adhirieron a una dieta sin gluten. La mortalidad por todas las causas y por enfermedad cerebrovascular se redujo significativamente. La tasa de mortalidad estandarizada debida a tumores linfoproliferativos aumentó significativamente (6´86%) solo durante los primeros 5 años del seguimiento¹³³.

La epidemiología mundial de la dermatitis herpetiforme muestra una gran heterogeneidad. En Asia, la dermatitis herpetiforme es muy rara. Veintidos casos han sido descritos desde China¹³⁴ y 35 casos en Japón¹³⁵. Muy pocos casos han sido descritos en Irán¹³⁶, Singapur¹³⁷ y Malasia¹³⁸.

En el Sur de Suecia, hubo 96 casos en una población de 425.000 habitantes. La incidencia de la dermatitis herpetiforme fue de 1´05-1´13/100.000 habitantes/año y la prevalencia fue aproximadamente de 20 a 25 pacientes por 100.000 habitantes.

En Utah, en los EE.UU., con una población principal de descendientes de europeos, existe una incidencia más elevada que en Asia. En 1987, la prevalencia de la dermatitis herpetiforme en Utah era de 11´2 por 100.000. La incidencia media entre los años de 1978 hasta 1987, fue de 0´98 por 100.000 por año. La edad media al aparecer los síntomas en pacientes masculinos fue de 40´1 años y para pacientes femeninos, fue de 36´2 años. La proporción varón/hembra, fue de 1´44:1¹³⁹.

En Buenos Aires, Argentina, en 18 pacientes con dermatitis herpetiforme se halló permeabilidad intestinal aumentada, aun en pacientes sin evidencia de daño histológico en muestras de biopsia. Se advirtió que los pacientes con depósitos subdérmicos IgA lineales parecen ser una población distinta, sin sensibilidad al gluten¹⁴⁰. Ya que la mayoría de los pacientes con enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme poseen ancestros europeos, sería interesante efectuar estudios epidemiológicos apropiados en Argentina para estudiar los factores ambientales predisponentes.

La incidencia y prevalencia más elevadas de dermatitis herpetiforme se ha descrito en Finlandia; pero existe alguna evidencia que, en contraste con lo que sucede con la enfermedad celíaca, la dermatitis herpetiforme está disminuyendo. La prevalencia de la dermatitis herpetiforme fue de 75'3 por 100.000, lo que es ocho veces menor que la prevalencia de la enfermedad celíaca en el área de Tampere. La incidencia anual de dermatitis herpetiforme para todo el período de 40 años fue de 3'5 por 100.000 habitantes y en los tres períodos de 10 años, de 5'2, 2'9 y 2'7, respectivamente¹⁴¹.

La epidemiología mundial de la dermatitis herpetiforme sugiere una heterogeneidad mayor que la observada para la enfermedad celíaca.

3.2. Epidemiología de la Ataxia por Gluten

Como lo indicara Hadjivassiliou, la ataxia secundaria al gluten es una de las formas más comunes de ataxias cerebelares de origen inmune y una de las pocas ataxias potencialmente tratables¹⁴².

De un total de 224 pacientes con diversas causas de ataxia en North Trent, Inglaterra, 132 fueron diagnosticados como pacientes de ataxia idiopática esporádica. En el Instituto de Neurología en Londres, 44 pacientes fueron diagnosticados de ataxia esporádica. De estos grupos de pacientes, 41% y 32% respectivamente presentaron anticuerpos AGA (+) y se confirmó que presentaban de Ataxia¹⁴³. Se han descrito casos familiares y aislados de ataxia por gluten en España¹⁴⁴, en Japón¹⁴⁵ y en otros muchos países.

Son necesarios nuevos estudios realizados en centros neurológicos en otros países, ya que la evidencia experimental parece ser incompleta. Existe suficiente evidencia para apoyar la disfunción con mediación inmune de los ganglios basales como un concepto clínico emergente. La disfunción del sistema nervioso central puede ser causada por una respuesta inmune alterada, provocada por antígenos exógenos tales como el gluten y la infección por estreptococos¹⁴⁶.

3.3. Epidemiología de la Sensibilidad al Gluten No Celíaca

La incidencia de alergias y enfermedades autoinmunes en los EE.UU. y en otras naciones industrializadas, está aumentando notablemente en los últimos años. Los trastornos relacionados con el gluten no son una excepción¹⁴⁷. Muchos investigadores, particularmente en los EE.UU., alegan que la sensibilidad al gluten no celíaca es la forma más común de presentación de la intolerancia al gluten¹⁴⁸. Previamente habíamos resumido las ideas vigentes sobre sensibilidad al gluten no ce-

líaca como sigue¹⁴⁹. Este tema puede haber sido el de mayor impacto durante las décadas pasadas, especialmente en internet, en las asociaciones de pacientes y en la industria alimentaria. Existe una carencia de estudios sistemáticos la cual podría mejorar, para los pacientes, la comprensión y definición de este síndrome y evaluar su impacto sobre los servicios de salud pública. Estamos plenamente de acuerdo con el punto de vista expresado por Corazza y su grupo, quienes han puesto claramente de manifiesto la carencia de una definición precisa de la sensibilidad al gluten no celíaca. Este obstáculo está fundamentalmente relacionado con la causa de esta enfermedad, cuyos síntomas son presumiblemente causados por diferentes mecanismos¹⁵⁰.

No es, por lo tanto, sorprendente que Spence, de Glasgow, Escocia, escribiera un artículo: *Do you think non-celiac gluten sensitivity exists?* (“¿Cree usted que existe la sensibilidad al gluten no celíaca?”). Él describe los resultados de una encuesta llevada a cabo por la revista de Medicina Interna en Inglaterra, la *British Medical Journal* (“Revista Médica Británica”). El 66% de los 941 individuos encuestados que tenían una educación superior, respondieron que creen que existe, a pesar de una carencia de evidencia científica. “Por lo demás, cerca del 20% de la población de los EE.UU. adquieren productos libres de gluten y para el año 2017, se estima que este mercado tendrá un valor de alrededor de 6’6 millones de dólares”¹⁵¹.

Recientemente, Aziz y cols. han determinado la prevalencia en la población general de la sensibilidad al gluten y sus características para referencia en pacientes atendidos en Sheffield. Este estudio fue llevado a cabo mediante un cuestionario basado en población cribada para sensibilidad al gluten, síntomas relacionados y exclusión de la enfermedad celíaca, determinó que la prevalencia auto-reportada para la sensibilidad al gluten no celíaca, fue del 13% (79% eran hembras, con una edad media de 39’5 años). Estos individuos presentaban una prevalencia incrementada de cumplimiento con los criterios de Roma III para el síndrome de intestino irritable, en comparación con los que carecían de sensibilidad al gluten. La mayoría de estos pacientes poseen diferencias clínicas e inmunológicas con la enfermedad celíaca¹⁵².

3.4. Epidemiología de la Alergia al Trigo

De acuerdo con las presentaciones clínicas y con las pruebas de alergia, existen tres tipos de alergia a los alimentos: Mediada por IgE, Mixta (IgE/no IgE) y mediada por no IgE (celular, hipersensibilidad de tipo retardado). Entre la más común de estas alergias en niños, se halla la alergia al trigo. La prevalencia de esta clase de alergia en la infancia está incrementando y podría afectar hasta un 15-20% de los niños. De acuerdo con Ho y cols., las alarmantes tasas registradas plantean la necesidad de llevar a cabo una estrategia de salud pública, en la prevención y en el tratamiento de la alergia alimenticia en niños¹⁵³. La epidemiología de este tipo de alergia se halla fuera del rango de este capítulo. El trigo es el responsable de una de las más comunes alergias causadas por los alimentos. Un estudio reciente ha descrito por medio de una revisión basada en cuestionarios, pruebas de punción cutánea y pruebas de suero específicas para la gliadina omega 5, que la prevalencia en adultos japoneses resultó ser del 0’21%¹⁵⁴.

La prevalencia de la alergia a los alimentos fue investigada entre pacientes que se reportaron a *The*

Institute of Child Health and Mediland Diagnostics (“El Instituto de Salud Infantil y Diagnósticos Mediland”) en Kolkata, India. Entre los 5.161 pacientes examinados, el trigo (22%) fue el alérgeno predominante¹⁵⁵. Una reciente revisión a gran escala, determinó que la prevalencia global de la alergia de alimentos en Asia es generalmente comparable con la encontrada en los países occidentales, aunque esta clase de tipos de alergias difieren en orden de importancia en relación con el consumo de tipo de alimentos. La alergia al trigo, aunque no es frecuente en la mayor parte de los países asiáticos, es la causa más común de anafilaxis en Japón y Korea y está al alza en Tailandia¹⁵⁶.

Consúltese también el capítulo con la descripción detallada de recientes avances sobre la alergia al gluten.

3.5. Carga de la Enfermedad

Como se indicó en la introducción y se subrayó recientemente: “comprender la epidemiología, es crucial para intentar averiguar las causas de y cuantificar la carga de la enfermedad”⁷². Se sabe que los pacientes con enfermedad celíaca presentan una mayor carga de enfermedad que la población en general debido a osteoporosis, enfermedades autoinmunes y posibles malignidades asociadas (ver también capítulo por Lucendo et al.).

El enunciado hecho hace 10 años por Green y cols. aún es válido: “Hay una necesidad de realizar estudios de cribado de pacientes con otros procesos asociados con la enfermedad celíaca para determinar qué proporción de pacientes con enfermedad celíaca no diagnosticada está actualmente buscando cuidados médicos”¹⁵⁷. Actualmente, existe una necesidad de cuantificar el incremento en la alergia al trigo, como parte del incremento en condiciones alérgicas. También es necesario cuantificar la relevancia de otros trastornos relacionados con el gluten para instar a los responsables de los sistemas de salud nacionales a evaluar la carga total de estas enfermedades y prepararse para la ejecución de presupuestos adecuados.

Greco y cols. han llamado la atención acerca de la carga de la enfermedad celíaca en los países mediterráneos. Han calculado que, durante los próximos 10 años, el área mediterránea tendrá cerca de medio billón de habitantes, de los cuales 120 millones serán niños. Para el año 2020, el número proyectado de diagnósticos de enfermedad celíaca será de 5 millones de casos (1 millón de niños celíacos), con un incremento relativo del 11% comparado con el 2010. Basándose en la tasa del 2010, habrá cerca de 550.000 adultos sintomáticos y cerca de 240.000 niños afectados. Un 85% de los pacientes sintomáticos sufrirán de problemas gastrointestinales, 40% presentan probabilidades de presentar anemia, 30% presentan probabilidades de tener osteopenia, 20% de los niños tendrán estatura baja y 10% tendrán pruebas hepáticas alteradas¹²⁸. El impacto económico, tal y como fue discutido anteriormente en referencia con la sensibilidad al gluten no celíaca, ya está acarreado grandes consecuencias, particularmente en los EE.UU. En los casos de sensibilidad al gluten no celíaca, la prioridad es la de encontrar criterios y pruebas adecuadas para confirmar el diagnóstico y separar claramente las diferentes entidades que están incluidas en el mismo.

Referencias

1. Weile B, Krasilnikoff PA. *Low incidence rates by birth of symptomatic coeliac disease in a Danish population of children*. Acta Paediatr. 1992; 81: 394-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1992.tb12256.x>
PMid:1498504
2. George EK, Mearin ML, van der Velde EA, et al. *Low incidence of childhood celiac disease in The Netherlands*. Pediatr Res. 1995; 37: 213-8.
<http://dx.doi.org/10.1203/00006450-199502000-00015>
PMid:7731760
3. Ascher H, Krantz I, Kristiansson B. *Increasing incidence of coeliac disease in Sweden*. Arch Dis Child. 1991; 66: 608-11.
<http://dx.doi.org/10.1136/adc.66.5.608>
PMid:2039251 PMCID:PMC1792945
4. Magazzu G, Bottaro G, Cataldo F, et al. *Increasing incidence of childhood celiac disease in Sicily: results of a multicenter study*. Acta Paediatr. 1994; 83: 1065-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1994.tb12987.x>
PMid:7841706
5. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F, et al. *Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014; 59: 522-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0000000000000446>
PMid:24886992
6. Bai D, Brar P, Holleran S, et al. *Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men*. Scand J Gastroenterol. 2005; 40: 183-7.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520510011498>
PMid:15764149
7. Tursi A, Giorgetti G, Brandimarte G, et al. *Prevalence and clinical presentation of subclinical/silent celiac disease in adults: an analysis on a 12-year observation*. Hepato-gastroenterology. 2001; 48: 462-4.
PMid:11379333
8. Hadithi M, von Blomberg B, Crusius J, et al. *Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease*. Ann Intern Med. 2007; 147: 294-302.
9. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al. *HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease*. Hum Immunol. 2003; 64: 469-77.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00027-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00027-2)

10. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, et al. *HLA-DQ and risk gradient for celiac disease*. Hum Immunol. 2009; 70: 55-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2008.10.018>
PMid:19027045
11. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2: 647-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
PMid:12209133
12. Izzo V, Pinelli M, Tinto N, et al. *Improving the estimation of celiac disease sibling risk by non-HLA genes*. PLoS One. 2011; 6: e26920.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0026920>
PMid:22087237 PMCID:PMC3210127
13. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, et al. *Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease*. Gastroenterology. 2009; 137: 834-40, 840 e1-3.
14. Villanacci V, Ceppa P, Tavani E, et al. *Coeliac disease: the histology report*. Dig Liver Dis. 2011; 43 Suppl 4: S385-95.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658\(11\)60594-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658(11)60594-X)
15. Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, et al. *Duodenal bulb biopsies in celiac disease: a multicenter study*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008; 47: 618-22.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181677d6e>
PMid:18979585
16. Marine M, Fernandez-Banares F, Alsina M, et al. *Impact of mass screening for gluten-sensitive enteropathy in working population*. World J Gastroenterol. 2009; 15: 1331-8.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.1331>
PMid:19294762 PMCID:PMC2658830
17. Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. *Coeliac disease: is it time for mass screening? Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005; 19: 441-52.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2005.02.004>
PMid:15925848
18. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. *American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease*. Gastroenterology. 2006; 131: 1981-2002.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.004>
PMid:17087937
<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-147-5-200709040-00003>
PMid:17785484

19. Green PH, Cellier C. *Celiac disease*. N Engl J Med. 2007; 357: 1731-43.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra071600>
PMid:17960014
20. Catassi C, Yachha SK. *The global village of celiac disease*. In: Fasano A, Troncone R, Branski D, eds. *Frontiers in celiac disease*. Volume 23-31. Basel: Switzerland Karger, 2008.
<http://dx.doi.org/10.1159/000128610>
21. Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, et al. *Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950-2001*. Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2003; 1: 19-27.
<http://dx.doi.org/10.1053/jcgh.2003.50004>
PMid:15017513
22. McGowan KE, Castiglione DA, Butzner JD. *The changing face of childhood celiac disease in north america: impact of serological testing*. Pediatrics. 2009; 124: 1572-8.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-2373>
PMid:19948628
23. Kochhar R, Sachdev S, Kochhar R, et al. *Prevalence of coeliac disease in healthy blood donors: a study from north India*. Dig Liver Dis. 2012; 44: 530-2.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.01.004>
PMid:22497903
24. Garcia Novo MD, Garfia C, Acuña Quiros MD, et al. *Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid*. Rev Esp Enferm Dig. 2007; 99: 337-42.
PMid:17883297
25. Melo SB, Fernandes MI, Peres LC, et al. *Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirao Preto, State of Sao Paulo, Brazil*. Dig Dis Sci. 2006; 51: 1020-1025.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-006-9340-9>
PMid:16758312
26. Shamir R, Lerner A, Shinar E, et al. *The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors*. Am J Gastroenterol. 2002; 97: 2589-94.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.06028.x>
PMid:12385444
27. Ghozzi M, Sakly W, Mankai A, et al. *Screening for celiac disease, by endomysial antibodies, in patients with unexplained articular manifestations*. Rheumatol Int. 2014; 34: 637-42.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00296-013-2906-x>
PMid:24292850

28. Carroccio A, Iannitto E, Di PL, et al. *Screening for celiac disease in non- Hodgkin's lymphoma patients: a serum anti-transglutaminase-based approach*. Dig Dis Sci. 2003; 48: 1530-1536.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1024811707311>
PMid:12924648
29. Vancikova Z, Chlumecky V, Sokol D, et al. *The serologic screening for celiac disease in the general population (blood donors) and in some high-risk groups of adults (patients with autoimmune diseases, osteoporosis and infertility) in the Czech republic*. Folia Microbiol (Praha). 2002; 47: 753-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02818684>
30. Al Attas RA. *How common is celiac disease in Eastern Saudi Arabia?* Ann Saudi Med. 2002; 22: 315-9.
PMid:17146251
31. Volta U, Ravaglia G, Granito A, et al. *Coeliac disease in patients with autoimmune thyroiditis*. Digestion. 2001; 64: 61-5.
<http://dx.doi.org/10.1159/000048840>
PMid:11549838
32. Cuoco L, Certo M, Jorizzo RA, et al. *Prevalence and early diagnosis of coeliac disease in autoimmune thyroid disorders*. Ital J Gastroenterol Hepatol. 1999; 31: 283-7.
PMid:10425571
33. Freeman HJ. *Risk factors in familial forms of celiac disease*. World J Gastroenterol. 2010; 16: 1828-31.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v16.i15.1828>
PMid:20397258 PMCID:PMC2856821
34. Farre C, Humbert P, Vilar P, et al. *Serological markers and HLA-DQ2 haplotype among first-degree relatives of celiac patients*. Catalanian Coeliac Disease Study Group. Dig Dis Sci. 1999; 44: 2344-9.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1026685527228>
PMid:10573385
35. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, et al. *Prevalence of Celiac disease among children in Finland*. N Engl J Med. 2003; 348: 2517-24.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa021687>
PMid:12815137
36. Book L, Zone JJ, Neuhausen SL. *Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S. families*. Am J Gastroenterol. 2003; 98: 377- 81.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2003.07238.x>
PMid:12591058
37. Hansen D, Bennedbaek FN, Hansen LK, et al. *High prevalence of coeliac disease in Danish children with type I diabetes mellitus*. Acta Paediatr. 2001; 90: 1238- 43.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2001.tb01568.x>
PMid:11808892

38. Larsson K, Carlsson A, Cederwall E, et al. *Annual screening detects celiac disease in children with type 1 diabetes*. *Pediatr Diabetes* 2008; 9: 354-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-5448.2008.00367.x>
PMid:18774995
39. Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P, et al. *Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 5495-8.
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2002-020855>
PMid:12466343
40. Smukalla S, Lebwohl B, Mears JG, et al. *How often do hematologists consider celiac disease in iron-deficiency anemia? Results of a national survey*. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2014; 12: 100-5.
PMid:24892255
41. Kavimandan A, Sharma M, Verma AK, et al. *Prevalence of celiac disease in nutritional anemia at a tertiary care center*. *Indian J Gastroenterol*. 2014; 33: 114-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12664-013-0366-6>
PMid:23996798
42. Hjelle AM, Apalset E, Mielnik P, et al. *Celiac disease and risk of fracture in adults-a review*. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2014; 25: 1667-76.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-014-2683-8>
PMid:24691647
43. Stobaugh DJ, Deepak P, Ehrenpreis ED. *Increased risk of osteoporosis-related fractures in patients with irritable bowel syndrome*. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2013; 24: 1169-75.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-012-2141-4>
PMid:22993020
44. Troncone R, Discepolo V. *Celiac disease and autoimmunity*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 59 Suppl 1: S9-S11.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.mpg.0000450394.30780.ea>
PMid:24979198
45. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, et al. *Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country*. *N Engl J Med*. 2014; 371: 42-9.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1313977>
PMid:24988556 PMCID:PMC4163840
46. Virta LJ, Kolho KL. *The risk of contracting pediatric inflammatory bowel disease in children with celiac disease, epilepsy, juvenile arthritis and type 1 diabetes-a nationwide study*. *J Crohns Colitis*. 2013; 7: 53-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.crohns.2012.02.021>
PMid:22445838

47. Mehrdad M, Mansour-Ghanaei F, Mohammadi F, et al. *Frequency of celiac disease in patients with hypothyroidism*. J Thyroid Res. 2012; 2012: 201538.
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/201538>
PMid:22545223 PMCID:PMC3321550
48. Megiorni F, Pizzuti A. *HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing*. J Biomed Sci. 2012; 19: 88.
<http://dx.doi.org/10.1186/1423-0127-19-88>
PMid:23050549 PMCID:PMC3482388
49. Ludvigsson JF, Kampe O, Lebwohl B, et al. *Primary Hyperparathyroidism and Celiac Disease: A Population-Based Cohort Study*. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97: 897-904.
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-2639>
PMid:22238405 PMCID:PMC3319223
50. Efe C, Wahlin S, Ozaslan E, et al. *Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extrahepatic autoimmune diseases*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2012; 24: 531-4.
<http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e328350f95b>
PMid:22465972
51. Krishnareddy S, Lewis SK, Green PH. *Dermatitis herpetiformis: clinical presentations are independent of manifestations of celiac disease*. Am J Clin Dermatol. 2014; 15: 51-6.
<http://dx.doi.org/10.1007/s40257-013-0051-7>
PMid:24293087
52. Plotnikova N, Miller JL. *Dermatitis herpetiformis*. Skin therapy letter. 2013; 18: 1-3.
PMid:23674144
53. Iqbal T, Zaidi MA, Wells GA, et al. *Celiac disease arthropathy and autoimmunity study*. J Gastroenterol Hepatol. 2013; 28: 99-105.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07272.x>
PMid:22988822
54. Malt EA, Dahl RC, Haugsand TM, et al. *Health and disease in adults with Down syndrome*. Tidsskr Nor Laegeforen. 2013; 133: 290-4.
<http://dx.doi.org/10.4045/tidsskr.12.0390>
PMid:23381164
55. Grossi A, Palma A, Zanni G, et al. *Multiorgan autoimmunity in a Turner syndrome patient with partial monosomy 2q and trisomy 10p*. Gene. 2013; 515: 439-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.12.007>
PMid:23262341
56. Giannotti A, Tiberio G, Castro M, et al. *Coeliac disease in Williams syndrome*. J Med Genet. 2001; 38: 767-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/jmg.38.11.767>
PMid:11694549 PMCID:PMC1734770

57. Dirks MH. *Practical considerations for the identification and follow-up of children with celiac disease.* Paediatr Child Health. 2004; 9: 714-8.
PMid:19688081 PMCID:PMC2724146
58. Ruuskanen A, Kaukinen K, Collin P, et al. *Gliadin antibodies in older population and neurological and psychiatric disorders.* Acta Neurol Scand. 2013; 127: 19-25.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0404.2012.01668.x>
PMid:22494246
59. Bukulmez A, Dalgic B, Gunduz B, et al. *The evaluation of hearing loss in children with celiac disease.* Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2013; 77: 175-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2012.10.012>
PMid:23137854
60. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Strigun A, et al. *Autoantibodies in gluten ataxia recognize a novel neuronal transglutaminase.* Ann Neurol. 2008; 64: 332- 43.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.21450>
PMid:18825674
61. Crosato F, Senter S. *Cerebral occipital calcifications in celiac disease.* Neuropediatrics. 1992; 23: 214-7.
<http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1071345>
PMid:1407390
62. De Maddi F, Pellegrini F, Raffaele CG, et al. *Celiac disease and juvenile idiopathic arthritis: a still enigmatic crossover.* Scand J Gastroenterol. 2013; 48: 511-2.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2013.772232>
PMid:23448357
63. Zelnik N, Pacht A, Obeid R, et al. *Range of neurologic disorders in patients with celiac disease.* Pediatrics. 2004; 113: 1672-6.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.113.6.1672>
PMid:15173490
64. Welander A, Sundelin B, Fored M, et al. *Increased Risk of IgA Nephropathy Among Individuals With Celiac Disease.* J Clin Gastroenterol. 2013; 47: 678-83.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e318284792e>
PMid:23442839
65. Smerud HK, Fellstrom B, Hallgren R, et al. *Gluten sensitivity in patients with IgA nephropathy.* Nephrol Dial Transplant. 2009; 24: 2476-81.
<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp133>
PMid:19332868

66. Prasad D, Khara HS, Gupta M, et al. *Celiac disease associated membranous nephropathy - a rare cause or coincidence? A case report*. Cases J. 2009; 2: 7018.
<http://dx.doi.org/10.1186/1757-1626-0002-0000007018>
PMid:19829897 PMCID:PMC2740114
67. Collin P, Syrjanen J, Partanen J, et al. *Celiac disease and HLA DQ in patients with IgA nephropathy*. Am J Gastroenterol. 2002; 97: 2572-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.06025.x>
PMid:12385441
68. Tursi A, Giorgetti G, Brandimarte G, et al. *Effect of gluten-free diet on pregnancy outcome in celiac disease patients with recurrent miscarriages*. Dig Dis Sci. 2008; 53: 2925-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-008-0242-x>
PMid:18368491
69. Martinelli P, Troncone R, Paparo F, et al. *Coeliac disease and unfavourable outcome of pregnancy*. Gut. 2000; 46: 332-5.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.46.3.332>
PMid:10673293 PMCID:PMC1727862
70. Volta U, Bellentani S, Bianchi FB, et al. *High prevalence of celiac disease in Italian general population*. Dig Dis Sci. 2001; 46: 1500-5.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1010648122797>
PMid:11478502
71. Sjoberg K, Eriksson S. *Regional differences in coeliac disease prevalence in Scandinavia?* Scand J Gastroenterol. 1999; 34: 41-5.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365529950172817>
PMid:10048731
72. West J, Fleming KM, Tata LJ, et al. *Incidence and prevalence of celiac disease and dermatitis herpetiformis in the UK over two decades: population-based study*. The American journal of gastroenterology. 2014; 109: 757-68.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2014.55>
PMid:24667576 PMCID:PMC4012300
73. Biagi F, Trotta L, Alfano C, et al. *Prevalence and natural history of potential celiac disease in adult patients*. Scand J Gastroenterol. 2013; 48: 537-42.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2013.777470>
PMid:23506211
74. Dickey W, Hughes D. *Prevalence of celiac disease and its endoscopic markers among patients having routine upper gastrointestinal endoscopy*. Am J Gastroenterol. 1999; 94: 2182-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.01348.x>
PMid:10445547

75. Rostami K, Mulder C, Werre J, et al. *High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggests a high prevalence of undiagnosed celiac disease in the Dutch population.* Scand J Gastroenterol. 1999; 34: 276-9.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365529950173681>
PMid:10232872
76. Schweizer JJ, von Blomberg BM, Bueno-de Mesquita HB, et al. *Coeliac disease in The Netherlands.* Scand J Gastroenterol. 2004; 39: 359-64.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520310008503>
PMid:15125468
77. Rutz R, Ritzler E, Fierz W, et al. *Prevalence of asymptomatic celiac disease in adolescents of eastern Switzerland.* Swiss Med Wkly. 2002; 132: 43-7.
PMid:11953905
78. Cataldo F, Pitarresi N, Accomando S, et al. *Epidemiological and clinical features in immigrant children with coeliac disease: an Italian multicentre study.* Dig Liver Dis. 2004; 36: 722-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2004.03.021>
PMid:15571002
79. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, et al. *Increasing prevalence of coeliac disease over time.* Aliment Pharmacol Ther. 2007; 26: 1217-25.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03502.x>
PMid:17944736
80. 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: 587-95.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2010.505931>
PMid:21070098
81. Kondrashova A, Mustalahti K, Kaukinen K, et al. *Lower economic status and inferior hygienic environment may protect against celiac disease.* Ann Med. 2008; 40: 223-31.
<http://dx.doi.org/10.1080/07853890701678689>
PMid:18382888
82. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al. *Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study.* Arch Intern Med. 2003; 163: 286-92.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.163.3.286>
PMid:12578508
83. Rubio-Tapia A, Ludvigsson JF, Brantner TL, et al. *The prevalence of celiac disease in the United States.* Am J Gastroenterol. 2012; 107: 1538-44.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.219>
PMid:22850429

84. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, et al. *Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974*. Ann Med. 2010; 42: 530-8.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2010.514285>
PMid:20868314
85. Teresi S, Crapisi M, Vallejo MD, et al. *Celiac disease seropositivity in Saharawi children: a follow-up and family study*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010; 50: 506-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181bab30c>
86. Coton T, Grassin F, Maslin J, et al. *Celiac disease: special features in Africa*. Description of 8 cases in Djibouti (horn of Africa). Med Trop (Mars). 2008; 68: 144-8.
87. Fleming AF. *Iron deficiency in the tropics*. Clin Haematol. 1982; 11: 365-88.
PMid:7042157
88. Honar N, Karamizadeh Z, Saki F. *Prevalence of celiac disease in patients with type 1 diabetes mellitus in the south of Iran*. Turk J Gastroenterol. 2013; 24: 122-6.
PMid:23934458
89. Shahbazkhani B, Malekzadeh R, Sotoudeh M, et al. *High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2003; 15: 475-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200305000-00003>
PMid:12702902
90. Elsurer R, Tatar G, Simsek H, et al. *Celiac disease in the Turkish population*. Dig Dis Sci. 2005; 50: 136-142.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-005-1291-z>
PMid:15712651
91. Gursoy S, Guven K, Simsek T, et al. *The prevalence of unrecognized adult celiac disease in Central Anatolia*. J Clin Gastroenterol. 2005; 39: 508-11.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.mcg.0000165664.87153.e1>
PMid:15942437
92. Imanzadeh F, Sayyari AA, Yaghoobi M, et al. *Celiac disease in children with diarrhea is more frequent than previously suspected*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005; 40: 309-11.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.MPG.0000154012.10420.08>
PMid:15735484
93. Ertekin V, Selimoglu MA, Kardas F, et al. *Prevalence of celiac disease in Turkish children*. J Clin Gastroenterol. 2005; 39: 689-91.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.mcg.0000174026.26838.56>
PMid:16082278

94. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, et al. *Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests.* Eur J Gastroenterol Hepatol. 2006; 18: 1181-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.meg.0000224477.51428.32>
PMid:17033439
95. Tatar G, Elsurer R, Simsek H, et al. *Screening of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors for celiac disease screening in the Turkish population.* Dig Dis Sci. 2004; 49: 1479-84.
<http://dx.doi.org/10.1023/B:DDAS.0000042250.59327.91>
PMid:15481323
96. Makharia GK, Mulder CJ, Goh KL, et al. *Issues associated with the emergence of coeliac disease in the Asia-Pacific region: a working party report of the World Gastroenterology Organization and the Asian Pacific Association of Gastroenterology.* J Gastroenterol Hepatol. 2014; 29: 666-77.
<http://dx.doi.org/10.1111/jgh.12514>
PMid:24783246
97. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, et al. *Indian task force for celiac disease: current status.* World J Gastroenterol. 2009; 15: 6028-33.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.6028>
PMid:20027674 PMCID:PMC2797658
98. Yachha SK, Poddar U. *Celiac disease in India.* Indian J Gastroenterol. 2007; 26: 230-7.
PMid:18227574
99. Catassi C, Anderson RP, Hill ID, et al. *World perspective on celiac disease.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 55: 494-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318272adf4>
PMid:22983371
100. Agrawal S, Srivastava SK, Borkar M, et al. *Genetic affinities of north and northeastern populations of India: inference from HLA-based study.* Tissue Antigens. 2008; 72: 120-30.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01083.x>
PMid:18721272
101. Shanmugalakshmi S, Balakrishnan K, Manoharan K, et al. *HLA-DRB1*, -DQB1* in Piramalai Kallars and Yadhavas, two Dravidian-speaking castes of Tamil Nadu, South India.* Tissue Antigens. 2003; 61: 451-64.
<http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-0039.2003.00061.x>
PMid:12823769
102. Makharia GK, Verma AK, Amarchand R, et al. *Prevalence of celiac disease in the northern part of India: a community based study.* J Gastroenterol Hepatol. 2011; 26: 894-900.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2010.06606.x>
PMid:21182543

103. Sood A, Midha V, Sood N, et al. *Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India*. J Gastroenterol Hepatol. 2006; 21: 1622-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2006.04281.x>
PMid:16928227
104. Masood N, Ali Shaikh I. *Clinical presentations and biochemical profile in adult celiac disease patients in Hyderabad: Pakistan*. Pak J Med Sci. 2014; 30: 287-90.
PMid:24772128 PMCID:PMC3998995
105. Rashid M, Khan AG. *Celiac disease in Pakistan: challenges and opportunities*. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2009; 21: 1-2.
PMid:20929000 67
106. Perez Villavicencio A, Beirute Lucke C, Peña AS. *Perspectives to take into account when studying celiac disease in China and Central America*. In: Rodrigo L, Peña AS, eds. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. Barcelona, Spain: OmniaScience, 2014: 61-64.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.237>
107. Yuan J, Gao J, Li X, et al. *The tip of the "celiac iceberg" in China: a systematic review and meta-analysis*. PLoS One. 2013; 8: e81151.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0081151>
PMid:24324669 PMCID:PMC3852028
108. Wu J, Xia B, von Blomberg BM, et al. *Coeliac disease in China, a field waiting for exploration*. Rev Esp Enferm Dig. 2010; 102: 472-7.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082010000800003>
PMid:20670067
109. Wu J, Xia B, von Blomberg BM, et al. *Coeliac disease: emerging in China?* Gut. 2010; 59: 418-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.197863>
PMid:20207652
110. Wang XQ, Liu W, Xu CD, et al. *Celiac disease in children with diarrhea in 4 cities in China*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011; 53: 368-70.
PMid:21701402
111. Sher KS, Fraser RC, Wicks AC, et al. *High risk of coeliac disease in Punjabis. Epidemiological study in the south Asian and European populations of Leicestershire*. Digestion. 1993; 54: 178-82.
<http://dx.doi.org/10.1159/000201035>
PMid:8359561
112. Watanabe C, Komoto S, Hokari R, et al. *Prevalence of serum celiac antibody in patients with IBD in Japan*. J Gastroenterol. 2014; 49: 825-34.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00535-013-0838-6>
PMid:23754511 PMCID:PMC4019828

113. Cook HB, Burt MJ, Collett JA, et al. *Adult coeliac disease: prevalence and clinical significance*. Journal of gastroenterology and hepatology. 2000; 15: 1032- 6.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1746.2000.02290.x>
PMid:11059933
114. Tanpowpong P, Ingham TR, Lampshire PK, et al. *Coeliac disease and gluten avoidance in New Zealand children*. Arch Dis Child. 2012; 97: 12-26.
<http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2011-300248>
PMid:22075107
115. Chin MW, Mallon DF, Cullen DJ, et al. *Screening for coeliac disease using anti-tissue transglutaminase antibody assays, and prevalence of the disease in an Australian community*. Med J Aust. 2009; 190: 429-32.
PMid:19374615
116. Hovell CJ, Collett JA, Vautier G, et al. *High prevalence of coeliac disease in a population-based study from Western Australia: a case for screening?* Med J Aust. 2001; 175: 247-50.
PMid:11587254
117. Remes-Troche JM, Ramirez-Iglesias MT, Rubio-Tapia A, et al. *Celiac disease could be a frequent disease in Mexico: prevalence of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors*. J Clin Gastroenterol. 2006; 40: 697-700.
<http://dx.doi.org/10.1097/00004836-200609000-00007>
PMid:16940881
118. Remes-Troche JM, Nunez-Alvares C, Uscanga-Dominguez LF. *Celiac disease in Mexican population: an update*. Am J Gastroenterol. 2013; 108: 283-4.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.408>
PMid:23381082
119. Remes-Troche JM, Rios-Vaca A, Ramirez-Iglesias MT, et al. *High prevalence of celiac disease in Mexican Mestizo adults with type 1 diabetes mellitus*. J Clin Gastroenterol. 2008; 42: 460-5.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e318046ea86>
PMid:18344893
120. Cromeyer M, Gutierrez RA, Zaldivar K, et al. *Celiac disease in El Salvador*. In: Rodrigo L, Peña AS, eds. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. Barcelona, Spain: OmniaScience, 2014: 75-88.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.231>
121. Brenes-Pino F, Brenes A. *Small Intestine Biopsy and its Interpretation: Preliminary Results in Costa Rica*. In: Rodrigo L, Peña AS, eds. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. Barcelona, Spain: OmniaScience, 2014: 203-218.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.229>

122. Modelli IC, Gandolfi L, Almeida RC, et al. *Serological screening for celiac disease in symptomatic 12 to 36 month-old children*. Arq Gastroenterol. 2010; 47: 61-5.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-28032010000100011>
PMid:20520977
123. Almeida PL, Gandolfi L, Modelli IC, et al. *Prevalence of celiac disease among first degree relatives of Brazilian celiac patients*. Arq Gastroenterol. 2008; 45: 69-72.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-28032008000100013>
PMid:18425232
124. Pereira MA, Ortiz-Agostinho CL, Nishitokukado I, et al. *Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly European ancestry*. World J Gastroenterol. 2006; 12: 6546-50.
PMid:17072989 PMCID:PMC4100646
125. Mora M, Litwin N, Toca Mdel C, et al. *Prevalence of celiac disease: multicentric trial among pediatric population from five urban districts in Argentina*. Arch Argent Pediatr. 2012; 110: 490-6.
<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2012.eng.490>
126. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, et al. *Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area*. The American journal of gastroenterology. 2001; 96: 2700-4.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.04124.x>
PMid:11569698
127. Marine M, Farre C, Alsina M, et al. *The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults*. Aliment Pharmacol Ther. 2011; 33: 477-86.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04543.x>
PMid:21166832
128. Greco L, Timpone L, Abkari A, et al. *Burden of celiac disease in the Mediterranean area*. World J Gastroenterol. 2011; 17: 4971-8.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v17.i45.4971>
PMid:22174546 PMCID:PMC3236588
129. Reunala T. *Dermatitis herpetiformis: coeliac disease of the skin*. Annals of medicine. 1998; 30: 416-8.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853899809002482>
PMid:9814827
130. Meyer LJ, Zone JJ. *Familial incidence of dermatitis herpetiformis*. Journal of the American Academy of Dermatology. 1987; 17: 643-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622\(87\)70250-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622(87)70250-3)
131. Reunala T. *Incidence of familial dermatitis herpetiformis*. The British journal of dermatology. 1996; 134: 394-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.1996.tb16220.x>
PMid:8731659

132. da Silva Kotze LM, Nisihara R, Kotze LR, et al. *Celiac disease and dermatitis herpetiformis in Brazilian twins: a long-term follow-up and screening of their relatives*. Journal of pediatric endocrinology and metabolism. 2013; 26: 71-5.
<http://dx.doi.org/10.1515/jpem-2012-0282>
PMid:23329745
133. Hervonen K, Alakoski A, Salmi TT, et al. *Reduced mortality in dermatitis herpetiformis: a population-based study of 476 patients*. The British journal of dermatology. 2012; 167: 1331-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.11105.x>
PMid:22708883
134. Zhang F, Yang B, Lin Y, et al. *Dermatitis herpetiformis in China: a report of 22 cases*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV. 2012; 26: 903-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04204.x>
PMid:22032403
135. Shibahara M, Nanko H, Shimizu M, et al. *Dermatitis herpetiformis in Japan: an update*. Dermatology. 2002; 204: 37-42.
<http://dx.doi.org/10.1159/000051808>
PMid:11834848
136. Daneshpazhooh M, Chams-Davatchi C, Payandemehr P, et al. *Spectrum of autoimmune bullous diseases in Iran: a 10-year review*. International journal of dermatology. 2012; 51: 35-41.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2011.04946.x>
PMid:22182376
137. Wong SN, Chua SH. *Spectrum of subepidermal immunobullous disorders seen at the National Skin Centre, Singapore: a 2-year review*. The British journal of dermatology. 2002; 147: 476-80.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2133.2002.04919.x>
138. Adam BA. *Bullous diseases in Malaysia: epidemiology and natural history*. International journal of dermatology. 1992; 31: 42-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4362.1992.tb03519.x>
PMid:1737688
139. Smith JB, Tulloch JE, Meyer LJ, et al. *The incidence and prevalence of dermatitis herpetiformis in Utah*. Archives of dermatology. 1992; 128: 1608-10.
<http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1992.04530010046006>
PMid:1456754
140. Smecuol E, Sugai E, Niveloni S, et al. *Permeability, zonulin production, and enteropathy in dermatitis herpetiformis*. Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2005; 3: 335-41.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565\(04\)00778-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565(04)00778-5)

141. Salmi TT, Hervonen K, Kautiainen H, et al. *Prevalence and incidence of dermatitis herpetiformis: a 40-year prospective study from Finland*. The British Journal of Dermatology. 2011; 165: 354-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10385.x>
PMid:21517799
142. Hadjivassiliou M. *Immune-mediated acquired ataxias*. Handb Clin Neurol. 2012; 103: 189-99.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-51892-7.00011-5>
PMid:21827889
143. Hadjivassiliou M, Grunewald R, Sharrack B, et al. *Gluten ataxia in perspective: epidemiology, genetic susceptibility and clinical characteristics*. Brain. 2003; 126: 685-91.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/awg050>
PMid:12566288
144. Hernandez-Lahoz C, Rodrigo-Saez L, Vega-Villar J, et al. *Familial gluten ataxia*. Mov Disord. 2014; 29: 308-10.
<http://dx.doi.org/10.1002/mds.25783>
PMid:24375771
145. Nanri K, Mitoma H, Ihara M, et al. *Gluten ataxia in Japan*. Cerebellum. 2014; 13: 623-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12311-014-0582-3>
PMid:24997752
146. Wills A, Dale R, Giovannoni G. *Gluten Ataxia and Post-Streptococcal Central Nervous System Syndromes: Emerging Immune-mediated Disorders of the Central Nervous System?* Curr Treat Options Neurol. 2005; 7: 183-189.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11940-005-0011-5>
PMid:15814071
147. Leonard MM, Vasagar B. *US perspective on gluten-related diseases*. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 25-37.
PMid:24493932 PMCID:PMC3908912
148. Czaja-Bulsa G. *Non coeliac gluten sensitivity - A new disease with gluten intolerance*. Clin Nutr. 2014.
PMid:25245857
149. Peña AS, Rodrigo L. *Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity*. In: Rodrigo L, Peña AS, eds. Celiac disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity. Volume. Barcelona: OmniaScience, 2014: 25-43.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.223>
150. Di Sabatino A, Corazza GR. *Nonceliac gluten sensitivity: sense or sensibility?* Ann Intern Med. 2012; 156: 309-11.
<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-156-4-201202210-00010>
PMid:22351716

151. Spence D. *Bad medicine: food intolerance*. BMJ. 2013; 346: f529.
<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.f529>
PMid:23364064
152. Aziz I, Lewis NR, Hadjivassiliou M, et al. *A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014; 26: 33-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.meg.0000435546.87251.f7>
PMid:24216570
153. Ho MH, Wong WH, Chang C. *Clinical spectrum of food allergies: a comprehensive review*. Clin Rev Allergy Immunol. 2014; 46: 225-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12016-012-8339-6>
PMid:23229594
154. Morita E, Chinuki Y, Takahashi H, et al. *Prevalence of wheat allergy in Japanese adults*. Allergol Int. 2012; 61: 101-5.
<http://dx.doi.org/10.2332/allergolint.11-OA-0345>
PMid:22377522
155. Dey D, Ghosh N, Pandey N, et al. *A hospital-based survey on food allergy in the population of Kolkata, India*. Int Arch Allergy Immunol. 2014; 164: 218-21.
<http://dx.doi.org/10.1159/000365629>
PMid:25138428
156. Lee AJ, Thalayasingam M, Lee BW. *Food allergy in Asia: how does it compare?* Asia Pac Allergy. 2013; 3: 3-14.
<http://dx.doi.org/10.5415/apallergy.2013.3.1.3>
PMid:23403837 PMCID:PMC3563019
157. Green PH. *The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population*. Gastroenterology. 2005; 128: S74-8.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.016>
PMid:15825130

SECCIÓN I: GENÉTICA, GENOMICA, INMUNOLOGÍA Y SU APLICACIÓN AL TRATAMIENTO

Prefacio de la Sección I :
Eduardo Arranz MD., PhD

Capítulos 1-6 :

- 1. Genética de la Enfermedad Celíaca. Genes HLA y no HLA. Estudios de Expresión Génica. Leticia Plaza-Izurieta, Nora Fernández-Jiménez, José Ramón Bilbao.*
- 2. Mecanismos de Tolerancia Intestinal frente a distintos productos de la dieta. David Bernardo, Stella C. Knight.*
- 3. Proteínas de Cereales. Péptidos Inmunomoduladores y Tóxicos. Fernando G. Chirido, Eduardo Arranz.*
- 4. Patogenia de la Enfermedad Celíaca. C. Escudero-Hernández, José A. Garrote, Eduardo Arranz.*
- 5. Microbiota Intestinal y Enfermedad Celíaca. Marta Olivares, Yolanda Sanz.*
- 6. Tratamientos Celíacos, Terapias Auxiliares y Opciones a la Dieta Sin Gluten. Elena Justin L. McCarville, Alberto Caminero, Elena F. Verdú.*

El objetivo de la Sección I es revisar el conocimiento actual sobre los factores ambientales, genéticos e inmunológicos involucrados en la enfermedad celíaca, así como describir las terapias alternativas, que se hallan en diferentes etapas del desarrollo. El gluten es una compleja mezcla de proteínas de almacenamiento con un bajo nivel nutricional, pero con propiedades funcionales únicas para la elaboración de una amplia variedad de productos alimentarios alimenticios. Las gliadinas y las gluteninas del trigo, así como sus contrapartes análogos presentes en la cebada y el centeno, también llamadas (prolaminas), son parcialmente digeridas en el intestino humano y, como resultado, se generan diferentes péptidos inmunogénicos, los cuales poseen la capacidad de estimular una respuesta inmune en un individuos con susceptibilidad genética.

El **capítulo 1**, describe los factores genéticos que se sabe poseen un papel central en la susceptibilidad a la enfermedad celíaca, aunque su modalidad de herencia aún es desconocida. Se ha estimado, en estudios sobre la prevalencia de la enfermedad celíaca en familias afectadas (y especialmente, al comparar parejas de gemelos), la contribución de diversos factores ambientales y genéticos. El componente genético de la enfermedad celíaca es más elevado que la contribución estimada para otras enfermedades inmunológicas complejas. El riesgo genético se basa principalmente en la presencia de ciertos alelos del complejo antigénico leucocitario humano (HLA, por sus siglas en inglés), a pesar de que su contribución a la herencia sea modesta; otros loci de susceptibilidad no HLA pueden contribuir en menor medida con muchos efectos menores.

El **capítulo 2** describe las propiedades únicas del tejido linfoide, asociadas con el tracto gastrointestinal para el mantenimiento de la homeostasis inmune al lidiar con en un ambiente rico en antígenos. Aquí, la respuesta por defecto es la tolerancia oral, la cual que controla la respuesta en contra de los antígenos alimentarios y la flora intestinal habitual comensal. No obstante, existen situaciones en las que los mecanismos de la tolerancia inmune no se desarrollan y/o se mantienen, lo que conduce a la activación de las respuestas inmunes contra las proteínas del gluten (enfermedad celíaca) o la flora saprofita intestinal (enfermedad de Crohn).

El **capítulo 3** proporciona información relevante sobre las proteínas tóxicas del cereal: gliadinas y gluteninas del trigo y otras prolaminas provenientes de la cebada y del centeno. La adherencia estricta a una dieta libre de sin gluten es el verdadero tratamiento para la enfermedad celíaca y, para este fin en mente, el consumo de productos certificados etiquetados como libres de gluten resulta imprescindible. Las técnicas inmunoquímicas para el análisis del gluten se basan en el empleo de anticuerpos policlonales y monoclonales generados frente a las diversas prolaminas. La digestión

luminal genera diferentes péptidos inmunomoduladores y tóxicos, responsables de la presencia de una respuesta inmune exacerbada en la mucosa intestinal de pacientes con enfermedad celíaca, con un rol central para la inmunidad adaptativa y a través de los linfocitos T reactivos al gluten, aunque la inmunidad innata también podría estar involucrada también, ya que se ha demostrado que algunos péptidos de la gliadina podrían inducir cambios estructurales en el intestino, así como reacciones inflamatorias.

El **capítulo 4**, describe el modelo más ampliamente aceptado de patogenia de la enfermedad celíaca, el cual se enfoca sobre la estimulación de las células T CD4+ reactivas al gluten por parte de los péptidos de gluten deamidados por la TG2, presentados por el complejo HLA-DQ2/DQ8 y la producción de citoquinas inflamatorias. Otros péptidos de la gliadina, podrían tener un efecto directo sobre el epitelio, con la interleuquina (IL)-15, como principal mediador y manifestado por la expresión de moléculas de estrés y la activación de la función citotóxica de las células T CD8+ intraepiteliales. Una respuesta inmune anómala a los péptidos de gliadina conduce al desarrollo de las lesiones intestinales con linfocitosis intraepitelial, destrucción epitelial, remodelado mucosal de la mucosa y la producción de autoanticuerpos frente a la transglutaminasa tisular.

El **capítulo 5** revisa la asociación existente entre la enfermedad celíaca y los cambios en la composición de la microbiota intestinal, que no se restaura completamente después de una dieta sin gluten y podría estar asociada con el genotipo HLA-DQ2, tal y como se ve en niños sanos con riesgo familiar de enfermedad celíaca. La composición de la microbiota intestinal puede jugar un papel en la patogenia de la enfermedad celíaca y su actividad proteolítica podría ser responsable de la generación de péptidos inmunogénicos y tóxicos. Se sabe que la microbiota tiene la capacidad de regular la función de la barrera epitelial. Se necesitan más estudios para confirmar estos efectos y para comprender mejor cómo, a través de la administración de variedades específicas de bacterias, se podría modular la homeostasis inmune gastrointestinal y reducir el riesgo de la enfermedad celíaca.

Capítulo 6. Hasta la fecha, la única terapia aceptada para la enfermedad celíaca es una dieta sin gluten, mantenida de por vida, que resulta segura y efectiva para la mayoría de los pacientes, aunque algunas de sus limitaciones y la cada vez mayor comprensión de la patogénesis de la enfermedad celíaca, conducido al desarrollo de diversas opciones alternativas. Estas nuevas terapias incluyen : a) Estrategias de eliminación de la toxicidad en alimentos; b) Terapias lumbales dirigidas a neutralizar los péptidos del gluten en el intestino mediante enzimas, probióticos y ligadores

de gluten; c) Terapias de refuerzo para la barrera intestinal que inhiban el paso de los péptidos a la lámina propia; c) Terapias inmunes dirigidas, entre ellas, aquellas dirigidas frente a células T intestinales o los mediadores inflamatorios, así como las terapias con vacunas. d) Terapias experimentales que utilizan compuestos o estrategias biológicas en fase experimental, (como por ejemplo la molécula Elafin estudiada por los autores en un modelo animal).

CAPÍTULO 1

GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA. GENES HLA Y NO-HLA.

Leticia Plaza-Izurieta, Nora Fernández-Jiménez, José Ramón Bilbao.

Dpto. de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal, Instituto de Investigación de la Salud BioCruces, Universidad del País Vasco-UPV/EHU, Leioa, País Vasco, España.

Immunogenetics.let@gmail.com joseramon.bilbao@ehu.es

Cómo citar este capítulo:

Plaza-Izurieta L, Fernández-Jiménez N, Bilbao JR. *Genética de la Enfermedad Celíaca. Genes HLA y no-HLA*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores. *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

A pesar de que la modalidad de herencia de la enfermedad celíaca aún es desconocida, se conoce desde hace tiempo que la genética participa en la susceptibilidad a la enfermedad. Los estudios sobre la prevalencia de la EC en familias afectadas y especialmente, aquellas en las que se comparan parejas de gemelos, han sido muy útiles para estimar la proporción en la que los factores genéticos y ambientales contribuyen al desarrollo de este complejo trastorno. De acuerdo con estos estudios, la genética es una partícipe fundamental, tanto en los mecanismos desencadenantes como en el desarrollo posterior de la EC.

En general, se parte del supuesto de que la proporción de gemelos monocigotos o idénticos que concuerdan para la EC es de alrededor del 75-86% mientras que, en el caso de gemelos dicigóticos, esta proporción se reduce al 16-20%. Esta diferencia entre gemelos mono y dicigotos ha permitido a los científicos estimar el componente genético de la EC, que es más elevado de lo que se ha calculado para otras enfermedades complejas de tipo inmunológico, tales como la diabetes tipo 1 (T1D, por sus siglas en inglés) resultando llamativo que las tasas de concordancia entre pares de hermanos y gemelos dicigotos sean casi idénticas. Esto indica que el componente ambiental hace una contribución mínima para el riesgo de desarrollar EC. En resumen, la evidencia acumulada sugiere que la EC posee un componente genético muy fuerte y se ha calculado que el modo de herencia de esta enfermedad (la proporción del riesgo de sufrir EC atribuible a factores genéticos, comparada con determinantes ambientales) es de alrededor del 87%². La mayor porción del riesgo genético de desarrollar EC proviene de la presencia de ciertos alelos del Antígeno Leucocitario Humano (HLA, por sus siglas en inglés). No obstante, aun si el papel de estas moléculas HLA es esencial en la patogenia de la enfermedad, su contribución a la herencia es modesta y, por lo tanto, se ha pensado en la existencia de muchos loci de susceptibilidad no-HLA de efectos pequeños.

Palabras clave

Enfermedad celíaca, enfermedad autoinmune, enfermedad de mediación inmune, HLA, estudios sobre ligamiento, estudios sobre asociación de todo el genoma (GWAS), expresión, análisis de vías.

1. La Región HLA y la Enfermedad Celíaca

1.2. La Región HLA

HLA es el nombre utilizado para definir el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) en seres humanos; es un súper locus localizado en la región cromosómica 6p21 y contiene un gran número de genes relacionados con la respuesta inmune. Los genes HLA codifican proteínas presentadoras de antígenos que se expresan en la mayoría de las células humanas y que son esenciales para la capacidad del organismo de distinguir entre las moléculas propias y las ajenas.

Los genes HLA están involucrados en muchos trastornos inflamatorios y autoinmunes; también contribuyen a la susceptibilidad para desarrollar enfermedades infecciosas, tales como el SIDA o la malaria. No obstante, debido a la alta complejidad genética de la región, la mayor parte de los factores genéticos concretos y los mecanismos patogénicos que subyacen a la susceptibilidad de cada uno de estos trastorno aún se desconoce. De hecho, la región HLA presenta la mayor densidad génica de todo el genoma y parece favorecerse una muy fuerte expresión de los genes³.

1.2. Contribución del Riesgo Genético y de los Genes de Susceptibilidad

Como se mencionó previamente, la región HLA es el locus de susceptibilidad más importante para la EC y explica alrededor del 40% del componente genético de la enfermedad. La primera evidencia que apoya la asociación entre HLA y EC fue publicada en 1973 y fue detectada utilizando métodos serológicos⁴. Debido al fuerte desequilibrio de ligamiento presente en el área, los estudios iniciales identificaron HLA-A1, HLA-B8 y HLA-DR3 como las variantes etiológicas en la región; posteriores estudios moleculares, han revelado que los factores directamente implicados en los genes HLA de clase II codifican tanto las moléculas HLA-DQ2 como DQ8 (Figura 1). La asociación más fuerte se ha hallado con el HLA-DQ2 y el 90% de los pacientes celíacos presentan al menos una copia del heterodímero HLA-DQ2.5 (formado por la combinación de los productos de los alelos DQA1*05 y DQB1*02, los cuales codifican las cadenas α y β del heterodímero, respectivamente). Por otro lado, un 20-30% de la población general no celíaca, también presenta esta variante del HLA-DQ2, dejando claro que, aun cuando es muy importante, no es suficiente para desarrollar la enfermedad. La mayor parte de los pacientes que no portan el genotipo HLA-DQ2, portan el HLA-DQ8 y por lo tanto, tienen al menos una copia del haplotipo que contiene los alelos DQA1*03:01 y DQB1*03:02⁵. Una pequeña proporción de los pacientes son negativos, tanto para el DQ2, como para el DQ8, pero se ha observado que, en estos pocos casos, los individuos presentan al menos uno de los dos alelos que codifican la molécula DQ2 (DQA1*05 o DQB1*02)^{6,7}.

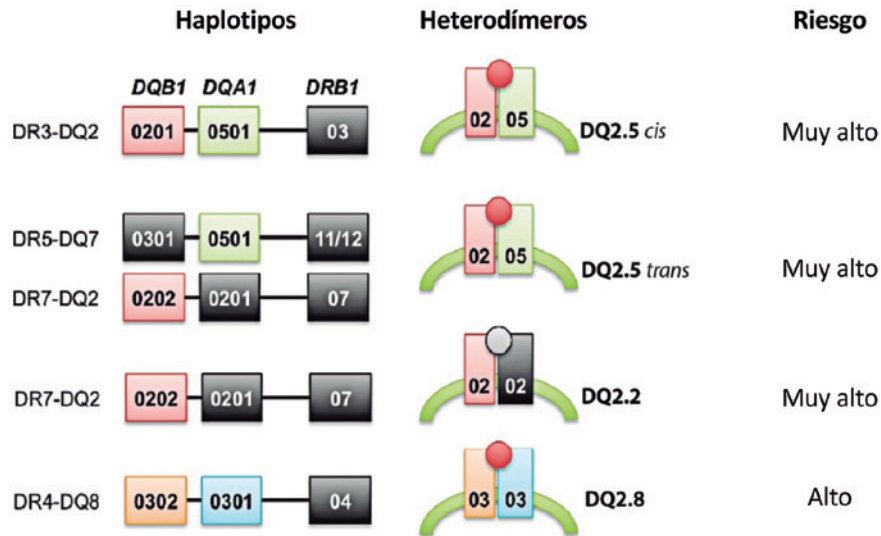


Figura 1. Asociación de la EC con el locus HLA. La molécula HLA-DQ2 es el principal factor que confiere el riesgo de EC. La mayor parte de los pacientes celíacos expresan el heterodímero HLA-DQ2.5, codificado por los alelos HLA-DQA1*05 (cadena α) y HLA-DQB1*02 (cadena β), cuya presencia se da en *cis*, en el haplotipo DR3-DQ2, o en *trans*, en los heterocigotas DR5-DQ7 y DR7-DQ2.2. El dímero HLA-DQ2.2, una variante del HLA-DQ2 codificado por los alelos HLA-DQA1*02:01 y HLA-DQB1*02:02, confiere un bajo riesgo de desarrollar la enfermedad. La mayor parte de los pacientes que son negativos para DQ2 expresan HLA-DQ8, codificado por el haplotipo DR4-DQ8⁸.

Las variantes HLA-DQ2 y DQ8 se hallan en desequilibrio de ligamiento con el DR3 y DR4, respectivamente. Así, a menudo se hace referencia a esas variantes de riesgo, como haplotipos DR3-DQ2 y DR4-DQ89. En varios haplotipos, como en el caso de DR3-DQ2, los dos alelos del heterodímero HLA-DQ2.5 (DQA1*05:01 y DQB1*0201) se hallan en el mismo cromosoma y, por lo tanto, codificados en *cis*. En los individuos heterocigotos portadores de haplotipos DR5-DQ7 y DR7-DQ2, las dos moléculas que participan en el heterodímero de riesgo están codificadas en *trans*, ya que se localizan en diferentes cromosomas. Las diferencias entre estos dos tipos de HLA-DQ2.5 dependen de un solo aminoácido de la cadena DQ α (DQA1*05:01 vs. DQA1*05:05) y de otro residuo de la región de la membrana de la cadena DQ β (DQB1*02:01 frente a DQB1*02:02), pero parecen no tener consecuencias funcionales y están asociadas con un riesgo de efecto muy similar. No obstante, el riesgo conferido por otra variante del HLA-DQ2, el dímero HLA-DQ2.2, es muy bajo^{1,10}.

También existe una relación entre el grado de susceptibilidad a la EC y el número de heterodímeros DQ2.5. Los individuos homocigotos con dos haplotipos DR3-DQ2, así como los pacientes heterocigotos que presentan DR3-DQ2/DR7-DQ2 expresan los niveles más altos de heterodímeros DQ2.5 y de ese modo, confieren el máximo riesgo genético de desarrollar EC¹¹⁻¹³. En este sentido, es preciso mencionar que los pacientes con EC refractaria (aquellos que no responden a la DSG) presentan un grado de homocigosidad más elevado para DR3-DQ2 (44-62%) que otros

pacientes celíacos (20-24%). También se ha sugerido un efecto similar dependiente de la dosis para las moléculas DQ8.

Aparte de los genes que codifican para moléculas DQ, la región HLA también contiene otros muchos genes que participan en la respuesta inmune y que podrían contribuir a la susceptibilidad de la EC. Varios estudios han postulado que los polimorfismos en genes tales como MICA, MICB o TNF, podrían contribuir al riesgo genético de desarrollar este trastorno. No obstante, la mayoría de estos trabajos no han puesto suficiente atención sobre el fuerte desequilibrio de ligamiento presente entre genes y sus resultados no son concluyentes. El secuenciado ampliado y el mapeo exhaustivo de la región ayudarán a determinar si ésta contiene factores de susceptibilidad aparte del HLA-DQ. A pesar de que los genes HLA presentan una importante contribución a la susceptibilidad genética, la concordancia de la enfermedad en hermanos con idéntico genotipo HLA solo llega al 30%, de modo que se puede concluir que los genes HLA son importantes pero no suficientes para desarrollar la EC¹⁰.

1.3. El Papel del HLA en la Patogenia de la EC

La fuerte asociación de los genes HLA de clase II con la EC se halla directamente ligada con el papel fundamental que desempeñan los linfocitos T CD4+ en la patogenia de la enfermedad. De hecho, las células CD4+ que son capaces de reconocer péptidos derivados del gluten se hallan presentes en la mucosa intestinal de los pacientes celíacos; pero no en el caso de individuos sanos no celíacos. Cuando individuos genéticamente susceptibles se exponen a ciertos epítomos derivados del gluten, estos son presentados por las moléculas HLA-DQ2/HLA-DQ8 en la superficie de las células presentadoras de antígeno (APC, por sus siglas en inglés), lo que estimula la proliferación de las células T CD4+ específicas para el gluten¹⁴.

Un hito importante en el fundamento molecular que subyace a la asociación entre HLA y EC fue el hallazgo de que la capacidad de ligamiento entre el HLA-DQ2 y/o DQ8 y los péptidos de gliadina, aumenta sustancialmente cuando los últimos han sido enzimáticamente modificados por la enzima transglutaminasa tisular tipo 2 (TG2). Esta enzima cataliza una reacción que provoca el aumento de las cargas negativas en los péptidos derivados del gluten, lo que favorece que ligen con ciertas moléculas HLA (DQ2 y DQ8) y de ese modo aumenten la presentación de estos péptidos del gluten a las células T CD4+.

Dada la importancia de las moléculas HLA en la activación de las células T auto-reactivas específicas contra el gluten, cualquier modificación en su secuencia de codificación provocará alteraciones en diferentes pasos de este proceso. De este modo, los polimorfismos en la secuencia que codifican los lugares que ligan el antígeno podrían afectar su afinidad, favoreciendo o dificultando el reconocimiento de los péptidos derivados del gluten¹⁵. Por otro lado, varios polimorfismos localizados en las regiones reguladoras pueden reprimir o potenciar la expresión de las moléculas HLA, reduciendo o aumentando la respuesta inmune al gluten.

2. Búsqueda de Genes de Susceptibilidad en la EC

Dado el hecho de que el HLA por sí solo puede explicar alrededor del 40% del componente genético de la EC, se han hecho grandes esfuerzos para localizar e identificar los genes de susceptibilidad no-HLA que podrían aclarar la compleja genética de este trastorno. Ha habido dos estrategias principales, usadas con esta finalidad ; por un lado, estudios de ligamiento en familias afectadas y por otro lado, estudios de asociación, basados en cribado de la población. Más recientemente, la EC también ha sido estudiada mediante Estudios de Asociación de todo el Genoma (GWAS, por sus siglas en inglés), en los cuales miles de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) han sido genotipados y analizados. Estos estudios nos han permitido identificar varios loci asociados pero serán necesarios estudios funcionales para confirmar la implicación de los genes candidatos.

2.1. Estudios de Ligamiento

Los Estudios de ligamiento en familias han permitido la identificación de las regiones cromosómicas que son repetida y consistentemente heredadas por los miembros afectados de una familia, a lo largo de varias generaciones. De este modo, es posible seleccionar y ubicar regiones potencialmente relevantes para el desarrollo de la enfermedad. Los genes localizados en estas regiones son considerados candidatos posicionales, debido a que su localización en el genoma les confiere su identidad como candidatos. En el caso de la EC, aparte de la región HLA (o CELIAC1), que es la señal replicada más consistentemente y la que muestra un mayor desequilibrio de ligamiento, tres regiones que contienen candidatos posicionales tales como un gran número de interleucinas, la familia SPINK, CD28, CTLA4, ICOS y MYO9B, han sido descritas en diferentes estudios de ligamiento (Figura 2). No obstante, aun cuando se han replicado consistentemente en varios estudios, las causas específicas de la asociación con la EC no han sido identificadas para estas regiones.

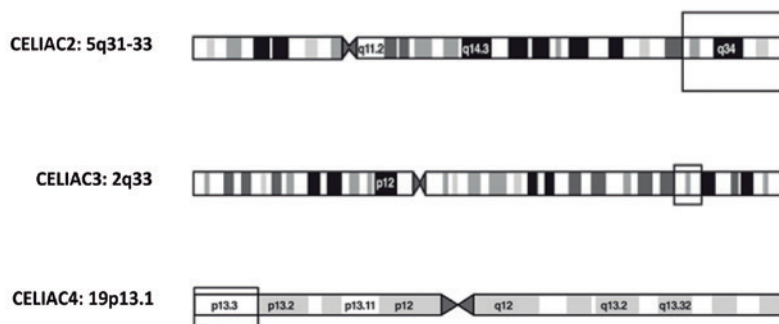


Figura 2. Regiones de ligamiento replicadas en diferentes familias afectadas por la EC¹⁶⁻¹⁸.

2.2. Genes Candidato Funcionales

La estrategia de genes candidato para los estudios de asociación genética se basan en la asociación entre la variación genética dentro de genes de interés previamente especificados y los fenotipos o estados de la enfermedad. Esto contrasta con los estudios tipo GWAS que sondean el genoma completo en busca de una variación genética común. Los genes candidatos son seleccionados basándose en un conocimiento “a priori” del impacto funcional biológico sobre la característica o la enfermedad bajo estudio. Esta estrategia ha sido usada comúnmente en estudios sobre enfermedades complejas, tales como la EC.

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios sobre genes candidato se ha centrado en la respuesta inmune, ya que generalmente se acepta que la EC es una enfermedad mediada por células T en la que los péptidos derivados de las gliadinas, ya sea en su forma nativa, o deamidados por la transglutaminasa, activan la lámina propia, dirigiendo la infiltración de los linfocitos T y conduciendo a respuestas inflamatorias del sistema adaptativo, tanto del tipo Th1, como del tipo Th17¹⁹. De este modo, tanto la citosina tipo IFN γ , mejor caracterizada por su respuesta TH1 (codificada por IFNG)²⁰ e IL23R, el receptor de la interleucina mejor conocida en la cascada Th17²¹⁻²³, han sido estudiadas entre muchas otras, sin encontrar una evidencia de fuerte asociación como conclusión.

Durante la última década, no obstante, se ha desarrollado un creciente interés sobre la posible implicación de la respuesta inmune innata, basándose en el hecho de que los péptidos de gliadina son también capaces de desencadenar una respuesta dependiente de células no-T, la cual podría establecer un ambiente proinflamatorio, necesario para la posterior activación de las células T y de la destrucción de tejido²⁴. Se han propuesto diferentes genes de la inmunidad innata y sus diferentes familias como candidatos putativos de susceptibilidad a la EC, tales como los mediadores inflamatorios IL1A, IL1B, IL1RN, IL18, RANTES y MCP1²⁵, la familia de receptores similares a la inmunoglobulina NK (KIR)²⁶, la familia de receptores Toll-like (TLR)^{27,28} y las moléculas de estrés MICA y MICB²⁹, pero, a pesar de que se sabe que existe una activación general del sistema inmune innato en la EC, ninguno de los candidatos propuestos ha presentado una fuerte asociación con la enfermedad.

Finalmente los participantes funcionales involucrados en el remodelado del epitelio intestinal y en el mantenimiento de la matriz extracelular, también han sido propuestas como genes de susceptibilidad candidato, pero no se ha confirmado asociación alguna para ninguno de ellos.

2.3. Asociación en todo el Genoma y Estudios sobre seguimiento en la EC

Se han identificado millones de SNPs, gracias a los proyectos de secuenciación del Genoma Humano. Algunos de estos SNPs han sido utilizados como marcadores genéticos en GWAS y permiten la identificación de miles de variantes de susceptibilidad para muchas enfermedades complejas. Los dos estudios GWAS llevados a cabo para la EC junto con varios estudios de seguimiento

revelaron un total de 26 regiones asociadas no-HLA³⁰⁻³². El proyecto a gran escala más reciente, llevado a cabo para identificar variantes asociadas con EC y otras enfermedades autoinmunes, es el “Proyecto InmunoChip”. En este estudio se identificaron 13 regiones asociadas con la EC por medio de un genotipado denso, de 186 loci de GWAS asociados a 12 enfermedades relacionadas con el sistema inmune³³.

Existe un total de 39 regiones no-HLA asociadas con la EC, que contienen 57 señales de asociación independientes. Diecinueve de dichas regiones presentan un solo gen candidato, pero solo existen 3 SNPs asociados con variantes que alteran proteínas, localizadas en las regiones exónicas, aunque algunos genes potencialmente causantes han sido propuestos, debido a la existencia de señales en sus regiones reguladoras 5' o 3' (Figura 3).

Aun cuando la mayoría de los SNPs se localizan en regiones intergénicas e intrónicas que no codifican proteínas, las variantes asociadas con EC parecen estar localizadas en loci de expresión de características cuantitativas o eQTLs, loci genómicos que regulan los niveles de expresión de los RNAs o proteínas. Cuando los eQTLs están mapeados en una localización genómica cercana al gen regulado se denominan cis-eQTLs que por el contrario, cuando el eQTL se halla mapeado lejos del gen, se denomina trans-eQTL. Después de realizar un meta-análisis de una serie de datos de eQTL de todo el genoma de 1.469 muestras de sangre humana que reflejaban la expresión en leucocitos, se determinaron 38 loci no-HLA asociados con EC en todo el genoma³². Se identificaron veinte eQTLs, más de lo que se puede esperar por casualidad, lo que indica que las regiones asociadas con la EC, están altamente enriquecidas para eQTLs. Estos datos parecen indicar que algunas variantes de riesgo podrían tener influencia en la susceptibilidad a la EC al alterar la expresión génica. No obstante, existe una cierta evidencia que indica que los cis-eQTLs difieren entre diferentes tejidos y pueden incluso tener efectos opuestos.

Este hecho resalta la importancia de llevar a cabo el análisis funcional de los genes candidato en tejido. Los ocho picos de asociación del primer GWAS de EC fueron replicados en una población española en 2011, identificando cuatro genes (IL12A, LPP, SCHIP1 y SH2B3) cuya expresión en la mucosa intestinal varió de acuerdo con el estado de la enfermedad y con el genotipo de la variante asociada³⁴. Los resultados de este estudio sugieren que estos genes pueden estar constitutivamente alterados en pacientes celíacos, probablemente antes de la manifestación de los síntomas observables de la enfermedad, y por lo tanto, podrían tener un papel primario en su patogenia.

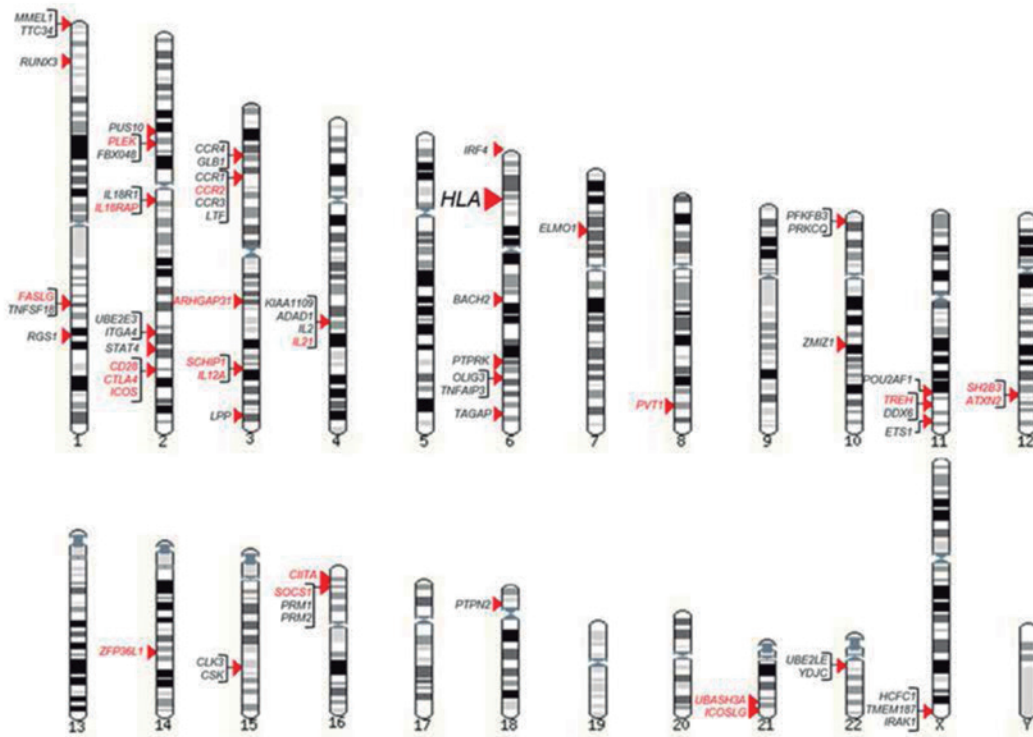


Figura 3. Regiones asociadas con la enfermedad celíaca y los genes candidato. Los genes resaltados en rojo mostraron expresión diferencial en análisis funcionales.

Un segundo estudio dió un paso más adelante e identificó dos genes (PTPRK y THEMIS) ubicados en la misma región asociada que estaban co-expresados, tanto en la enfermedad activa como en su respuesta a la estimulación in vitro de biopsias intestinales de pacientes celíacos con enfermedad inactiva por la gliadina del gluten. Estos pacientes habían estado siguiendo una dieta sin gluten durante al menos dos años³⁵. Por lo tanto, parece que las variantes asociadas con esta región afectan la expresión de genes diferentes, pero solamente en presencia de un estímulo tóxico que dispara la respuesta inmune. Las implicaciones de este hallazgo son de gran importancia, ya que resaltan la existencia de mecanismos reguladores comunes para diferentes genes en la secuencia de ADN, que solo tienen efecto en presencia de un estímulo inmunogénico que provoca la enfermedad.

Para intentar explicar el modelo de herencia de las enfermedades complejas recientemente se ha postulado una novedosa hipótesis denominada la “la variante inusual de la asociación sintética de todo el genoma” basada en la suposición de que variantes causales inusuales no observadas conducen a la asociación que ha sido detectada en variantes de etiqueta comunes. No obstante, un trabajo reciente en el que se realizó el secuenciado y genotipado para exones codificantes de 25 genes de riesgo GWAS en 4.911 residentes en el Reino Unido de origen europeo y raza blanca (con seguimiento en 24.892 sujetos con seis enfermedades autoinmunes) ha puesto de manifiesto que

variantes poco habituales de regiones codificantes en loci conocidos tienen un papel muy escaso en la susceptibilidad para desarrollar enfermedades autoinmunes comunes, incluyendo la EC³⁶.

Una estrategia diferente fue llevada a cabo para realizar un mapeo detallado del locus LPP, en la búsqueda de posibles variables funcionales. Esta estrategia reveló 6 SNPs que se solapan con sitios reguladores, con un posible efecto de rs4686484 en la expresión del gen LPP en pacientes³⁷.

Casi todas las regiones asociadas contienen genes con una función inmunológica, muchas de las cuales actúan en las mismas vías biológicas. El desarrollo de las células T en el timo, una vía previamente no explorada en la patogenia de la EC, es una de dichas vías. Un estudio llevado a cabo por Amundsen y cols. tuvo como finalidad la de explorar el potencial regulador de los SNPs asociados con EC, mediante análisis de eQTL en el tejido del timo³⁸. Hallaron 43 eQTLs nominalmente significativos ($p < 0.05$) dentro de 24 regiones cromosómicas asociadas con EC, que corresponden a 27 SNPs capaces de alterar la expresión y 39 genes únicos. Al compararlos a lo largo de diferentes tejidos, hallaron que 14 eQTLs podrían representar eQTLs específicos del timo, potencialmente novedosos. Ello implica que los polimorfismos de riesgo de la EC podrían afectar la regulación génica en el timo.

Dada la diversidad de tipos de células y la especialización de funciones dentro del sistema inmune, Xinli Hu y cols. estudiaron las características genéticas y celulares de las células T de memoria, efectoras CD4+ (CD4+)TEM, las cuales son particularmente importantes en el desarrollo de la EC³⁹. Purificaron células T CD4+ de una cohorte de individuos sanos e hicieron análisis de SNPs en todo el genoma. Hallaron que los niveles de expresión de 46 genes estaban regulados por SNPs cercanos, incluyendo SNPs asociados con enfermedades. Muchos de estos eQTLs no habían sido previamente observados en estudios realizados con células de sangre periférica más heterogéneas; no obstante, se ha podido demostrar que los alelos de enfermedad confieren riesgo modulando la expresión génica en este tipo celular particular.

El último estudio publicado en este campo trató de analizar la implicación funcional de 45 genes candidato que no fueron analizados en estudios previos⁴⁰ (Figura 3). Se analizó la expresión de estos genes en el tejido enfermo de pacientes celíacos en el momento del diagnóstico y después del tratamiento, y se comparó con controles no celíacos. El efecto del genotipo SNP sobre la expresión de los genes también fue investigado y se realizaron análisis de coexpresión. Varios genes mostraron expresión diferencial entre grupos de enfermedades, la mayoría de ellas relacionadas con la respuesta inmune. Se hallaron múltiples trans-eQTL, pero solamente 4 cis- y, sorprendentemente, el efecto del genotipo parece depender del estímulo ya que difiere entre grupos. Los niveles de coexpresión varían de niveles más elevados a menores, en pacientes activos en el momento del diagnóstico, en pacientes bajo tratamiento y en controles no celíacos, respectivamente. Se identificó un subgrupo de 18 genes fuertemente correlacionados en ambos grupos de pacientes, pero no en controles. Este subgrupo de genes fue influenciado por el genotipo de 3 SNPs. Estos resultados sugieren fuertemente que los efectos de los SNPs asociados con la enfermedad trascienden la idea simplificada del control transcripcional en un locus vecino.

En conclusión, estudios recientes ponen de manifiesto la necesidad de desarrollar estudios funcionales y la importancia de evitar una selección arbitraria de genes candidatos de susceptibilidad. Además, revelan la extensa labor que queda por hacer para poder identificar los elementos que subyacen al complejo sistema regulatorio del genoma. Al mismo tiempo abren la puerta a futuros estudios, en los que la comunidad científica tendrá que analizar exhaustivamente las variantes estructurales del genoma, las características epigenéticas y el vasto genoma no codificante, con el fin de iluminar la compleja genética los trastornos comunes y comprender el efecto de variantes asociadas a las enfermedades.

3. Nuevas Estrategias para Desentrañar la Genética de la EC

Se ha llevado a cabo un único estudio sobre Variación en el Número de Copias (CNV, por sus siglas en inglés) en la EC. En este estudio se analizaron TLR2, TLR4 y el grupo de β -defensinas (DEFB4, DEFB103 y DEFB104) mediante PCR específica para genes en tiempo real, en 376 pacientes con EC y 376 controles⁴¹. Los genes TLR no mostraron CNV y todas las muestras presentaron dos copias. Los grupos de β -defensinas mostraron entre 2 y 9 copias por genoma y cuando fueron agrupados, los números de copias altos (>4) fueron infrarrepresentados en pacientes, lo que sugiere que los números de copias elevados podrían proteger contra la EC, posiblemente impidiendo la infiltración bacteriana más eficientemente y preservando la integridad del epitelio intestinal.

Por otro lado, los análisis de expresión de todo el genoma han sido utilizados consistentemente para trazar mapas de las alteraciones funcionales más frecuentes en diferentes enfermedades complejas. A veces estas estrategias también han sido usadas para identificar variantes asociadas que podrían explicar diferentes situaciones patológicas. En el caso de la EC, en 2008 Castellanos-Rubio y cols. diseñaron una estrategia que combinaba el perfilado de expresión de genes de muestras de biopsias intestinales, la información de regiones de ligamiento y diferentes herramientas de bioinformática, para la selección de polimorfismos de un solo nucleótido con potencial regulador⁴². Entre otros resultados, hallaron evidencia de asociación con varios SNPs e identificaron SERPINE2 en 2q33, y PBX3 o PPP6C en 9q34, como participantes potenciales en el desarrollo de la enfermedad.

De acuerdo con los resultados del estudio ENCODE, se sabe que una fracción sustancial de las variantes genéticas que contribuyen a las características complejas están involucradas en la regulación génica⁴³. La mayoría de las variantes asociadas con fenotipos descubiertas mediante estudios GWAS se hallan lejos de las regiones codificadoras de proteínas e incluso, aparecen en desiertos génicos⁴⁴. Esta distribución es similar a la presentada por la mayoría de los módulos reguladores cis, tales como promotores y potenciadores (*enhancers*) y se espera que muchas variantes asociadas con características complejas podrían afectar la expresión génica. Es más, virtualmente cualquier secuencia no codificante en el genoma humano podría ser un elemento potencialmente regulador⁴⁵, actuando lejos de su locación genómica y alterando globalmente las vías y rutas de señalización. De este modo, debería evitarse la selección excesivamente simplista y arbitraria de genes candidato y deberían implementarse estrategias de Biología de Sistemas para hallar las re-

laciones y los mecanismos reguladores comunes que coordinan a los genes que interactúan para generar el fenotipo celíaco.

En este sentido, en un microarray de expresión de todo el genoma, realizado hace ya varios años, se pudo confirmar que algunas vías de señalización se hallaban alteradas en la EC, tales como las vías Jak-Stat, NFκB, MAPK o TGFβ⁴⁶. Algunos de los genes que participan en estas rutas han sido estudiados para determinar si contienen variantes asociadas con la EC. Uno de estos genes es el STAT1, cuya expresión se altera en la enfermedad. No obstante, no se han hallado SNPs asociados⁴⁷. NFκB1 también ha sido estudiado, pero aunque se halla constitutivamente activo en la mucosa intestinal de los pacientes con EC, no parece contener alteración genética alguna que pudiera explicar su sobreexpresión. Se ha sugerido que los efectos patogénicos asignados a este factor de transcripción, podrían estar causados por un defecto en la regulación y que variantes o alteraciones en genes en dirección 5', es decir comienzo del gen del NFκB que podrían desencadenar la actividad transcripcional potenciada que se ha observado en la EC. Se ha especulado que dos de los genes identificados en un estudio de seguimiento posterior de un GWAS (REL y TNFAIP3) podrían participar en la desregulación de esta vía biológica⁴⁸. Un SNP regulador en el gen UBD, que se halla involucrado en la activación de NFκB, ha sido asociado con la EC en la población de España. Este gen está sobreexpresado en la enfermedad celíaca y la distribución alélica de su polimorfismo asociado presenta una correlación significativa con los niveles de expresión⁴⁹.

En este contexto, un estudio reciente que trató de normalizar la expresión alterada de la vía NFκB *in vitro*, utilizando un inhibidor de la paracaspasa MALT1, descubrió una fuerte coexpresión entre genes de la vía en la mucosa del intestino sano, mientras que las biopsias intestinales de pacientes con EC activa presentaron una vía completamente desregulada (Figura 4)⁵⁰. Este trastorno de la coexpresión persistió en pacientes inactivos y con tratamiento, especialmente después de una estimulación aguda con gliadina *in vitro*, y pudo ser revertido a un patrón regulado, similar al visto en controles, mediante la inhibición de MALT1. Estos resultados sugieren fuertemente que los mecanismos reguladores desconocidos que se hallan detrás de la fuerte coexpresión de la vía NFκB observada en la mucosa de intestino no inflamado podrían ser los afectados por las probables alteraciones genéticas y epigenéticas, más que los genes individuales que participan en la cascada de activación.



Figura 4. Matrices de coexpresión de pares de genes para los diferentes estados de enfermedad. Cada cuadrado pequeño representa el valor de p para la correlación del nivel de expresión entre un par de genes específicos. Los colores blanco, gris claro, gris oscuro y negro, indican valores de correlación de Pearson con valores de $p > 0.05$, < 0.05 , < 0.01 y < 0.001 , respectivamente⁵⁰.

Otro análisis de rutas metabólicas recientes incluye el estudio sobre los genes cuya expresión previamente se había demostrado que estaba alterada en la enfermedad celíaca y que compartían términos GO de “angiogénesis”⁵¹. Se demostró que un polimorfismo regulador que se mapea a TNFSF13 se halla asociado con la EC; asimismo se descubrió que varios genes anti-angiogénicos, tales como TGM2 y PML se hallan estimulados, mientras que algunos genes pro-angiogénicos se hallaban notablemente inhibidos. Otros estudios han confirmado la participación de los genes de las uniones fuertes intercelulares relacionados con la permeabilidad, polaridad y proliferación celular, en la destrucción epitelial observada en la EC⁵². Los patrones de coexpresión de varios genes de la vía de las uniones fuertes, apoyan la idea de un mecanismo regulador común, el cual parece estar alterado en la EC activa. En general, la normalización mediante la DSG confirma la reversibilidad del proceso, excepto por la regulación inhibitoria constitutiva de PPP2R3A, sugestiva de una implicación genética.

4. Pasos Preliminares para la Epigenética de la EC

Por el momento, solo se han llevado a cabo unos pocos intentos de desentrañar el panorama epigenético de la EC. No obstante, ya que es conocido que la variación genética y epigenética junto con los factores ambientales dan forma a la expresión y ya que se postula que los patrones de metilación podrían subyacer a la vasta complejidad de los trastornos comunes, es probable que los estudios epigenéticos aumenten en los próximos años.

El primer análisis de expresión de miRNA en la EC fue llevado a cabo en el 2011 por Capuano y cols. En este estudio, analizaron la expresión de un gran grupo de moléculas miRNA y encontraron que casi el 20% se hallaban diferencialmente expresadas cuando los pacientes celíacos eran comparados con controles⁵³. Por otra parte, descubrieron que los niveles elevados de miR-449a hacían diana en y reducían la señalización NOTCH1 y sugirieron que la vía NOTCH, podría estar constitutivamente alterada en el intestino delgado celíaco debido a la sobre-expresión de este miRNA y por lo tanto, podría impulsar la proliferación incrementada y la diferenciación disminuida de las células hacia el linaje de células caliciformes secretoras.

Por otro lado, la metilación del ADN ha sido estudiada también dentro del contexto de la EC. Se

sabe que la metilación de las citosinas, habitualmente en los dinucleótidos CpG, se halla involucrada en la regulación epigenética de la expresión génica. La metilación de promotores se asocia típicamente con la represión, mientras que la metilación génica se correlaciona con la actividad transcripcional. Recientemente se ha descubierto que el 96% de los CpG presentan metilación diferencial en al menos, un tipo de célula o tejido analizado y que los niveles de metilación de ADN se correlacionan con la accesibilidad de la cromatina⁴³. Además la inflamación crónica ha sido ligada con diversas alteraciones a nivel de metilación. Por lo tanto, el nivel de metilación fue medido en varios genes relacionados con NFκB en la mucosa celíaca, tanto activa, como inactiva y en comparación con el tejido control, no inflamado⁵⁰. Sorprendentemente, en las biopsias celíacas activas se hallaron pequeñas diferencias de metilación parcialmente reversibles pero de todos modos significativas y las muestras de enfermedad mostraron correlaciones entre los niveles de metilación de diferentes genes (co-metilaciones). Estas relaciones parecían, de alguna manera, perturbar los patrones de coexpresión observados en controles sanos, en esos mismos genes.

El proyecto ENCODE también ha sido capaz de hallar CpGs con metilación específica para alelos, consistentes con la impronta genómica y ha determinado que estos loci presentan una metilación aberrante en las líneas celulares de cáncer. Muy recientemente, Hutchinson y colaboradores postularon que el fenómeno de la metilación específica de alelos puede subyacer a los efectos fenotípicos de variantes múltiples, identificados por GWAS⁵⁴. Mostraron que muchas de las variantes de metilación específica de alelos cis-regulada son también eQTLs en las células mononucleares y monocitos de la sangre periférica y/o en alto desequilibrio de ligamiento, con variantes asociadas con enfermedades complejas. Finalmente descubrieron que entre otros, el SNP asociado con EC rs2762051 se asoció con una de tales variantes de metilación, abriendo la puerta a un novedosa manera de relacionar la variación epigenética no codificante, con los resultados derivados de estudios del GWAS.

Referencias

1. Sollid LM, Thorsby E. *HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. Gastroenterology.* 1993; 105: 910-22. Erratum in: *Gastroenterology.* 1994; 106: 1133.
PMid:8359659
2. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M et al. *The first large population based twin study of coeliac disease. Gut.* 2002; 50: 624-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.5.624>
PMid:11950806 PMCID:PMC1773191
3. Horton R, Wilming L, Rand, V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK et al. *Gene map of the extended human MHC. Nat Rev Genet.* 2004; 5: 889-99.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrg1489>
PMid:15573121
4. Ludwig H, Polymenidis Z, Granditsch G, Wick G. *Association of HL-A1 and HL-A8 with childhood celiac disease. Z Immunitatsforsch Exp Klin Immunol.* 1973; 146: 158-67.
PMid:4282973
5. Mäki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet.* 1997; 349: 1755-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)70237-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(96)70237-4)
6. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot H, Clot F et al. *HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. Hum Immunol.* 2003; 64: 469-77.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00027-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00027-2)
7. Spurkland A, Sollid LM, Polanco I, Vartdal F, Thorsby E. *HLA-DR and -DQ genotypes of celiac disease patients serologically typed to be non-DR3 or non- DR5/7. Hum Immunol.* 1992; 35: 188-92.
[http://dx.doi.org/10.1016/0198-8859\(92\)90104-U](http://dx.doi.org/10.1016/0198-8859(92)90104-U)
8. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. *Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. Ann Rev Immunol.* 2011; 29: 493-525.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-040210-092915>
PMid:21219178
9. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med.* 1989; 169: 345-50.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.169.1.345>
PMid:2909659
10. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2: 647-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
PMid:12209133

11. van Belzen MJ, Koeleman BP, Crusius JB, Meijer JW, Bardoel AF, Pearson PL et al. *Defining the contribution of the HLA region to cis DQ2-positive coeliac disease patients.* Genes Immun. 2004; 5: 215-20.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364061>
PMid:15014431

12. Ploski R, Ek J, Thorsby E, Sollid LM. *On the HLA-DQ(alpha 1*0501, beta 1*0201)-associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1*0201.* Tissue Antigens. 1993; 41: 173-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.1993.tb01998.x>
PMid:8362409

13. Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O et al. *Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1*0501,beta 1*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients.* J Exp Med. 1993; 178: 187-96.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.178.1.187>
PMid:8315377

14. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. *Celiac disease: From pathogenesis to novel therapies.* Gastroenterology. 2009; 137: 1912-33.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.008>
PMid:19766641

15. Hovhannisyanyan Z, Weiss A, Martin A, Wiesner M, Tollefsen S, Yoshida K et al. *The role of HLA-DQ8 beta57 polymorphism in the anti-gluten T-cell response in coeliac disease.* Nature. 2008; 456: 534-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature07524>
PMid:19037317 PMCID:PMC3784325

16. Greco L, Corazza G, Babron MC, Clot F, Fulchignoni-Lataud MC, Percopo S et al. *Genome search in celiac disease.* Am J Hum Genet. 1998; 62: 669-75.
<http://dx.doi.org/10.1086/301754>
PMid:9497251 PMCID:PMC1376948

17. Holopainen P, Nalwai AT, Moodie S et al. *Candidate gene region 2q33 in European families with coeliac disease.* Tissue Antigens. 2004; 63: 212-22.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00189.x>
PMid:14989710

18. van Belzen MJ, Meijer JW, Sandkuijl LA et al. *A major non-HLA locus in celiac disease maps to chromosome 19.* Gastroenterology. 2003; 125: 1032-41.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01205-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01205-8)

19. Castellanos-Rubio A, Santin I, Irastorza I, Castano L, Carlos Vitoria J, Ramon Bilbao J. *TH17 (and TH1) signatures of intestinal biopsies of CD patients in response to gliadin.* Autoimmunity. 2009; 42: 69-73.
<http://dx.doi.org/10.1080/08916930802350789>
PMid:19127457

20. Wapenaar MC, van Belzen MJ, Fransen JH, Sarasqueta AF, Houwen RH, Meijer JW et al. *The interferon gamma gene in celiac disease: augmented expression correlates with tissue damage but no evidence for genetic susceptibility*. J Autoimmun. 2004; 23: 183-90.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2004.05.004>
PMid:15324937
21. Weersma RK, Zhernakova A, Nolte IM et al. *ATG16L1 and IL23R are associated with inflammatory bowel diseases but not with celiac disease in the Netherlands*. Am J Gastroenterol. 2008; 103: 621-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01660.x>
PMid:18047540
22. Einarsdottir E, Koskinen LL, Dukes E, Kainu K, Suomela S, Lappalainen M et al. *IL23R in the Swedish, Finnish, Hungarian and Italian populations: association with IBD and psoriasis, and linkage to celiac disease*. BMC Med Genet. 2009; 10: 8.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-10-8>
PMid:19175939 PMCID:PMC2642807
23. Medrano LM, García-Magariños M, Dema B, Espino L, Maluenda C et al. *Th17- related genes and celiac disease susceptibility*. PLoS One. 2012; 7: e31244.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0031244>
PMid:22359581 PMCID:PMC3281077
24. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S et al. *Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease*. Lancet. 2003; 362: 30-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2)
25. Rueda B, Zhernakova A, López-Nevot MA, Martín J, Koeleman BPC. *Association study of functional genetic variants of innate immunity related genes in celiac disease*. BMC Med Genet. 2005; 6: 29.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-6-29>
PMid:16078996 PMCID:PMC1190178
26. Santin I, Castellanos-Rubio A, Perez de Nanclares G. *Association of KIR2DL5B gene with celiac disease supports the susceptibility locus on 19q13.4*. Genes Immun. 2007; 8: 171-6.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364367>
PMid:17215859 100
27. Dezsofi A, Szebeni B, Hermann CS, Kapitany A, Veres G, Sipka S et al. *Frequencies of genetic polymorphisms of TLR4 and CD14 and of HLA-DQ genotypes in children with celiac disease, type 1 diabetes mellitus, or both*. J. Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008; 47: 283-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31816de885>
PMid:18728522
28. Santin I, Castellanos-Rubio A, Hualde I, Castaño L, Vitoria JC, Bilbao JR. *Toollike receptor 4 (TLR4) gene polymorphisms in celiac disease*. Tissue Antigens. 2007; 70: 495-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2007.00945.x>
PMid:17927684

29. Martín-Pagola A, Perez-Nanclares G, Ortiz L et al. *MICA response to gliadin in intestinal mucosa from celiac patients*. Immunogenetics. 2004; 56: 549-54.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-004-0724-8>
PMid:15490153
30. Van Heel DA, Franke L, Hunt KA, Gwilliam R, Zhernakova A, Inouye M et al. *A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21*. Nat Genet. 2007; 39: 827-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/ng2058>
PMid:17558408 PMCID:PMC2274985
31. Hunt KA, Zhernakova A, Turner G, Heap GAR, Franke L, Bruinenberg M et al. *Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response*. Nat Genet. 2008; 40: 395-402.
<http://dx.doi.org/10.1038/ng.102>
PMid:18311140 PMCID:PMC2673512
32. Dubois PCA, Trynka G, Franke L, Hunt KA, Romanos J, Curtotti A et al. *Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression*. Nat Genet. 2010; 42: 295-302.
<http://dx.doi.org/10.1038/ng.543>
PMid:20190752 PMCID:PMC2847618
33. Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, Romanos J, Mistry V, Szperl A et al. *Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease*. Nat Genet. 2011; 43: 1193-201.
<http://dx.doi.org/10.1038/ng.998>
PMid:22057235 PMCID:PMC3242065
34. Plaza-Izurieta L, Castellanos-Rubio A, Irastorza I, Fernandez-Jimenez N, Gutierrez G, CEGEC, Bilbao JR. *Revisiting genome wide association studies (GWAS) in coeliac disease: replication study in Spanish population and expression analysis of candidate genes*. J Med Genet. 2011; 48: 493-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2011.089714>
PMid:214903
35. Bondar C, Plaza-Izurieta L, Fernandez-Jimenez N, Irastorza I, Withoff S, Wijmenga C et al. *THEMIS and PTPRK in celiac intestinal mucosa: coexpression in disease and after in vitro gliadin challenge*. Eur J Hum Genet. 2014; 22: 358-62.
36. Hunt KA, Mistry V, Bockett NA, Ahmad T, Ban M, Barker JN et al. *Negligible impact of rare autoimmune-locus coding-region variants on missing heritability*. Nature. 2013; 498:232-5.
37. Almeida RC, Ricaño-Ponce I, Kumar V, Deelen P, Szperl A, Trynka G et al. *Fine mapping of the celiac disease-associated LPP locus reveals a potential functional variant*. Hum Mol Genet. 2014; 24:2481-9.
<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddt619>
PMid:24334606 PMCID:PMC3976328

38. Amundsen SS, Viken MK, Sollid LM, Lie BA. *Coeliac disease-associated polymorphisms influence thymic gene expression*. Genes Immun. 2014; 15:355- 60.
<http://dx.doi.org/10.1038/gene.2014.26>
PMid:24871462
39. Hu X, Kim H, Raj T, Brennan PJ, Trynka G, Teslovich N et al. *Regulation of gene expression in autoimmune disease loci and the genetic basis of proliferation in CD4+ effector memory T cells*. PloS Genet. 2014; 10(6), e1004404.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1004404>
PMid:24968232 PMCID:PMC4072514
40. Plaza-Izurietta L, Fernandez-Jimenez N, Irastorza I, Jauregi-Miguel A, Romero- Garmendia I et al. *Expression analysis in intestinal mucosa reveals complex relations among genes under the association peaks in celiac disease*. Eur J Hum Genet. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2014.244>
PMCID:PMC3925264
41. Fernandez-Jimenez N, Castellanos-Rubio A, Plaza-Izurietta L, Gutierrez G, Castaño L, Vitoria JC, Bilbao JR. *Analysis of beta-defensin and Toll-like receptor gene copy number variation in celiac disease*. Hum Immunol. 2010; 71: 833-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2010.05.012>
PMid:20483368
42. Castellanos-Rubio A, Martin-Pagola A, Santín I, Hualde I, Aransay AM, Castaño L, Vitoria JC, Bilbao JR. *Combined functional and positional gene information for the identification of susceptibility variants in celiac disease*. Gastroenterology. 2008; 134: 738-46.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.11.041>
PMid:18241860
43. ENCODE Project Consortium et al. *An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome*. Nature. 2012; 489: 57-74.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature11247>
PMid:22955616 PMCID:PMC3439153
44. Hardison RC. *Genome-wide epigenetic data facilitate understanding of disease susceptibility association studies*. J Biol Chem. 2012; 287: 30932-40.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.R112.352427>
PMid:22952232 PMCID:PMC3438926
45. Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS et al. *Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits*. Proc Natl Acad Sci USA. 2009; 106: 9362-7.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0903103106>
PMid:19474294 PMCID:PMC2687147

46. Castellanos-Rubio A, Santin I, Martín-Pagola A, Irastorza I, Castaño L, Vitoria JC et al. *Long-term and acute effects of gliadin on small intestine of patients on potentially pathogenic networks in celiac disease*. *Autoimmunity*. 2010; 43: 131-9.
<http://dx.doi.org/10.109/08916930903225229>
PMid:19814655
47. Diosdado B, Monsuur AJ, Mearin ML et al. *The downstream modulator of interferon-gamma, STAT1 is not genetically associated to the Dutch coeliac disease population*. *Eur J Hum Genet*. 2006; 14: 1120-4.
<http://dx.do.org/10.1038/sj.ejhg.5201667>
PMid:16773129
48. Trynka G, Zhernakova A, Romanos J, Franke L, Hunt KA, Turner G, Bruinenberg M et al. *Celiac disease-associated risk variants in TNFAIP3 and REL implicate altered NF-kappaB signalling*. *Gut*. 2009; 58: 1078-83.
<http://dx.oj.org/10.1136/gut.2008.169052>
PMid:19240061
49. Castellanos-Rubio A et al. *A regulatory single nucleotide polymorphism in the ubiquitin D gene associated with celiac disease*. *Hum Immunol*. 2010; 71: 96-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2009.09.359>
PMid:19808075
50. Fernandez-Jimenez N, Castellanos-Rubio A, Plaza-Izurietia L et al. *Coregulation and modulation of NFkB-related genes in celiac disease: uncovered aspects of gut mucosal inflammation*. *Hum Mol Genet*. 2014; 23: 1298-310.
<http://dx.oj.org/10.1093/hmg/ddt520>
PMid:24163129 PMCID:PMC3919015
51. Castellanos-Rubio A, Caja S, Irastorza I et al. *Angiogenesis-related gene expression analysis in celiac disease*. *Autoimmunity*. 2012; 45: 264-70.
<http://dx.doi.org/10.3109/08916934.2011.637531>
PMid:22136669
52. Jauregi-Miguel A, Fernandez-Jimenez N, Irastorza I, Plaza-Izurietia L, Vitoria JC, Bilbao JR. *Alteration of tight junction gene expression in celiac disease*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 58: 762-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/mpg.0000000000000338>
53. Capuano M, Iaffaldano L, Tinto N, Montanaro D, Capobianco V et al. *MicroRNA-449a overexpression, reduced NOTCH1 signals and scarce goblet cells characterize the small intestine of celiac patients*. *PLoS One*. 2011; 6: e29094.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0029094>
PMid:22194996 PMCID:PMC3240641
54. Hutchinson JN, Raj T, Fagerness J, Stahl E et al. *Allele-specific methylation occurs at genetic variants associated with complex disease*. *PLoS One*. 2014; 9: e98464.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098464>
PMid:24911414 PMCID:PMC4049588

CAPÍTULO 2

MECANISMOS DE LA TOLERANCIA INTESTINAL A LAS PROTEÍNAS DE LA DIETA.

David Bernardo¹, Stella C. Knight²

¹Unidad de Gastroenterología. Hospital Universitario de la Princesa e Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-IP), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD) Madrid, España.

²Antigen Presentation Research Group, Colegio Imperial de Londres, Northwick Park y Campus de St. Mark, Hospital Mark's, Harrow, Reino Unido.

d.bernardo.ordiz@gmail.com s.knight@imperial.ac.uk

Cómo citar este capítulo:

Bernardo D, Knight SC. *Mecanismos de la Tolerancia Intestinal a las Proteínas de la Dieta*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La tolerancia oral se define como la carencia de una respuesta inmune sistémica contra antígenos previamente administrados a través del tracto gastrointestinal. Por lo tanto, en un ambiente rico en antígenos, como es el intestino, la tolerancia oral evita el desarrollo de respuestas inmunes contra los antígenos de la comida y la microbiota comensal, que mantiene la homeostasis en condiciones de salud. No obstante, bajo ciertas circunstancias, el sistema inmune no es capaz de controlar y/o mantener la tolerancia inmune, lo que desencadena una respuesta inmune anormal contra los antígenos comensales, como sucede en las enfermedades inflamatorias intestinales, o bien frente a los antígenos alimentarios, tal y como es evidente en la enfermedad celíaca. En este capítulo, discutiremos las propiedades únicas del sistema inmune en el tracto gastrointestinal y estudiaremos cómo las células dendríticas, las células presentadoras de antígeno más potentes, controlan los mecanismos de la homeostasis en el intestino.

Palabras clave

Células dendríticas, tolerancia, intestino, inmunidad.

1. Características de la Mucosa Intestinal

La mucosa de tracto gastrointestinal (TGI) es la más extensa del cuerpo humano, esta tiene un área de 100 m² (200 veces mayor que la de la superficie de la piel). Consiste de una monocapa de células epiteliales, especializadas en la absorción de agua y nutrientes, a la par que representa una barrera física contra el ambiente externo.

Las células epiteliales intestinales (CEI) constituyen la frontera entre el ambiente externo, rico en antígenos (el TGI contiene, en su compartimento inferior o distal, un total de 1012 bacterias por cada gramo de tejido humano¹) y el sistema inmune localizado en la lámina propia subyacente, el cual comprende el tejido conectivo situado entre la capa epitelial apical y la muscularis mucosae interna. Además de la barrera epitelial, algunas CEI, como las células caliciformes, segregan diversas mucinas que constituyen la capa mucosa localizada sobre la membrana apical de las CEI. Esta capa mucosa contiene una alta concentración de defensinas anti-microbianas, neutrófilos e IgA secretora, que ayudan a mantener la homeostasis inmune en el TGI^{2,3}.

A pesar de que las CEI no son células inmunes, su papel en la homeostasis del TGI y la enfermedad no puede ser ignorado, ya que algunas patologías presentan un aumento en la permeabilidad del epitelio intestinal, debido a que las uniones fuertes inter-celulares, o uniones estrechas (tight junction), están defectuosas o presentan “huecos”. El filtrado de antígenos alimenticios y de la microbiota a través de las CEI, tiene lugar en algunas formas de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), como la enfermedad de Crohn. La exposición de la mucosa a los antígenos lumenales, es la base etiopatogénica más probable de la sensibilidad a los antígenos alimentarios, en la enfermedad de Crohn; las respuestas a éstos solo pueden ser provocadas por un estímulo vía la mucosa intestinal, pero no a través de la piel⁴. Los pacientes con enfermedad celíaca (EC) también presentan un aumento de la permeabilidad del epitelio intestinal, lo que permite el paso de los antígenos del contenido luminal, incluyendo el gluten, que pasa hacia la lámina propia (LP). La composición de la capa mucosa y de la microbiota también se hallan alteradas en pacientes con EC^{5,6}. No obstante, queda por determinar si las propiedades alteradas del compartimento CEI y la microbiota son la causa o la consecuencia de la enfermedad.

2. El Sistema Inmune en el Tracto Gastrointestinal

Las células dendríticas (CD) y los macrófagos (Mφ), son las principales células presentadoras de antígenos en el TGI cuyos cambios en lo referido a su cantidad, fenotipo y función en diversas enfermedades del TGI, incluyendo la EC¹²⁻¹⁵ ya han sido descritos. No obstante, las CD y los Mφ poseen diferentes funciones. Las CD son las células presentadoras de antígenos (CPA) más potentes. Son únicas en su capacidad de migrar a los nódulos linfáticos para efectuar la presentación de antígenos siendo además las únicas células capaces de presentar antígenos a las células T nativas (*naive*)¹⁶. Las CD por lo tanto, controlan los mecanismos de inmunidad/tolerancia en el TGI, manteniendo la tolerancia inmune contra los antígenos inocuos (derivados principalmente de la

dieta y los comensales) al mismo tiempo que mantienen la capacidad de activar las respuestas inmunes activas, frente a patógenos invasores¹⁷. Los Mφ, por el contrario, no migran a los nódulos linfáticos y no pueden llevar a cabo la presentación de antígenos a las células T naive. No obstante, los Mφ proporcionan una primera línea de defensa fagocítica, frente a los diversos antígenos invasores¹⁸ aunque también modulan las respuestas de las células T efectoras en los tejidos. Ayudan, además, a mantener la tolerancia intestinal al reducir la inflamación local²¹ y contribuyen a la renovación de las células epiteliales²². Las funciones diferenciales en los sitios de inducción y efectoras, influyen también en el resultado de las respuestas inmunes en el TGI, lo que permite establecer los mecanismos reguladores necesarios para mantener las propiedades del sistema inmune de la mucosa²³. Los diferentes compartimientos del sistema inmune del TGI pueden ser clasificados, de acuerdo con su función y localización en i) muestreo; ii) inducción; y iii) áreas efectoras.

2.1. Áreas de Muestreo

Las áreas de muestreo del sistema inmune del TGI son aquellas donde los antígenos son captados por las CD²⁴ (Figura 1).

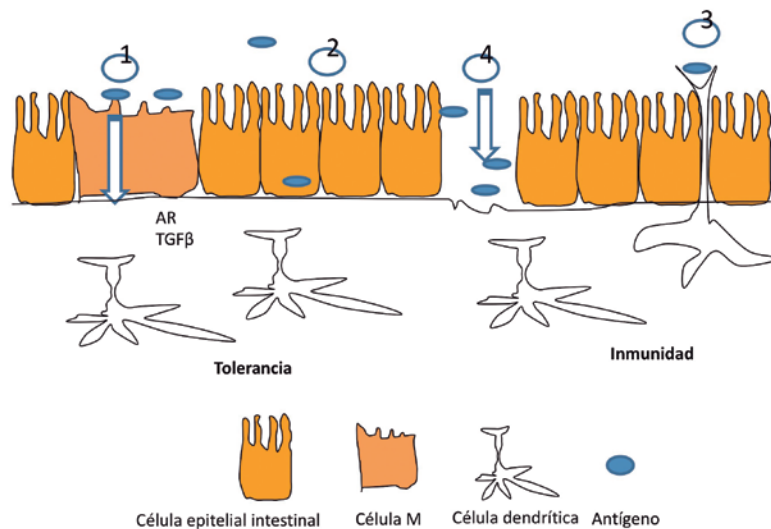


Figura 1. Captación de antígenos por células dendríticas. Las CD pueden captar antígenos vía (1) Células M, presentes en las placas de Peyer (2) Tolerosomas, derivados de las células epiteliales intestinales, (3) Al enviar sus velos o dendritas entre las células epiteliales y realizar una toma directa o (4) Después de la ruptura de la integridad epitelial. Mientras que los dos primeros mecanismos promueven la tolerancia inmune, los dos últimos están relacionados con el desarrollo de respuestas inmunes activas.

2.1.1. Transferencia de Antígenos vía las Células M en las Placas de Peyer

Las placas de Peyer (PP) son órganos linfoepiteliales, localizados principalmente en la submucosa del intestino delgado. Las PP están cubiertas, en su superficie externa y apical, por un subgrupo de CEI especializadas, llamadas células M, Microfold (“Micropliegue”). Estas células M están especializadas en la transferencia de antígenos particulados desde la luz del TGI hacia el tejido subyacente en la cúpula de las PP. Este es un compartimento rico en CD, lo que les permitió así captar los antígenos.

2.1.2. Muestreo Indirecto vía Enterocitos

En contraste con el compartimento subyacente al domo de las PP, donde las CD son enriquecidas las CD y otras CPA tales como los $M\phi$, estas también se hallan dispersas a través de toda la lámina propia del TGI, donde constituyen una red de células en contacto íntimo con la membrana basal de las CEI. Para mantener la integridad epitelial del TGI, las CEI pueden captar el contenido luminal y segregar antígenos sobre la membrana basolateral, liberando vesículas en la lámina propia donde serán absorbidas por las CD. Estas vesículas han sido denominadas como “tolerosomas” ya que promueven el desarrollo de respuestas tolerogénicas, vía LP-CD^{25,26}. No obstante, las CD también pueden obtener acceso indirecto a los antígenos lumbinales después de la fagocitosis de las CEI apoptóticas aunque, en dicho caso, éstas promoverían respuestas inmunes activas frente a los antígenos extraños²⁴.

2.1.3. Toma Directa por parte de las CD

Las CD de la LP que expresan CX3CR1 pueden extender sus velos o dendritas entre las CEI al mismo tiempo que establecen las uniones estrechas para mantener la integridad de la barrera epitelial²⁵ y, de este modo, obtener un acceso directo a los antígenos lumbinales. No obstante, la evidencia reciente ha redefinido dichas células CX3CR1+ como un subgrupo de los $M\phi$ tolerogénicos residentes en los tejidos^{20,28}.

2.1.4. Acceso Directo Posterior a la Ruptura Epitelial

Cuando se compromete la integridad epitelial, debido a un incremento de la permeabilidad transepitelial y/o por la apoptosis de las CEI, (como se inducen en la EC por medio de IL-15, como se discute en otros capítulos), el contenido luminal tendrá acceso directo a las CD de la LP, las cuales iniciarán una respuesta inmune frente a los patógenos invasores, o en caso de enfermedad, contra los antígenos alimentarios o de la microbiota²⁴. El incremento de la permeabilidad epitelial ha sido asociado con varias enfermedades del TGI, incluyendo la EC.

2.2. Áreas de Inducción

Después de la captación de antígenos por parte de las CD, las áreas de inducción se localizan en los compartimientos donde las CD presentan antígenos a las células T naive. En el TGI las áreas de inducción están compuestas por tejidos linfoides organizados (incluyendo las PP, como se describió previamente, el apéndice y algunos nódulos linfáticos) y los nódulos linfáticos mesentéricos que drenan el intestino. Durante la presentación de antígenos, las CD no solamente generarán células T específicas frente a los antígenos, sino que además, controlarán su diferenciación en células proinflamatorias y/o tolerogénicas.

2.3. Áreas Efectoras

Posterior a la estimulación de las células T, los linfocitos efectores específicos para antígenos migrarán de regreso al TGI, para llevar a cabo su función en las áreas efectoras del compartimiento epitelial y/o en la LP.

2.3.1. Linfocitos Intraepiteliales

Los linfocitos intraepiteliales (LIE) constituyen un grupo heterogéneo de células T situadas en la membrana basal del epitelio, intercaladas con los enterocitos. En contraste con las células inmunes en la LP y los tejidos inmunes no mucosos, los LIE constituyen una mezcla única de linfocitos. En condiciones de reposo, en controles sanos, los LIE humanos constituyen alrededor de 20-40 células por cada 100 enterocitos en el íleon, donde son más frecuentes. Se caracterizan por la expresión de la integrina CD103 y la mayor parte de ellos (70-90%) presentan un perfil CD3+CD4-CD8+ citotóxico con TCR $\alpha\beta$. A pesar de que los linfocitos TCR $\gamma\delta$ no clásicos no son frecuentes en otros compartimientos, estos representan hasta el 30% del total de LIE en el TGI, tejido donde se hallan principalmente. Finalmente, el compartimiento LIE comprende un tercer tipo de células CD45+CD3-CD7+ similares a las NK^{29,30}.

2.3.2. Lámina Propia

La LP contiene un grupo de células inmunes además de fibroblastos, células musculares lisas, células linfáticas y sanguíneas. Aunque no es un tejido linfoide organizado, la LP del TGI contiene el mayor número de células inmunes del cuerpo humano (principalmente células efectoras B y T, así como CD y M ϕ).

2.3.2.1. Células B e IgA

Diferentes tipos de células B producen diferentes inmunoglobulinas (Ig). Las IgM/IgG están involucradas en las respuestas sistémicas de anticuerpos y la IgE media las reacciones alérgicas; el principal componente de las respuestas de anticuerpos en el TGI es la IgA. Por lo tanto, la IgA es la principal inmunoglobulina presente en los compartimientos de la mucosa secretando el cuerpo

humano más de 3g/día. La Ig-A promueve una exclusión no agresiva de los patógenos, limitando su acceso a las CEI. Se acumula en la capa mucosa, la cual también es rica en otras moléculas inmunes, como defensinas y bacteriocinas, amplificando notablemente su función protectora, formando la primera barrera inmune del TGI^{3,32}.

2.3.2.2. Células T

Además de realizar la presentación antigénica, las CD determinan el perfil (proinflamatorio/tolerogénico) que las células T específicas adquieren frente a cada antígeno presentado. En ambos casos, las células T migrarán desde los nódulos linfáticos hacia la LP en la que, como sitio efector, llevarán a cabo su función (ya sea pro-inflamatoria o reguladora).

El papel que desempeñan los linfocitos pro-inflamatorios en el TGI, ha sido ampliamente descrito en varias patologías intestinales, incluyendo la EC. La producción de citocinas pro-inflamatorias, por parte de las células T, constituye la integridad de la barrera epitelial y también se relaciona con las modificaciones estructurales de la matriz extracelular^{32,33}. La producción de citocinas pro-inflamatorias promueve una retroalimentación positiva auto- y paracrina para la producción de quimiocinas y otras citocinas pro-inflamatorias, lo que exacerba la respuesta inmune y los daños al tejido. La generación de células T pro-inflamatorias específicas para el gluten, tras la presentación antigénica por parte de las CD es la causa, en última instancia, de la patogenia de la EC.

Las células T reguladoras, son linfocitos CD4+ caracterizados por la expresión de altos niveles de CD25, en los que la actividad es controlada por la expresión del factor de transcripción FoxP3. En contraste con las células T pro-inflamatorias, las células T reguladoras controlan la homeostasis inmune. Algunas células T reguladoras producen grandes cantidades de citocinas reguladoras (principalmente IL-10). Como consecuencia, las células T reguladoras bloquean la proliferación de células T pro-inflamatorias, inhiben la producción y cooperan con células B locales para incrementar su producción de IgA³⁴. No obstante, las propiedades de las células T son dinámicas³⁵⁻³⁷, de modo que discriminarlas en células T pro-inflamatorias y reguladoras podría ser una sobresimplificación, generada por la densidad celular y/o su inhibición por contacto celular³⁸.

En resumen, el sistema inmune en el TGI promueve la tolerancia inmune contra antígenos que encuentran vía CD-TGI, derivados principalmente de comensales y alimentos. Estos últimos promueven la generación de células B que segregan Ig-A para antígenos específicos y células T reguladoras que en su conjunto, mantienen la homeostasis inmune. No obstante, en algunas patologías como la EC, las CD se “confunden” y no reconocen el gluten como un antígeno dietético inocuo. Cuando eso ocurre, las CD promueven el desarrollo de células T pro-inflamatorias específicas del gluten, que favorecen el progreso de la enfermedad. En las siguientes secciones, discutiremos las propiedades de las CD-TGI y trataremos de aclarar algunas de las causas que podrían provocar su disfunción en la EC.

3. Biología de las Células Dendríticas

Las CD son las CPA más potentes que existen. En contraste con otras CPA, tales como los linfocitos B (excluyendo las células B ya activadas) o M ϕ , las CD son únicas en su capacidad de iniciar una respuesta inmune primaria, al estimular células T naive; también controlan el resultado (tolerogénico o pro-inflamatorio) de las respuestas inmunes^{13,39-41}.

Las precursoras de las CD migran desde la médula ósea hacia virtualmente todos los tejidos del cuerpo, incluyendo la mucosa del TGI. Una vez que se hallan en los tejidos, las CD se convierten en centinelas y sensores del sistema inmune. Las CD son centinelas ya que son altamente efectivas al capturar y procesar antígenos^{42,43} y por lo tanto, en analizar el ambiente circundante. Las CD son también sensores, no sólo por su capacidad de discriminar la naturaleza (dañina/inocua) de la muestra de los antígenos por medio de su alta expresión de moléculas receptoras de reconocimiento de patrones (RRP) [incluyendo los receptores toll-like (TLRs)⁴⁴⁻⁴⁶] sino también debido a su capacidad de activarse en presencia de un estrés inmune innato (por ejemplo, citocinas pro-inflamatorias o un estrés oxidativo)^{47,48}. Por lo tanto, las CD ocupan la interfase entre el sistema inmune innato y el adaptativo, altamente especializado y dirigido frente a antígenos específicos.

Cuando las CD captan un “antígeno peligroso”, reconocido vía sus RRP y/o siguiendo la maduración inducida vía respuesta inmune innata, las CD de los tejidos, pierden su elevada capacidad de procesar antígenos y migran a los órganos linfoides secundarios, en un modo dependiente de CCR7^{49,50} a través de un proceso de maduración que promoverá su capacidad de presentar los antígenos a las células T. Dentro de los nódulos linfáticos, las CD maduras presentarán tres señales diferentes a las células T naive, las cuales controlarán su diferenciación en células T pro-inflamatorias, dirigidas frente a antígenos específicos. Dichas señales incluyen i) Expresión incrementada de antígenos procesados en la superficie de moléculas HLA-II; ii) Expresión aumentada de las moléculas coestimuladoras CD80(B7.1)/CD86(B7.2) (ligandos de célula T CD28/CTLA4) y/o CD40 (ligando de célula T CD40L); y iii) Capacidad incrementada de producir citocinas pro-inflamatorias, como la IL-12⁵¹⁻⁵². Por lo tanto, las CD maduras de los nódulos linfáticos han perdido su capacidad de capturar antígenos, pero son eficientes en la presentación de antígenos y en la estimulación de linfocitos que controlan su diferenciación en células T efectoras específicas para antígenos (pro-inflamatorias). No obstante, las CD pueden también impulsar el desarrollo de linfocitos no inflamatorios, (tolerogénicos o reguladores) si, en el momento de la presentación de antígeno, presentan una expresión reducida de las dos primeras señales, junto con una capacidad aumentada de producir citocinas reguladoras, como IL-10. De este modo, las CD controlan el desarrollo de respuestas pro-inflamatorias contra antígenos dañinos ajenos al mismo tiempo que mantienen la tolerancia inmune frente a los antígenos inocuos.

3.1. Células Dendríticas y Marcadores de Migración: Conectando Áreas de Inducción y Efectoras

Las células B y T específicas para antígenos, expresan marcadores dirigidos que controlan su mi-

gración hacia los tejidos diana, donde se encuentra el antígeno. Los linfocitos que migran de regreso al TGI expresan en su superficie, la integrina $\alpha 4\beta 7^{53}$ y/o el receptor de quimiocinas CCR9⁵⁴. El ligando para el heterodímero $\alpha 4\beta 7$ es la molécula MAdCAM-1, que se expresa por las células endoteliales de las vénulas post-capilares de la LP, tanto en el intestino grueso como en el delgado^{55,56}. Por el contrario, el ligando para CCR9 es la quimiocina CCL25/TECK expresada por las células epiteliales del intestino delgado^{57,58}. Existe un gradiente de expresión que es máximo a nivel proximal del intestino delgado y disminuye gradualmente hasta el íleon, resultando indetectable en el colon⁵⁹. Por lo tanto, mientras los linfocitos $\alpha 4\beta 7+$ presentan un tropismo mucoso general, los que coexpresan CCR9+, están dirigidos específicamente hacia el intestino delgado, como las células T pro-inflamatorias específicas contra el gluten en la EC.

La expresión de células T con tales marcadores dirigidos está controlada por las CD. Por lo tanto, las CD no solamente controlan el resultado (proinflamatorio/tolerogénico) de las respuestas inmunes, sino también la localización de dicha respuesta por medio de la impresión de marcadores sobre linfocitos dirigidos contra antígenos específicos⁶⁰. Previo a la estimulación, las células T naive presentan marcadores de migración, que las conducen a los tejidos linfoides⁶¹. Las CD que entran a los distintos tejidos desde la sangre ganan especificidad inducida por su tejido de residencia. Particularmente después de exponerse a los antígenos, las CD de los tejidos migrarán a los nódulos linfáticos que drenan y proporcionarán una cuarta señal a las células T al inducir la expresión de marcadores diana o migración, en los linfocitos que responden⁶²⁻⁶⁵. Por lo tanto, los linfocitos que responden frente a los antígenos específicos son redirigidos hacia los tejidos diana, donde se encuentran con los antígenos. De esta forma, las respuestas inmunes son efectuadas de un modo compartimentalizado y específico para cada tejido. Los mecanismos a través de los cuales las CD inducen expresión de marcadores dirigidos específicos de tejidos en las células T, siguen siendo evasivos, pero parecen involucrar, entre otros componentes, ciertas vitaminas liposolubles, como las vitaminas A y D. La molécula 25-OHD (generada en la piel después de la activación de la vitamina D, dependiente de la luz ultravioleta) induce la expresión de marcadores dirigidos a la piel en las CD y por lo tanto, en las células T que estimulan a estas últimas⁶⁶. El ácido retinoico (AR), que es un metabolito de la vitamina A de la dieta, induce la expresión de los marcadores $\alpha 4\beta 7$ y/o CCR9 en las CD, lo que estimula a las células T con propiedades similares^{62,65,67,68}. Las CD del TGI, pero no las de otros tejidos, poseen la maquinaria enzimática necesaria para sintetizar AR⁶⁹⁻⁷¹, mecanismo por medio del que las CD del TGI obtienen especificidad intestinal que controlará entonces la migración de linfocitos dirigidos frente a antígenos específicos de regreso a los compartimientos efectores del TGI^{62,65,68}. Las CD también expresan marcadores dirigidos específicos para tejidos que varían de acuerdo con su localización⁶⁵. Las CD mieloides circulantes en los pacientes con EC (tanto los que no fueron tratados al momento del diagnóstico, como los que están en remisión clínica después de seguir una dieta sin gluten) presentan una expresión alterada de marcadores de migración, con una elevada expresión de CCR9⁷², lo que sugiere un incremento en la capacidad migratoria del intestino delgado, que podría estar correlacionada con una mayor infiltración de las CD en los tejidos diana¹². No obstante, se desconocen los mecanismos que producen cambios en la capacidad de direccionalidad de las CD circulantes, ya que generalmente se acepta que las CD normalmente mueren dentro de los nódulos linfáticos y no recirculan⁷³.

4. Células Dendríticas y Tolerancia Oral

El binomio CD-TGI se halla expuesto a una gran cantidad de antígenos extraños pero inocuos, principalmente derivados de las bacterias comensales y alimentos. Por lo tanto, en contraste con las CD de otros tejidos, las CD del TGI promueven la tolerancia inmune contra estos antígenos⁷⁴⁻⁷⁶.

La menor capacidad inmunogénica de las CD intestinales, se relaciona con varios factores. Uno de ellos es que las CD-TGI presentan una menor expresión de RRP, incluyendo moléculas TLR⁷⁷, que les confiere una menor capacidad de reconocer antígenos bacterianos, en un ambiente tan rico en microbiota. Además de la reducción en la expresión de TLRs, las CD-TGI también presentan un fenotipo inmaduro al compararlas con las de otros tejidos; presentan una menor expresión de moléculas HLA-II y moléculas coestimuladoras de superficie, capacidad fagocítica incrementada y mayor capacidad de producir citocinas reguladoras como la IL-10⁷⁷⁻⁷⁹. Este perfil tolerogénico, confiere a las CD-TGI una capacidad estimuladora reducida, al compararlo con las CD de otros tejidos⁶⁵, que es fundamental en la prevención de procesos inflamatorios, en ausencia de patógenos invasores. Además de su capacidad estimuladora reducida, las CD-TGI también promueven la diferenciación, tanto de células T con propiedades reguladoras frente a antígenos específicos, como de células B productoras de IgA que median en su conjunto la tolerancia inmune del TGI⁸⁰⁻⁸⁴. Finalmente, pero no por ello menos importante, las CD-TGI también dejan su impronta sobre los marcadores dirigidos al intestino ($\alpha 4\beta 7$ y/o CCR9) tanto sobre células B secretoras de Ig-A, como sobre las células T reguladoras^{81,85}, de modo que el tráfico de ambas poblaciones reguladoras se restringe al compartimiento gastrointestinal. Las propiedades tolerogénicas de las CD-TGI dependen del AR, esencial para la tolerancia inmune intestinal; solamente las CD intestinales (pero no las CD de otros tejidos) poseen la maquinaria enzimática necesaria para convertir la vitamina A en AR⁶⁹⁻⁷¹ y por lo tanto, para generar las células T reguladoras dirigidas a intestino así como las células B productoras de IgA^{81, 85-89}. No obstante, el TGI también mantiene la capacidad de iniciar una respuesta inmune activa frente a patógenos invasores. Dada esta plasticidad para mantener la tolerancia inmune frente a alimentos y comensales, al mismo tiempo que se disparan respuestas inmunes activas contra patógenos invasores, se ha sugerido recientemente que el TGI contiene diferentes subgrupos de CD, cada uno de los cuales es responsable de los diferentes resultados de las respuestas inmunes, como se discute en la próxima sección.

4.1. Subgrupos de las CD en el TGI

Originalmente, las CD intestinales fueron clasificadas en dos subgrupos mutuamente excluyentes: CDs tolerogénicas (CD103+) y proinflamatorias (CX3CR1+) las cuales, respectivamente, controlan la tolerancia inmune contra alimentos y comensales o bien inician respuestas inmunes contra patógenos invasores⁹⁰⁻⁹². Las CD tolerogénicas CD103+ se derivan de las CD recién llegadas, tienen la capacidad de migrar a los nódulos linfáticos de manera dependiente de CCR7 y poseen la maquinaria (la enzima RALDH2) necesaria para metabolizar la vitamina A y generar AR que modula varias propiedades de las CD-TGI. Por el contrario, las CD CX3CR1+ se derivan de los

monocitos recién llegados y carecen, tanto de la maquinaria enzimática para sintetizar AR como de la capacidad de migrar a los nódulos linfáticos; estas iniciarían un efecto pro-inflamatorio frente a los patógenos invasores.

4.1.1. Las CPA CX3CR1+

Las CD CX3CR1+ fueron originalmente identificadas como el subgrupo de CD-TGI con capacidad de enviar células dendríticas a través de las CEI, estableciendo uniones estrechas con éstas y accediendo a los antígenos luminales²⁰. A pesar de que fueron originalmente definidas como CD, las CPA CX3CR1+ han sido redefinidas como M ϕ ^{20,28,93}. Su papel proinflamatorio también ha sido revisitado, dada su capacidad de expandir las células T con propiedades reguladoras, en un modo dependiente de la IL-10^{20,94}. Adicionalmente, los M ϕ CX3CR1+ también contribuyen a la homeostasis inmune, dada su capacidad de extender proyecciones entre las CEI y migrar hacia la luz intestinal en presencia de una infección al mismo tiempo que se cargan con antígenos bacterianos, limitando de esa manera su acceso a la LP^{18,95}.

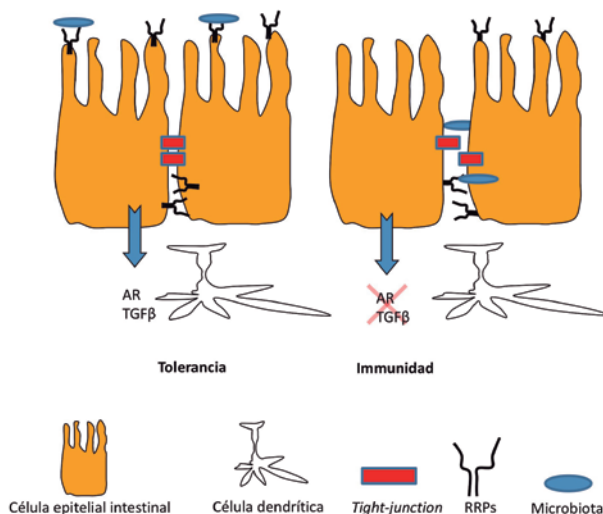
4.1.2. Las CD CD103+

Las CD CD103+ pueden migrar a los nódulos linfáticos de un modo dependiente de CCR7. Dentro de ellas, el subgrupo que coexpresa CD11b+ (el análogo murino de la CD1c humana, que identifica las CD mieloides CD1c+) es el único en el intestino que controla la tolerancia inmune, principalmente vía la retin-aldehído-dehidrogenasa tipo 2 (RALDH-2), requerida para generar el ácido retinoico, que regula varias propiedades de las CD-TGI^{28,96,97}.

Las CD CD103+ se hallan reducidas en el duodeno de pacientes con EC¹⁴, lo que sugiere que se relacionan con la falta de tolerancia oral contra el gluten de la dieta en dichos pacientes. No obstante, la mayor parte de nuestro conocimiento sobre el subgrupo de las CD CD103+ del TGI, proviene de modelos murinos, que aunque son esenciales para promover nuestra comprensión de la biología de las CD, no siempre pueden validarse en el contexto humano^{93,98}. Por lo tanto, aunque una mayoría de las CD-TGI en humanos presentan un perfil regulador^{65,77,78,99}, éste, sin embargo, no se encuentra restringido a la población CD103+. Además, las CD CD103+ no son el principal subgrupo de CD en el TGI humano^{14,93,100}, mientras que la expresión de RALDH2 no se restringe a este subgrupo ya que también se halla en las CD CD103-, e inclusive en M ϕ 100. La evidencia reciente sugiere por tanto que el sistema es más dinámico que lo descrito originalmente. Las respuestas Th17 pro-inflamatorias también pueden ser generadas por las CD CD103+CD11b+ “tolerogénicas”, mientras que las CD CD103- también pueden generar AR y migrar hacia los nódulos linfáticos¹⁰¹. Finalmente, pero no por ello menos importante, los subgrupos y funciones de las CD, también dependen de la variedad de ratón y localización del TGI¹⁰² demostrándose así la gran plasticidad de las CD-TGI.

A pesar de que los diferentes subgrupos de CD pueden coexistir en el TGI, parece que la distinción

entre estos diferentes subgrupos de CD con diferentes funciones puede ser una sobresimplificación. Las propiedades de las CD son dinámicas y dependen del microambiente en el que se hallan ya que las CD adquieren marcadores de migración específicos para tejidos y la capacidad de imprimirlos sobre los linfocitos a los que estimulan^{62,65,68,104}. No obstante, el microambiente tisular no solamente modula la expresión de los marcadores dirigidos de las CD, sino también su estado de madurez, ya que los factores inmunes inducen la maduración de las CD. En ausencia de inflamación, las CD-TGI adquieren un perfil regulador después de ser expuestas a varias señales “sedantes”, principalmente segregadas por las CEI¹⁰⁵⁻¹⁰⁸, incluyendo la linfopoyetina estromal tímica (TSLP), citocinas reguladoras como el TGF- β y la IL-10 así como el AR^{65,81,107,108} (figura 2). En un ambiente sedante como éste y en ausencia de estímulos inmunes externos, las CD-TGI adquieren así un fenotipo inmaduro, caracterizado por una expresión reducida de los RRP, así como moléculas HLA-Clase II, moléculas coestimuladoras, junto con una mayor capacidad de segregar citocinas reguladoras. Dada su capacidad de metabolizar vitamina A y generar AR, las CD-TGI en un ambiente tolerogénico de este tipo generarán células T dirigidas al intestino contra antígenos específicos, con una función reguladora, así como células B que productoras de IgA, que a su vez, promoverán y mantendrán los mecanismos de tolerancia inmune frente a los antígenos dietarios y comensales.



Izquierda: En condiciones de reposo, en controles sanos, las células epiteliales intestinales (CEI) reconocen los antígenos de la microbiota en su membrana apical, vía los receptores de reconocimiento de patrones (RRP). Al ocurrir ésto, las CEI segregan TGF- β y ácido retinoico (AR), modulando de ese modo las células dendríticas de la lámina propia hacia un fenotipo tolerogénico.

Derecha: En presencia de bacterias invasoras, la integridad de las uniones estrechas se ve comprometida y los patógenos obtienen acceso siendo reconocidos por los RRP localizados en la membrana

basolateral de las CEI. En este contexto, las CEI bloquean las señales inhibitoras y por tanto la modulación de las CD hacia la tolerancia.

El sistema inmune intestinal es no obstante, dinámico. En presencia de señales de peligro, su perfil regulador desaparece, ya que las CEI dejan de segregar señales “sedantes”. Ello se debe parcialmente a que las CEI pueden reconocer la presencia de bacterias invasoras. Las CEI están programadas para segregar TGF- β y AR, cuando reconocen bacterias en su membrana apical por medio de sus RRP; no obstante, en presencia de bacterias invasoras, la integridad de las uniones estrechas se ve afectada, de modo que los patógenos acceden a la membrana basolateral de las CEI^{109,112}. En este escenario las CEI bloquean la secreción de señales inhibitoras y por tanto la modulación de las CD hacia la tolerancia. Además, la presencia de una respuesta inmune innata frente a bacterias invasoras, promueve la secreción de citocinas pro-inflamatorias diferentes y/o de especies reactivas de oxígeno, con capacidad de inducir maduración de las CD^{47,48}. Bajo tales condiciones, las CD reconocen antígenos capturados como patógenos invasores, bloqueando la tolerancia inmune e iniciando respuestas inmunes activas (Figura 2). Esta capacidad de las CD para responder rápida y eficientemente a su microambiente, les concede la capacidad de controlar el sistema inmune y el balance entre inmunidad y tolerancia. No obstante, el sistema no es perfecto y los factores que alteran el balance pueden conducir a un mal funcionamiento de las CD, como sucede en el caso de la EC.

5. Células Dendríticas en la Enfermedad Celíaca

Las CD mantienen la homeostasis inmune en el TGI, mientras que en la EC, disparan una respuesta inmune frente a los antígenos específicos contra el gluten de la dieta. Las CD expresan moléculas HLA-DQ2/8 (los genes principales de susceptibilidad en la EC), un tipo de molécula HLA-II única, en su capacidad de albergar antígenos del gluten y efectuar la presentación de antígenos. No obstante, siguen siendo desconocidas las razones por las que el gluten es reconocido como un antígeno dañino por las CD. Se ha descrito en algunas patologías como la EII, una expresión incrementada de moléculas TLR en las CD-TGI, así como un incremento en la señalización MyD88^{77,113}. Aunque las CD-TGI no han sido extensamente estudiadas en la EC, la expresión del RRP tisular se halla alterada en la mucosa celíaca^{10,114,115}. Los antígenos del gluten son reconocidos de un modo MyD88-dependiente^{116,117}, de modo que no puede descartarse un papel potencial de los RRP, en el reconocimiento del gluten en la EC.

No obstante, se ha sugerido que las CD no reconocen directamente al gluten como antígeno dañino, sino solamente como una consecuencia de una respuesta inmune innata disparada en el TGI. Como se discute en otros capítulos de este libro, los antígenos del gluten poseen un efecto dual sobre la mucosa de pacientes de EC ya que desencadena una respuesta inmune innata seguida de una respuesta secundaria de tipo adaptativa contra antígenos específicos. La segunda respuesta es disparada por las CD que como se comentó previamente, no pueden reconocer el gluten como un antígeno de la dieta inocuo. La razón para la “confusión” de las CD podría ser una consecuencia

de la primera respuesta inmune, innata y no específica. Esta respuesta innata¹¹⁸ se caracteriza por la producción de IL-15 por parte de las CEI, dependiente de NF- κ B, posterior al reconocimiento del gluten^{119,120}. La IL-15 tiene un efecto directo al trastocar la barrera epitelial incrementando la permeabilidad de las uniones estrechas^{121,122} e inducir apoptosis de CEI^{123,126}. Bajo tal estrés inmunológico, las CEI cesan de segregar señales sedantes (Figura 2). La IL-15 también posee la capacidad de activar directamente las CD, las cuáles maduran hacia un fenotipo pro-inflamatorio (Figura 3). La producción de IL-15, por parte de las CEI inducida por el gluten, es central para los primeros pasos de la patogenia de la EC; también genera efectos coadyuvantes en los que el AR aumenta las respuestas inflamatorias frente a antígenos de la dieta¹²⁷. Por lo tanto, los antígenos del gluten muestreados por las CD son reconocidos como dañinos y las CD promueven la diferenciación de células T pro-inflamatorias dirigidas al intestino, específicas contra el gluten; una vez de regreso en el tejido efector (lámina propia) estas células T promoverán el desarrollo y progresión de la enfermedad. Las CD, son por lo tanto, responsables de la incapacidad de los pacientes con EC de establecer una tolerancia inmune frente a proteínas del gluten; en lugar de ello, causan el desarrollo de una respuesta inmune contra antígenos específicos.

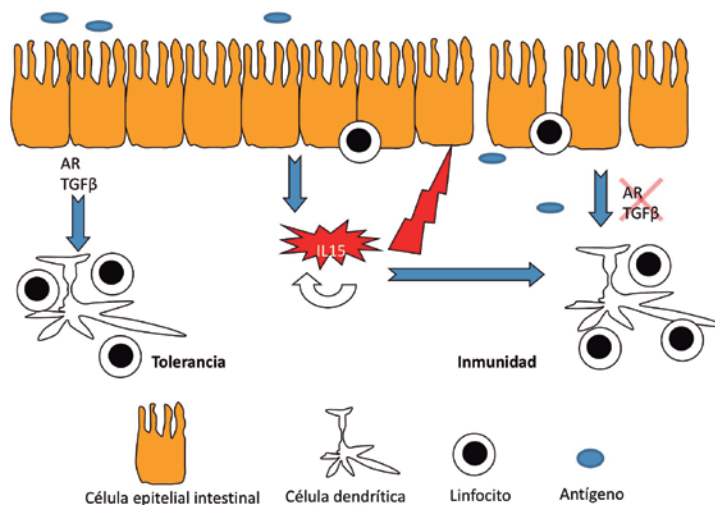


Figura 3. Las células dendríticas y la enfermedad celíaca. En condiciones de reposo, en controles sanos, las células epiteliales intestinales (CEI) segregar señales sedantes, incluyendo TGF- β y ácido retinoico (AR), que modulan las células dendríticas (CD) de la lámina propia hacia un fenotipo tolerogénico. En la enfermedad celíaca, los antígenos del gluten de la dieta inducen una respuesta inmune innata caracterizada por producción de IL-15 por las CEI. La IL-15 pro-inflamatoria aumenta la permeabilidad de las uniones estrechas e induce apoptosis de las CEI. En un ambiente con este nivel de estrés, las CEI cesan de segregar señales sedantes y por lo tanto, de modular las CD hacia la tolerancia. Las citocinas pro-inflamatorias como la IL-15, también tienen un efecto directo

de maduración sobre las CD. Como consecuencia, los antígenos del gluten que alcanzan la lámina propia son ahora reconocidos como nocivos, por lo que las CD inician el desarrollo de una respuesta inmune contra antígenos específicos, de ahí el desarrollo de la patogenicidad de la enfermedad celíaca.

Referencias

1. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. *How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine*. Annu Rev Nutr. 2002; 22: 83-307.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.011602.092259>
PMid:12055347
2. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. *Interactions between the microbiota and the immune system*. Science. 2012; 336: 1268-73.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1223490>
PMid:22674334
3. Shan M, Gentile M, Yeiser JR, Walland AC, Bornstein VU, Chen K et al. *Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals*. Science. 2013; 342: 447-53.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1237910>
PMid:24072822 PMCID:PMC4005805
4. Van Den Bogaerde J, Cahill J, Emmanuel AV, Vaizey CJ, Talbot IC, Knight SC et al. *Gut mucosal response to food antigens in Crohn's disease*. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 1903-15.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2036.2002.01360.x>
PMid:12390099
5. Ciacci C, Di Vizio D, Seth R, Insabato G, Mazzacca G, Podolsky DK et al. *Selective reduction of intestinal trefoil factor in untreated coeliac disease*. Clin Exp Immunol. 2002; 130: 526-31.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.02011.x>
PMid:12452845 PMCID:PMC1906543
6. 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.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04157.x>
PMid:15128357
7. 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.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-8-50>
PMid:18983674 PMCID:PMC2615025
8. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease*. J Clin Pathol. 2009; 62: 264-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2008.061366>
PMid:18996905

9. Nistal E, Caminero A, Herrán AR, Arias L, Vivas S, de Morales JM et al. *Differences of small intestinal bacteria populations in adults and children with/without celiac disease: effect of age, gluten diet, and disease.* *Inflamm Bowel Dis.* 2012; 18: 649-56.
<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21830>
PMid:21826768
10. Cheng J, Kalliomäki M, Heilig HG, Palva A, Lähteenoja H, de Vos WM et al. *Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease.* *BMC Gastroenterol.* 2013; 13: 113.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-13-113>
PMid:23844808 PMCID:PMC3716955
11. Caminero A, Herrán AR, Nistal E, Pérez-Andrés J, Vaquero L, Vivas S et al. *Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease.* *FEMS Microbiol Ecol.* 2014.
12. Ráki M, Tollefsen S, Molberg Ø, Lundin KE, Sollid LM, Jahnsen FL. *A unique dendritic cell subset accumulates in the celiac lesion and efficiently activates gluten-reactive T cells.* *Gastroenterology.* 2006; 131: 428-38.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.002>
PMid:16890596
13. Di Sabatino A, Pickard KM, Gordon JN, Salvati V, Mazzarella G, Beattie RM et al. *Evidence for the role of interferon-alfa production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease.* *Gastroenterology.* 2007; 133: 1175-87.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.08.018>
PMid:17919493
14. Beitnes AC, Ráki M, Lundin KE, Jahnsen J, Sollid LM, Jahnsen FL. *Density of CD163+ CD11c+ dendritic cells increases and CD103+ dendritic cells decreases in the coeliac lesion.* *Scand J Immunol.* 2011; 74: 186-94.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02549.x>
PMid:21392045
15. Beitnes AC, Ráki M, Brottveit M, Lundin KE, Jahnsen FL, Sollid LM. *Rapid accumulation of CD14+CD11c+ dendritic cells in gut mucosa of celiac disease after in vivo gluten challenge.* *PLoS One.* 2012; 7: e33556.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0033556>
PMid:22438948 PMCID:PMC3306402
16. Banchereau J, Steinman RM. *Dendritic cells and the control of immunity.* *Nature.* 1998; 392: 245-52.
<http://dx.doi.org/10.1038/32588>
PMid:9521319
17. Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol.* 2012; 5: 232-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.4>
PMid:22318493 PMCID:PMC3328017

18. Arques JL, Hautefort I, Ivory K, Bertelli E, Regoli M, Clare S et al. *Salmonella induces flagellin- and MyD88-dependent migration of bacteria-capturing dendritic cells into the gut lumen*. *Gastroenterology*. 2009; 137: 579-87.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.010>
PMid:19375423
19. Platt AM, Mowat AM. *Mucosal macrophages and the regulation of immune responses in the intestine*. *Immunol Lett*. 2008; 119: 22-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2008.05.009>
PMid:18601952
20. Hadis U, Wahl B, Schulz O, Hardtke-Wolenski M, Schippers A, Wagner N et al. *Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3+ regulatory T cells in the lamina propria*. *Immunity*. 2011; 34: 237-46.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.01.016>
PMid:21333554
21. Jiang C, Ting AT, Seed B. *PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines*. *Nature*. 1998; 391: 82-6.
<http://dx.doi.org/10.1038/35154>
22. Pull SL, Doherty JM, Mills JC, Gordon JI, Stappenbeck TS. *Activated macrophages are an adaptive element of the colonic epithelial progenitor niche necessary for regenerative responses to injury*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 99-104.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0405979102>
PMid:15615857 PMCID:PMC544052
23. Macdonald TT, Monteleone G. *Immunity, inflammation, and allergy in the gut*. *Science*. 2005; 307: 1920-5.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1106442>
PMid:15790845
24. Ng SC, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. *Intestinal dendritic cells: their role in bacterial recognition, lymphocyte homing, and intestinal inflammation*. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 16: 1787-807.
<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21247>
PMid:20222140
25. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R et al. *Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria*. *Nat Immunol*. 2001; 2: 361-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/86373>
PMid:11276208
26. Karlsson M, Lundin S, Dahlgren U, Kahu H, Pettersson I, Telemo E. *"Tolerosomes" are produced by intestinal epithelial cells*. *Eur J Immunol*. 2001; 31: 2892-900.
[http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141\(2001010\)31:10<2892::AID-IMMU2892>3.0.CO;2-I](http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141(2001010)31:10<2892::AID-IMMU2892>3.0.CO;2-I)

27. Ostman S, Taube M, Telemo E. *Tolerosome-induced oral tolerance is MHC dependent*. *Immunology*. 2005; 116: 464-76.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02245.x>
28. Persson EK, Scott CL, Mowat AM, Agace WW. *Dendritic cell subsets in the intestinal lamina propria: ontogeny and function*. *Eur J Immunol*. 2013; 43: 3098-107.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.201343740>
PMid:23966272 PMCID:PMC3933733
29. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. *Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology*. *Semin Immunopathol*. 2012; 34: 551-66.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0316-x>
PMid:22660791
30. Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Celiac disease: an immunological jigsaw*. *Immunity*. 2012; 36: 907-19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>
PMid:22749351
31. Suzuki K, Ha SA, Tsuji M, Fagarasan S. *Intestinal IgA synthesis: a primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut*. *Semin Immunol*. 2007; 19: 127-35.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2006.10.001>
PMid:17161619
32. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM et al. *Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease*. *Gastroenterology*. 1998; 115: 551-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70134-9)
33. Forsberg G, Hernell O, Melgar S, Israelsson A, Hammarström S, Hammarström ML. *Paradoxical coexpression of proinflammatory and down-regulatory cytokines in intestinal T cells in childhood celiac disease*. *Gastroenterology*. 2002; 123: 667-78.
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.35355>
PMid:12198691
34. Mills KH. *Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection?* *Nat Rev Immunol*. 2004; 4: 841-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri1485>
PMid:15516964
35. Thorpe PE, Knight SC. *Microplate culture of mouse lymph node cells. I. Quantitation of responses to allogeneic lymphocytes endotoxin and phytomitogens*. *J Immunol Methods*. 1974; 5: 387-404.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(74\)90022-2](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(74)90022-2)

36. Farrant J, Knight SC. *Help and suppression by lymphoid cells as a function of cellular concentration*. Proc Natl Acad Sci USA. 1979; 76: 3507-10.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.76.7.3507>
PMid:158761 PMCID:PMC383856
37. Knight SC. *Control of lymphocyte stimulation in vitro: "help" and "suppression" in the light of lymphoid population dynamics*. J Immunol Methods. 1982; 50: R51-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(82\)90297-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(82)90297-6)
38. Bernardo D, Al-Hassi HO, Mann ER, Tee CT, Muruganathan AU, Peake ST et al. *T-cell proliferation and forkhead box P3 expression in human T cells are dependent on T-cell density: physics of a confined space?* Hum Immunol. 2012; 73: 223-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2011.12.017>
PMid:22248741
39. Knight SC, Balfour BM, O'Brien J, Buttifant L, Summerska T, Clarke J. *Role of veiled cells in lymphocyte activation*. Eur J Immunol. 1982; 12: 1057-60.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.1830121214>
PMid:7160425
40. Knight SC, Mertin J, Stackpoole A, Clark J. *Induction of immune responses in vivo with small numbers of veiled (dendritic) cells*. Proc Natl Acad Sci USA. 1983; 80: 6032-5.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.80.19.6032>
PMid:6604279 PMCID:PMC534354
41. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ et al. *Immunobiology of dendritic cells*. Annu Rev Immunol. 2000; 18: 767-811.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.767>
PMid:10837075
42. Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, Peng M, Mirza A, Steinman RM et al. *The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing*. Nature. 1995; 375: 151-5.
<http://dx.doi.org/10.1038/375151a0>
PMid:7753172
43. Sallusto F, Cella M, Danieli C, Lanzavecchia A. *Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: down-regulation by cytokines and bacterial products*. J Exp Med. 1995; 182: 389-400.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.182.2.389>
PMid:7629501
44. Kabelitz D, Wesch D, Oberg HH. *Regulation of regulatory T cells: role of dendritic cells and toll-like receptors*. Crit Rev Immunol. 2006; 26: 291-306.
<http://dx.doi.org/10.1615/CritRevImmunol.v26.i4.10>
PMid:17073555

45. Benko S, Magyarics Z, Szabó A, Rajnavölgyi E. *Dendritic cell subtypes as primary targets of vaccines: the emerging role and cross-talk of pattern recognition receptors*. Biol Chem. 2008; 389: 469-85.
<http://dx.doi.org/10.1515/BC.2008.054>
PMid:18953714
46. Granucci F, Zanoni I, Ricciardi-Castagnoli P. *Central role of dendritic cells in the regulation and deregulation of immune responses*. Cell Mol Life Sci. 2008; 65: 1683-97.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-8009-2>
PMid:18327662
47. Reis e Sousa C. *Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity*. Curr Opin Immunol. 2004; 16: 21-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2003.11.007>
PMid:14734106
48. Perera PY, Lichy JH, Waldmann TA, Perera LP. *The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use*. Microbes Infect. 2012; 14: 247-61.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2011.10.006>
PMid:22064066 PMCID:PMC3270128
49. Sallusto F, Schaerli P, Loetscher P, Schaniel C, Lenig D, Mackay CR et al. *Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation*. Eur J Immunol. 1998; 28: 2760-9.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199809\)28:09<2760::AID-IMMU2760>3.0.CO;2-N](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199809)28:09<2760::AID-IMMU2760>3.0.CO;2-N)
50. Banchereau J. *The long arm of the immune system*. Sci Am. 2002; 287: 52-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/scientificamerican1102-52>
PMid:12395726
51. Cella M, Scheidegger D, Palmer-Lehmann K, Lane P, Lanzavecchia A, Alber G. *Ligation of CD40 on dendritic cells triggers production of high levels of interleukin-12 and enhances T cell stimulatory capacity: T-T help via APC activation*. J Exp Med. 1996; 184: 747-52.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.184.2.747>
PMid:8760829
52. Cella M, Engering A, Pinet V, Pieters J, Lanzavecchia A. *Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells*. Nature. 1997; 388: 782-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/42030>
PMid:9285591
53. Lefrançois L, Parker CM, Olson S, Muller W, Wagner N, Schön MP et al. *The role of beta7 integrins in CD8 T cell trafficking during an antiviral immune response*. J Exp Med. 1999; 189: 1631-8.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.189.10.1631>
PMid:10330442 PMCID:PMC2193647

54. Butcher EC, Williams M, Youngman K, Rott L, Briskin M. *Lymphocyte trafficking and regional immunity*. Adv Immunol. 1999; 72: 209-53.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)60022-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60022-X)
55. Berlin C, Berg EL, Briskin MJ, Andrew DP, Kilshaw PJ, Holzmann B et al. *Alpha 4 beta 7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1*. Cell. 1993; 74: 185-95.
[http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90305-A](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(93)90305-A)
56. Berg EL, McEvoy LM, Berlin C, Bargatze RF, Butcher EC. *L-selection-mediated lymphocyte rolling on MAdCAM-1*. Nature. 1993; 366: 695-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/366695a0>
PMid:7505053
57. Wurbel MA, Philippe JM, Nguyen C, Victorero G, Freeman T, Wooding P et al. *The chemokine TECK is expressed by thymic and intestinal epithelial cells and attracts double- and single-positive thymocytes expressing the TECK receptor CCR9*. Eur J Immunol. 2000; 30: 262-71.
[http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141\(200001\)30:1<262::AID-IMMU262>3.0.CO;2-0](http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141(200001)30:1<262::AID-IMMU262>3.0.CO;2-0)
58. Johansson-Lindbom B, Agace WW. *Generation of gut-homing T cells and their localization to the small intestinal mucosa*. Immunol Rev. 2007; 215: 226-42.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00482.x>
PMid:17291292
59. Ericsson A, Kotarsky K, Svensson M, Sigvardsson M, Agace W. *Functional characterization of the CCL25 promoter in small intestinal epithelial cells suggests a regulatory role for caudal-related homeobox (Cdx) transcription factors*. J Immunol. 2006; 176: 3642-51.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.176.6.3642>
PMid:16517733
60. Hart AL, Ng SC, Mann E, Al-Hassi HO, Bernardo D, Knight SC. *Homing of immune cells: role in homeostasis and intestinal inflammation*. Inflamm Bowel Dis. 2010; 16: 1969-77.
<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21304>
PMid:20848507
61. von Andrian UH, Mackay CR. *T-cell function and migration. Two sides of the same coin*. N Engl J Med. 2000; 343: 1020-34.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200010053431407>
PMid:11018170
62. Stagg AJ, Kamm MA, Knight SC. *Intestinal dendritic cells increase T cell expression of alpha4beta7 integrin*. Eur J Immunol. 2002; 32: 1445-54.
[http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141\(200205\)32:5<1445::AID-IMMU1445>3.0.CO;2-E](http://dx.doi.org/10.1002/1521-4141(200205)32:5<1445::AID-IMMU1445>3.0.CO;2-E)
63. Mora JR, Bono MR, Manjunath N, Weninger W, Cavanagh LL, Roseblatt M et al. *Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells*. Nature. 2003; 424: 88-93.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature01726>
PMid:12840763

64. Johansson-Lindbom B, Svensson M, Wurbel MA, Malissen B, Márquez G, Agace W. *Selective generation of gut tropic T cells in gut-associated lymphoid tissue (GALT): requirement for GALT dendritic cells and adjuvant*. J Exp Med. 2003;198: 963-9.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20031244>
PMid:12963696 PMCID:PMC2194196
65. Mann ER, Bernardo D, Al-Hassi HO, English NR, Clark SK, McCarthy NE et al. *Human gut-specific homeostatic dendritic cells are generated from blood precursors by the gut microenvironment*. Inflamm Bowel Dis. 2012; 18: 1275-86.
<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21893>
PMid:21987473
66. Sigmundsdottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D et al. *DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to 'program' T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27*. Nat Immunol. 2007; 8: 285-93.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni1433>
PMid:17259988
67. Iwata M, Hirakiyama A, Eshima Y, Kagechika H, Kato C, Song SY. *Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells*. Immunity. 2004; 21: 527-38.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.08.011>
PMid:15485630
68. Bernardo D, Mann ER, Al-Hassi HO, English NR, Man R, Lee GH et al. *Lost therapeutic potential of monocyte-derived dendritic cells through lost tissue homing: stable restoration of gut specificity with retinoic acid*. Clin Exp Immunol. 2013; 174: 109-19.
<http://dx.doi.org/10.1111/cei.12118>
PMid:23607934 PMCID:PMC3784218
69. Johansson-Lindbom B, Svensson M, Pabst O, Palmqvist C, Marquez G, Förster R et al. *Functional specialization of gut CD103+ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing*. J Exp Med. 2005; 202: 1063-73.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20051100>
PMid:16216890 PMCID:PMC2213212
70. Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Cárcamo CV, Hall J, Sun CM, Belkaid Y et al. *A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism*. J Exp Med. 2007; 204: 1757-64.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20070590>
PMid:17620361 PMCID:PMC2118683
71. Jaensson E, Uronen-Hansson H, Pabst O, Eksteen B, Tian J, Coombes JL et al. *Small intestinal CD103+ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans*. J Exp Med. 2008; 205: 2139-49.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20080414>
PMid:18710932 PMCID:PMC2526207

72. Comino I, Al-Hassi HO, Suligoj T, Lee GH, Sousa C, Landy J et al. *Constitutive gut-homing capacity on circulating myeloid dendritic cells in coeliac disease*. Rev Esp Enferm Dig. 2014; 106: 64-65.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082014000100013>
PMid:24689721
73. Milling S, Yrlid U, Cerovic V, MacPherson G. *Subsets of migrating intestinal dendritic cells*. Immunol Rev. 2010; 234: 259-67.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00866.x>
PMid:20193024
74. Mowat AM. *Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens*. Nat Rev Immunol. 2003; 3: 331-41.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri1057>
PMid:12669023
75. Chirido FG, Millington OR, Beacock-Sharp H, Mowat AM. *Immunomodulatory dendritic cells in intestinal lamina propria*. Eur J Immunol. 2005; 35: 1831-40.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.200425882>
PMid:16010704
76. Coombes JL, Maloy KJ. *Control of intestinal homeostasis by regulatory T cells and dendritic cells*. Semin Immunol. 2007; Apr;19(2):116-26.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2007.01.001>
77. Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, Bell SJ, Emmanuel AV, Knight SC et al. *Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases*. Gastroenterology. 2005; 129: 50-65.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.05.013>
PMid:16012934
78. Bell SJ, Rigby R, English N, Mann SD, Knight SC, Kamm MA et al. *Migration and maturation of human colonic dendritic cells*. J Immunol. 2001; 166:4958-67.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.166.8.4958>
PMid:11290774
79. Steinman RM, Hawiger D, Liu K, Bonifaz L, Bonnyay D, Mahnke K et al. *Dendritic cell function in vivo during the steady state: A role in peripheral tolerance*. Ann N Y Acad Sci. 2003; 987: 15-25.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb06029.x>
PMid:12727620
80. Macpherson AJ, Uhr T. *Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria*. Science. 2004; 303(5664): 1662-5.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1091334>
PMid:15016999

81. Mora JR, Iwata M, Eksteen B, Song SY, Junt T, Senman B et al. *Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells*. *Science*. 2006;314: 1157-60.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1132742>
PMid:17110582
82. Benson MJ, Pino-Lagos K, Roseblatt M, Noelle RJ. *All-trans retinoic acid mediates enhanced T reg cell growth, differentiation, and gut homing in the face of high levels of co-stimulation*. *J Exp Med*. 2007; 204: 1765-74.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20070719>
PMid:17620363 PMCID:PMC2118687
83. Sun CM, Hall JA, Blank RB, Bouladoux N, Oukka M, Mora JR et al. *Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid*. *J Exp Med*. 2007; 204: 1775-85.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20070602>
PMid:17620362 PMCID:PMC2118682
84. Suzuki K, Maruya M, Kawamoto S, Sitnik K, Kitamura H, Agace WW et al. *The sensing of environmental stimuli by follicular dendritic cells promotes immunoglobulin A generation in the gut*. *Immunity*. 2010; 33: 71-83.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2010.07.003>
PMid:20643338
85. Strober W. *Vitamin A rewrites the ABCs of oral tolerance*. *Mucosal Immunol*. 2008; 1: 92-5.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2007.22>
PMid:19079166
86. Denning TL, Wang YC, Patel SR, Williams IR, Pulendran B. *Lamina propria macrophages and dendritic cells differentially induce regulatory and interleukin 17-producing T cell responses*. *Nat Immunol*. 2007; 8: 1086-94.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni1511>
PMid:17873879
87. Kang SG, Lim HW, Andrisani OM, Broxmeyer HE, Kim CH. *Vitamin A metabolites induce gut-homing FoxP3+ regulatory T cells*. *J Immunol*. 2007; 179: 3724-33.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.6.3724>
PMid:17785809
88. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. *Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage*. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8: 685-98.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri2378>
PMid:19172691 PMCID:PMC2906676
89. Sigmundsdottir H, Butcher EC. *Environmental cues, dendritic cells and the programming of tissue-selective lymphocyte trafficking*. *Nat Immunol*. 2008; 9: 981-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni.f.208>
PMid:18711435 PMCID:PMC3171274

90. Varol C, Vallon-Eberhard A, Elinav E, Aychek T, Shapira Y, Luche H et al. *Intestinal lamina propria dendritic cell subsets have different origin and functions*. *Immunity*. 2009; 31: 502-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2009.06.025>
PMid:19733097
91. Bogunovic M, Ginhoux F, Helft J, Shang L, Hashimoto D, Greter M et al. *Origin of the lamina propria dendritic cell network*. *Immunity*. 2009; 31: 513-25.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2009.08.010>
PMid:19733489 PMCID:PMC2778256
92. Schulz O, Jaensson E, Persson EK, Liu X, Worbs T, Agace WW et al. *Intestinal CD103+, but not CX-3CR1+, antigen sampling cells migrate in lymph and serve classical dendritic cell functions*. *J Exp Med*. 2009; 206: 3101-14.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20091925>
PMid:20008524 PMCID:PMC2806467
93. Mann ER, Landy JD, Bernardo D, Peake ST, Hart AL, Al-Hassi HO et al. *Intestinal dendritic cells: their role in intestinal inflammation, manipulation by the gut microbiota and differences between mice and men*. *Immunol Lett*. 2013; 150: 30-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2013.01.007>
PMid:23352670
94. Bain CC, Scott CL, Uronen-Hansson H, Gudjonsson S, Jansson O, Grip O et al. *Resident and pro-inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors*. *Mucosal Immunol*. 2013; 6: 498-510.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.89>
PMid:22990622 PMCID:PMC3629381
95. Nicoletti C, Arques JL, Bertelli E. *CX CR1 is critical for Salmonella-induced migration of dendritic cells into the intestinal lumen*. *Gut Microbes*. 2010; May- Jun;1(3):131-4.
<http://dx.doi.org/10.4161/gmic.1.3.11711>
PMid:21327020 PMCID:PMC3023593
96. Scott CL, Aumeunier AM, Mowat AM. *Intestinal CD103+ dendritic cells: master regulators of tolerance?* *Trends Immunol*. 2011; 32: 412-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2011.06.003>
PMid:21816673
97. Kinnebrew MA, Buffie CG, Diehl GE, Zenewicz LA, Leiner I, Hohl TM et al. *Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CD11b(+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense*. *Immunity*. 2012; 36: 276-87.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.12.011>
PMid:22306017 PMCID:PMC3288454

98. Gibbons DL, Spencer J. *Mouse and human intestinal immunity: same ballpark, different players; different rules, same score.* Mucosal Immunol. 2011; 4: 148-57.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2010.85>
PMid:21228770
99. Worthington JJ, Czajkowska BI, Melton AC, Travis MA. Intestinal dendritic cells specialize to activate transforming growth factor- β and induce Foxp3+ regulatory T cells via integrin $\alpha\beta$ 8. Gastroenterology. 2011; 141: 1802-12.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.057>
PMid:21723222 PMCID:PMC3507624
100. Sanders TJ, McCarthy NE, Giles EM, Davidson KL, Haltalli ML, Hazell S et al. *Increased production of retinoic Acid by intestinal macrophages contributes to their inflammatory phenotype in patients with Crohn's disease.* Gastroenterology. 2014; 146: 1278-1288.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.057>
PMid:24503130
101. Cerovic V, Houston SA, Scott CL, Aumeunier A, Yrlid U, Mowat AM, Milling SW. *Intestinal CD103(-) dendritic cells migrate in lymph and prime effector T cells.* Mucosal Immunol. 2013; 6: 104-13.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.53>
PMid:22718260
102. Denning TL, Norris BA, Medina-Contreras O, Manicassamy S, Geem D, Madan R et al. *Functional specializations of intestinal dendritic cell and macrophage subsets that control Th17 and regulatory T cell responses are dependent on the T cell/APC ratio, source of mouse strain, and regional localization.* J Immunol. 2011; 187: 733-47.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1002701>
PMid:21666057 PMCID:PMC3131424
103. Dudda JC, Lembo A, Bachtanian E, Huehn J, Siewert C, Hamann A et al. *Dendritic cells govern induction and reprogramming of polarized tissue-selective homing receptor patterns of T cells: important roles for soluble factors and tissue microenvironments.* Eur J Immunol. 2005; 35: 1056-65.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.200425817>
PMid:15739162
104. Edele F, Molenaar R, Gütle D, Dudda JC, Jakob T, Homey B et al. *Cutting edge: instructive role of peripheral tissue cells in the imprinting of T cell homing receptor patterns.* J Immunol. 2008; 181: 3745-9.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.181.6.3745>
PMid:18768825
105. Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, Avogadri F, Sonzogni A, Sampietro GM et al. *Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells.* Nat Immunol. 2005; 6: 507-14.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni1192>
PMid:15821737

106. Butler M, Ng CY, van Heel DA, Lombardi G, Lechler R, Playford RJ et al. *Modulation of dendritic cell phenotype and function in an in vitro model of the intestinal epithelium*. Eur J Immunol. 2006; 36: 864-74.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.200535497>
PMid:16544275
107. Iliev ID, Spadoni I, Mileti E, Matteoli G, Sonzogni A, Sampietro GM et al. *Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells*. Gut. 2009A; 58: 1481-9.
108. Iliev ID, Mileti E, Matteoli G, Chieppa M, Rescigno M. *Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning*. Mucosal Immunol. 2009B; 2: 340-50.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2009.13>
PMid:19387433
109. Lee J, Mo JH, Katakura K, Alkalay I, Rucker AN, Liu YT et al. *Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells*. Nat Cell Biol. 2006; 8: 1327-36.
<http://dx.doi.org/10.1038/ncb1500>
PMid:17128265
110. Lee J, Gonzales-Navajas JM, Raz E. *The "polarizing-tolerizing" mechanism of intestinal epithelium: its relevance to colonic homeostasis*. Semin Immunopathol. 2008; 30: 3-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-007-0099-7>
PMid:18026955
111. Wells JM, Rossi O, Meijerink M, van Baarlen P. *Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface*. Proc Natl Acad Sci USA. 2011; 108. Suppl 1: 4607-14.
<http://dx.doi.org/10.1038/embor.2012.96>
PMid:22801555 PMCID:PMC3410395
112. Pott J, Hornef M. *Innate immune signalling at the intestinal epithelium in homeostasis and disease*. EMBO Rep. 2012; 13: 684-98.
<http://dx.doi.org/10.1038/embor.2012.96>
PMid:22801555 PMCID:PMC3410395
113. Fukata M, Breglio K, Chen A, Vamadevan AS, Goo T, Hsu D et al. *The myeloid differentiation factor 88 (MyD88) is required for CD4+ T cell effector function in a murine model of inflammatory bowel disease*. J Immunol. 2008; 180: 1886-94.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.180.3.1886>
PMid:18209086 PMCID:PMC2828823
114. Szebeni B, Veres G, Dezsofi A, Rusai K, Vannay A, Bokodi G et al. *Increased mucosal expression of Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007; 45: 187-93.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318064514a>
PMid:17667714

115. Kalliomäki M, Satokari R, Lähteenoja H, Vähämiko S, Grönlund J, Routi T et al. *Expression of microbiota, Toll-like receptors, and their regulators in the small intestinal mucosa in celiac disease.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 727-32.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318241cfa8>
PMid:22134550
116. Thomas KE, Sapone A, Fasano A, Vogel SN. *Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in Celiac disease.* J Immunol. 2006; 176: 2512-21.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.176.4.2512>
PMid:16456012
117. Palová-Jelínková L, Dáňová K, Drašarová H, Dvořák M, Funda DP, Fundová P et al. *Pepsin digest of wheat gliadin fraction increases production of IL-1 β via TLR4/MyD88/TRIF/MAPK/NF- κ B signaling pathway and an NLRP3 inflammasome activation.* PLoS One. 2013; 8: e62426.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062426>
PMid:23658628 PMCID:PMC3639175
118. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S et al. *Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease.* Lancet. 2003; 362: 30-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2)
119. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM et al. *Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease.* Gut. 2006; 55: 469-77.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.068684>
PMid:16105889 PMCID:PMC1856172
120. Bernardo D, Garrote JA, Fernández-Salazar L, Riestra S, Arranz E. *Is gliadin really safe for non-coeliac individuals? Production of interleukin 15 in biopsy culture from non-coeliac individuals challenged with gliadin peptides.* Gut. 2007; 56: 889-90.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.118265>
PMid:17519496 PMCID:PMC1954879
121. Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namane A, Cellier C, Cerf-Bensussan N et al. *Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease.* Gastroenterology. 2003; 125: 696-707.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01049-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01049-7)
122. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR et al. *Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function.* Gut. 2003; 52: 218-23.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.2.218>
PMid:12524403 PMCID:PMC1774976

123. Maiuri L, Ciacci C, Auricchio S, Brown V, Quarantino S, Londei M. *Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease*. *Gastroenterology*. 2000; 119: 996-1006.
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2000.18149>
PMid:11040186
124. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN et al. *Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease*. *Immunity*. 2004; 21: 357-66.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.020>
PMid:15357947
125. Hüe S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J et al. *A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease*. *Immunity*. 2004; 21: 367-77.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>
PMid:15357948
126. Ebert EC. *IL-15 converts human intestinal intraepithelial lymphocytes to CD94 producers of IFN-gamma and IL-10, the latter promoting Fas ligand-mediated cytotoxicity*. *Immunology*. 2005; 115: 118-26.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02132.x>
PMid:15819704 PMCID:PMC1782126
127. DePaolo RW, Abadie V, Tang F, Fehlner-Peach H, Hall JA, Wang W et al. *Co-adjuvant effects of retinoic acid and IL-15 induce inflammatory immunity to dietary antigens*. *Nature*. 2011; 471: 220-4.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature09849>
PMid:21307853 PMCID:PMC3076739

CAPÍTULO 3

PROTEÍNAS DE LOS CEREALES: PÉPTIDOS INMUNOESTIMULADORES Y TÓXICOS.

Fernando G. Chirido¹, Eduardo Arranz²

¹Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos-IIFP. (UNLP-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Argentina.

²Laboratorio de Inmunología de las Mucosas. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Universidad de Valladolid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valladolid, España.

fchirido@biol.unlp.edu.ar earranz@med.uva.es

Cómo citar este capítulo:

Chirido, FG, Arranz E. Las Proteínas de los Cereales: *Péptidos Inmunoestimuladores y Tóxicos*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las proteínas de almacenamiento de los granos de trigo son la base de una amplia variedad de productos alimenticios de elaboración casera e industrial. No obstante, esas proteínas son tóxicas para un grupo de individuos (pacientes con enfermedad celíaca EC). Las gliadinas y las gluteninas presentes en trigo, así como sus equivalentes en la cebada y el centeno, (también llamadas prolaminas), están evolutivamente relacionadas y presentan un elevado grado de homología. El resultante del amasado de estas proteínas, en presencia de agua, genera una masa viscoelástica que se denomina gluten.

Los anticuerpos policlonales y monoclonales específicos de las prolaminas han sido una herramienta muy útil para caracterizar las propiedades estructurales y conformacionales de las prolaminas y particularmente, para el análisis basado en técnicas inmunoquímicas del contenido de gluten en productos alimenticios.

Esta determinación es de relevancia para la salud humana, ya que los pacientes celíacos deben seguir una estricta dieta (llamada dieta libre de gluten), el único tratamiento efectivo para recuperar la histología y funcionalidad del intestino delgado.

Se han usado solventes acuosos, tales como el etanol al 60-70%, para la extracción de las prolaminas de harinas y de productos alimenticios. Este método no es selectivo y por lo tanto, resulta en una compleja mezcla de proteínas que asociado a su baja solubilidad en soluciones acuosas, su elevado grado de homología y por como consecuencia, su reactividad cruzada, provocan dificultades en el análisis inmunoquímico de las proteínas derivadas del gluten.

Las prolaminas generan una respuesta inmune exacerbada en la mucosa intestinal de los pacientes con EC. Los linfocitos T son una pieza clave en esta respuesta anómala frente a un componente dietario. No obstante, nuevas perspectivas en el conocimiento sobre la inmunidad innata dirigen la atención hacia algunos péptidos de gliadinas que también pueden producir reacciones inflamatorias que podrían intervenir en la patogenia de EC.

Palabras clave

Gliadinas, gluteninas, prolaminas, proteínas tóxicas, productos libres de gluten, enfermedad celíaca.

1. Introducción

Los granos de cereal son una de las más importantes fuentes de proteínas en la nutrición humana. El trigo y el arroz representan más del 70% de los granos de cereal consumidos mundialmente. La mayoría de los cultivares de trigo que se utilizan corresponden a variedades del *Triticum aestivum* L. hexaploide (con tres genomas codificados AABBDD), las cuales son usadas comúnmente para fabricar pan. El *Triticum durum*, tetraploide (genomas A y B), se usa primariamente para la producción de pastas. Particularmente, el uso a escala masiva de las proteínas de trigo, se debe a sus propiedades biofísicoquímicas, las cuales le otorgan la capacidad de formar una estructura particular llamada gluten. Esta estructura se obtiene de la harina de trigo por medio del lavado en presencia de agua y por la eliminación de algunos componentes solubles, principalmente el almidón. Como resultado, se obtiene una masa elástica y cohesiva capaz de retener gas, el cual se genera por la fermentación producida por microorganismos, usualmente levaduras. El trigo y los demás cereales nocivos para la EC se han visto ampliamente distribuidos desde hace unos 500 años, apenas una veintava parte del lapso que ha transcurrido desde el desarrollo de la agricultura. Las proteínas de almacenamiento de los granos de trigo son la base de una amplia variedad de productos alimentarios de elaboración casera e industrial. Debido a su capacidad de formar estructura, el gluten también se utiliza extensamente en la formulación de otros alimentos y es clave en el desarrollo de muchos productos en la industria alimentaria¹⁻³. No obstante, estas proteínas son tóxicas para pacientes con enfermedad celíaca (EC). En este capítulo, examinaremos los aspectos estructurales de estas proteínas tóxicas para comprender su papel en la patogenia de la EC, así como los principios involucrados en los métodos para la certificación de los alimentos libres de gluten.

2. La Clasificación de las Proteínas de los Cereales

El trigo, la cebada (*Hordeum vulgare* L.) y el centeno (*Secale cereale* L.) son miembros de la tribu *Triticeae*, por lo que están evolutivamente emparentados. Todos contienen grupos de proteínas, que poseen un elevado grado de homología y que comparten propiedades físicoquímicas. La avena, aunque se halla en la misma subfamilia, pertenece a la tribu *Aveneae* y presenta algunas características diferentes (Figura 1)¹⁻³.

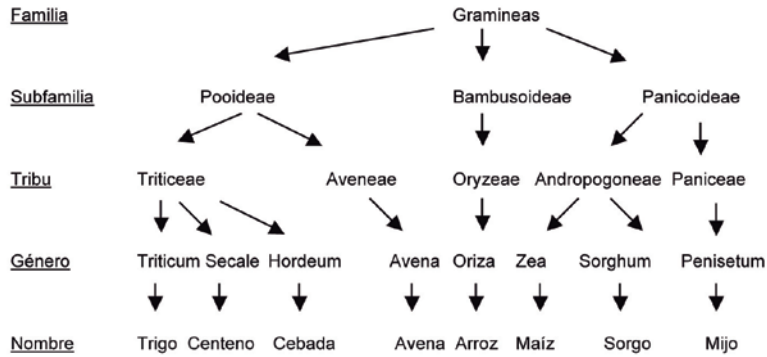


Figura 1. Relaciones taxonómicas entre los cereales⁴.

Las proteínas del endosperma del grano de trigo son mezclas complejas que fueron originalmente clasificadas por T.B. Osborne de acuerdo con su solubilidad en cuatro fracciones (1907): albúminas (solubles en agua); globulinas (solubles en soluciones salinas); gliadinas (solubles en etanol al 60-70%) y gluteninas (únicamente solubles bajo condiciones más agresivas, a saber, ácidos, agentes reductores, detergentes, urea, etc.).

Las gliadinas y las gluteninas, tanto como sus homólogos en cebada y centeno, son llamadas prolaminas. Este nombre se debe a su elevado contenido de los aminoácidos prolina y glutamina, los cuales junto a la fenilalanina, representan el 60 al 80% del total de su contenido de aminoácidos. Las prolaminas son sintetizadas y depositadas en el endosperma del grano como una fuente primaria de nitrógeno para la síntesis de proteínas que ocurre durante la germinación. El proceso de la molienda produce la harina de trigo, el ingrediente primario, esencial para la manufactura de alimentos.

Como proteínas de almacenamiento, las gliadinas y las gluteninas comprenden casi la mitad del contenido de proteínas de la harina de trigo². Las gliadinas son monómeros, con pesos moleculares en el rango de 30 hasta 60kDa, mientras que las gluteninas, forman polímeros entre cadenas a través de uniones por puentes disulfuro con pesos moleculares que oscilan desde 80kDa hasta millones. Como consecuencia de este entrecruzamiento, las gluteninas son poco extraídas cuando se usa etanol acuoso (solvente más comúnmente usado) de los productos amasados, y aun menos en aquellos que han recibido tratamiento térmico.

Las gliadinas han sido clasificadas en α -, β -, γ - y ω -gliadinas, basándose en su movilidad electroforética en condiciones de pH ácido (pH=3, A-PAGE)⁵. El mismo procedimiento ha sido usado para describir los componentes homólogos de la cebada y el centeno.

3. Características Estructurales y Propiedades Biofísicoquímicas

La estructura primaria de las prolaminas presenta regiones extensas de secuencias repetidas debidas a inserción y duplicación a lo largo del proceso evolutivo, lo que ha generado un elevado grado de polimorfismo. Las regiones repetitivas están formadas por unidades de 4 a 9 aminoácidos de longitud. Estas unidades incluyen una o más unidades de prolina y glutamina, lo que explica el elevado contenido de estos dos aminoácidos en las prolaminas.

La tabla 1 muestra una clasificación de las prolaminas de acuerdo con su composición y secuencia de aminoácidos^{1,3}.

Tabla 1. Clasificación de las prolaminas de trigo, centeno y cebada.

Prolaminas					
Gliadinas (monómeros)			Gluteninas (agregados)		
Trigo	ω -gliadinas	α -, β -gliadinas	γ -gliadinas	LMW glu-	HMW glu-
	Pobres en S	Ricas en S			
Cebada	C hordeínas	-	γ -hordeínas	B hordeínas	D hordeínas
Centeno	ω -secalinas	-	γ -secalinas	LMW-secalinas	HMW-seca- linas

LWM = Bajo Peso Molecular ; HMW = Alto Peso Molecular

La secuencia de aminoácidos para la α -gliadina fue la primera en ser descrita⁶. Es una proteína de 30kDa, soluble en etanol. Posteriores investigaciones revelaron que la estructura global de las prolaminas, la cual consiste en secuencias típicas en el extremo N terminal, conservando dominios y regiones repetitivas. Estas características pueden hallarse en los componentes homólogos del trigo, la cebada y el centeno. Las regiones N terminales de las ω -gliadinas y las ω -secalinas por ejemplo, presentan un elevado grado de homología y las secuencias repetidas representan un 80% de la molécula⁷. Se hallaron dos secuencias de consenso: PQQPY y PQQPFPQQ, las cuales explican el elevado contenido de prolina (P) y glutamina (Q) que se ha observado en estas proteínas. El análisis de las secuencias de las aveninas reveló que, aunque efectivamente, existen algunas secuencias de consenso de unidades repetidas, estas son diferentes de las del trigo, la cebada y el centeno.

Basándose en su peso molecular, las prolaminas pueden ser divididas en: Peso Molecular Alto (HMW, por sus siglas en inglés), Peso Molecular Medio (MMW) y Peso Molecular Bajo (LMW). Las proteínas del grupo HMW incluyen las HMW-gluteninas (trigo), HMW-secalinas (centeno) y las D-hordeínas (cebada), con pesos moleculares en el rango de 70-90kDa. El motivo de secuencia QQPGQG es muy frecuente en la región repetitiva.

En el grupo MMW el peso oscila entre 50-70kDa, e incluye ω -gliadinas, ω -secalinas (centeno) y C-hordeínas (cebada). Las secuencias están típicamente formadas por repeticiones de QPQQPFP y QQQFP. En el grupo LMW, el peso molecular oscila entre 30-45 kDa e incluye α -/ β -gliadinas y γ -gliadinas (trigo), γ -secalinas (centeno) y γ -hordeínas (cebada); estas contienen cisteínas que forman enlaces disulfuro intracadena. Debe recalarse que las proteínas homólogas a las α -/ β -gliadinas, no se hallan en el centeno, ni en la cebada^{1,3}. La secuencia repetitiva típica en estas proteínas es QPQQPFP. Dentro de este mismo grupo existen otras proteínas con puentes disulfuro intercalado como LMW-GS (trigo), γ 75k-secalinas (centeno) y B-hordeínas (cebada) (Figuras 2 y 3A).

La estructura secundaria de las prolaminas contiene regiones de α -hélice en los extremos N y C terminales, así como en algunas secuencias intercaladas. Las regiones repetitivas adoptan una estructura conocida como giro- β . La unidad estructural de giro- β se compone de cuatro residuos; los enlaces de puente de hidrógeno se hallan entre el grupo carboxil y el grupo de amidas del cuarto residuo¹⁰. La regularidad de las secuencias repetitivas y de la estructura giro- β determinan la formación de una estructura cilíndrica con 13 residuos por giro, llamada espiral- β . Los giros- β predominan en las ω -gliadinas. También se hallan en las gluteninas HMW y en menor grado, en las γ -gliadinas. En estos casos la distribución de los giros- β es irregular. En contraste en las α -gliadinas, esta estructura se restringe solo a unos pocos dominios cerca de la región N terminal; que son más irregulares y pueden contener secuencias intercaladas con una estructura de α -hélice¹⁰. Las prolaminas son estructuras proteicas compactas con una elevada estabilidad fisicoquímica¹¹. Su rígida estructura secundaria se preserva, aún bajo condiciones desnaturalizadoras leves¹² y solo las condiciones desnaturalizadoras fuertes, tales como la urea 4M, pueden alterar su estructura¹³.

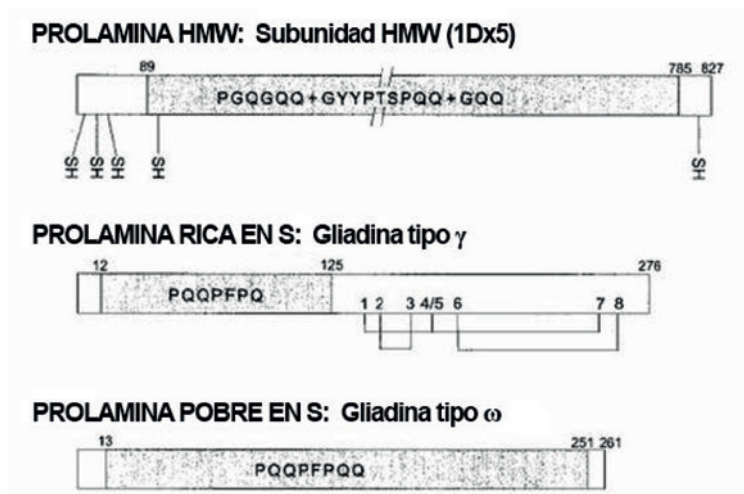


Figura 2. Esquema de la estructura de las gluteninas HMW y de las gliadinas ricas en azufre. Las líneas que conectan 1 al 8, indican los puentes disulfuro entre cisteínas, mientras que SH indica las

posiciones de los residuos de cisteína¹.

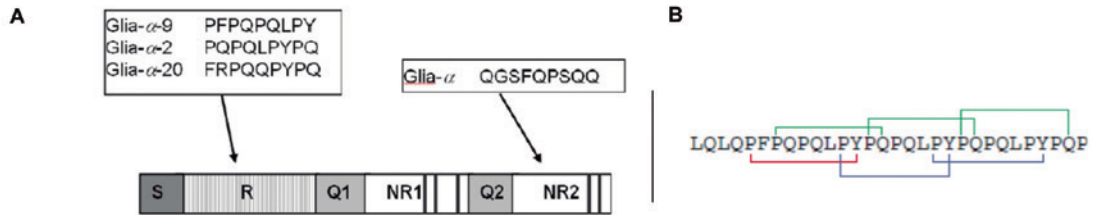


Figura 3. Péptidos tóxicos en las α -gliadinas. Esquema de la estructura de α -gliadina. S: secuencia N terminal. R: dominio repetitivo. NR: dominios no repetitivos separados por regiones de poliglutamina (Q). Se indican algunas de las secuencias descritas como péptidos tóxicos⁸. B. Secuencia de α -gliadinas de los aminoácidos del 57 al 89 (conocidos como 33mer) incluyendo tres epítodos tóxicos solapados que se hallan presentes una, dos y tres veces⁹.

4. Procedimientos de Extracción de Prolaminas

Los solventes acuosos, tales como el etanol acuoso al 60-70%, 0.01 M de ácido acético o 1 M de urea entre otros, han sido usados para la extracción de prolaminas a partir de las harinas. Estos no son medios de extracción selectivos y por lo tanto, da como resultado mezclas complejas de proteínas¹⁴. Ya que las prolaminas presentan una elevada tendencia a agruparse en la presencia de solventes acuosos, las técnicas bioquímicas usadas para separarlas y purificarlas no son eficientes. La cromatografía líquida de fase inversa (RP-HPLC) es el método recomendado para el análisis de prolaminas. No obstante, con objetivos preparativos, solo una cantidad limitada de proteínas puede ser purificada usando HPLC.

Para obtener una mayor cantidad de estas proteínas, se ha usado la cromatografía líquida de mediana presión (FPLC, siglas en idioma inglés de Cromatografía Líquida Rápida de Proteínas)¹⁵. En este caso, pueden obtenerse algunas fracciones enriquecidas, pero se hallan contaminadas con componentes de otras fracciones. En conclusión, dadas sus características bioquímicas, no es posible obtener gliadinas u otras prolaminas en forma pura usando técnicas separativas convencionales. Este es el motivo por el cual las técnicas de ingeniería genética han permitido clonar y producir en forma recombinante varias gliadinas. Estas proteínas recombinantes han sido usadas en estudios funcionales¹⁶ y en la evaluación de su papel en la patogenicidad de la EC^{17,18}.

5. Caracterización de las Prolaminas por Métodos Inmunoquímicos

Se han obtenido tanto anticuerpos policlonales como monoclonales frente a las proteínas del trigo, la cebada y el centeno. Estos anticuerpos han sido una herramienta muy útil para caracterizar las propiedades estructurales y conformacionales de las prolaminas. La baja solubilidad de las prolaminas en soluciones acuosas, la dificultad de obtener componentes altamente purificados y el elevado grado de homología, con la consecuente reactividad cruzada, producen no obstante, algunas dificultades en esta clase de técnicas. La información obtenida por medio de métodos inmunoquímicos es relevante para profundizar en el conocimiento de este sistema de proteínas muy particular. Desde los primeros análisis inmunoquímicos por medio de anticuerpos policlonales, obtenidos de conejos inmunizados con α -/ β - y γ -gliadinas, B-hordeínas o C-hordeínas, se observó que la inmunogenicidad de las secuencias repetitivas y en particular, de las regiones compuestas de giros beta determinan gran parte de la reactividad cruzada¹⁹. Estos resultados revelaron una homología parcial y la presencia de epítomos conformacionales y/o lineales similares en las α - y γ -gliadinas, B-hordeínas y C-hordeínas. En los mismos estudios, las ω -gliadinas presentaron una reactividad mucho menor no observando reconocimiento de proteínas de avena y arroz.

Los anticuerpos monoclonales fueron producidos usando diferentes estrategias para la inmunización y la selección de los hibridomas. Estos anticuerpos han profundizado nuestro conocimiento sobre las características estructurales de las prolaminas y han resultado útiles para el desarrollo de pruebas cuantitativas para determinar la concentración de gliadinas en extractos de los alimentos^{14,20-23}. Uno de estos anticuerpos monoclonales, llamado R5, ha sido extensamente caracterizado y es uno de los anticuerpos más utilizados en pruebas ELISA para el control del gluten en los alimentos^{24,26}.

Es difícil efectuar la caracterización de la inmunoreactividad y en particular, la identificación del epítomo reconocido por un anticuerpo monoclonal en este sistema proteico. La interpretación de los resultados inmunoquímicos es difícil en este complejo sistema de proteínas: donde ocurren múltiples interacciones antígeno-anticuerpo, con un amplio rango de afinidades y elevada reactividad cruzada. Con el fin de simplificar el sistema de estudio e identificar el epítomo reconocido por los anticuerpos monoclonales, se usaron péptidos sintéticos o bibliotecas de fagos. En el caso particular del anticuerpo R5, se encontró que la secuencia central de los epítomos está formada por QQFPF, QQQFP, LQFPF y QLFPF²⁴. Estas secuencias se encuentran en el trigo, el centeno y la cebada, pero no en la avena.

Más recientemente, además de las pruebas inmunoquímicas, se han utilizado técnicas más actualizadas para analizar los péptidos derivados de gluten en alimentos. Por ejemplo, se han propuesto diferentes sensores basados en propiedades físicas, electroquímicas²⁷ y magnéticas²⁸. También se ha propuesto realizar la detección de los fragmentos del ADN del genoma del trigo por medio de PCR²⁹. Aunque todos estos son métodos potentes en su capacidad de detección, no pueden aún sustituir el uso a gran escala las técnicas de ELISA cuantitativo.

6. Gliadinas Comúnmente Usadas en la Investigación de la Patogenia de la Enfermedad Celíaca o en el Análisis del Gluten

Para evaluar el papel de las gliadinas en los mecanismos patogénicos de la EC o en el desarrollo de las pruebas de certificación de alimentos, las fuentes de gliadinas más comúnmente utilizadas hasta el momento han sido: Gliadinas comerciales, la digestión enzimática de gliadinas enteras y más recientemente, el material de referencia preparado por el *European Working Group in Prolamin Analysis and Toxicity* (WGPAT) (Grupo de Trabajo Europeo sobre el Análisis y Toxicidad de las Prolaminas, por sus siglas en idioma Inglés)³⁰.

- Las gliadinas comerciales son producidas por varias compañías. Estas consisten en gliadinas obtenidas a partir de la harina de trigo siguiendo protocolos convencionales para la eliminación de la fracción de albúmina-globulina y su posterior extracción con etanol acuoso. La fracción de proteínas extraída con etanol acuoso es luego liofilizada y distribuida bajo la forma de polvo, pero éste no es completamente soluble. Esta es una desventaja importante cuando se utiliza esta preparación de gliadinas como estándar en métodos cuantitativos. Además, debido al procedimiento de producción, puede alterarse la conformación de las proteínas y consecuentemente puede modificarse su interacción con los anticuerpos.
- Fragmentos de gliadinas obtenidos mediante digestión enzimática de las gliadinas comerciales se obtienen mediante tratamiento de gliadinas comerciales con las enzimas tripsina y pepsina; usualmente se les conoce como PT-gliadinas. Esta digestión enzimática produce una mezcla de péptidos de varios tamaños que han sido usados en la caracterización de la respuesta inmune en los pacientes con EC. Para pruebas biológicas, esta preparación se usa como un modelo de péptidos derivados del gluten, hallados en el lumen intestinal después del proceso fisiológico de la digestión. La desventaja de esta preparación es la gran variabilidad entre preparaciones.
- El material de referencia de WGPAT (gliadina PWG) fue desarrollado dentro de un proyecto multicéntrico internacional, que permite la validación de pruebas cuantitativas. Para su preparación se mezclaron las harinas de 28 variedades de trigos europeos y se siguió un protocolo convencional de extracción de prolaminas. La gliadina PWG fue caracterizada por la metodología más amplia disponible (RP-HPLC, electroforesis en gel de poliacrilamida, electroforesis capilar, MALDI-TOF, pruebas inmuno-químicas). También se evaluó su estabilidad y solubilidad. Por lo tanto, la gliadina PWG es un reactivo altamente estable y completamente soluble utilizado como material de referencia para pruebas cuantitativas en el análisis del gluten³⁰.

7. Prolaminas y Toxicidad. Inducción de las Respuestas Inmunes Innata y Adaptativa

Estudios pioneros realizados por el grupo del Dr. Sollid (Oslo, Suecia) a comienzos de la década de 1990, demostraron la especificidad de los linfocitos T de la lamina propria aislados a partir de

la mucosa intestinal de pacientes con EC activa. Estos experimentos demostraron también el papel de los alelos de susceptibilidad HLA de clase II en la patogenia de la EC^{31,32}. Estudios posteriores utilizando paneles de linfocitos T aislados de la mucosa intestinal permitieron un análisis profundo de los péptidos unidos a los alelos HLA de susceptibilidad (HLA-DQ2/DQ8)³³. Diferentes grupos de investigación han contribuido sustancialmente al conocimiento de los mecanismos de la patogenia de la EC, tal vez una de las patologías con base inmune mejor conocidas.

Debido a sus secuencias particulares, los péptidos del gluten son resistentes a la degradación enzimática. En consecuencia, aun luego de la actividad de las enzimas digestivas, en el lumen intestinal permanecen fragmentos de gluten de gran tamaño. Estos péptidos son translocados a la lamina propia, donde son capturados y procesados por las células dendríticas. Allí, la transglutaminasa 2 (TG2), una enzima con múltiples funciones, media en la deamidación de residuos de glutamina, en posiciones seleccionadas de los péptidos de gluten^{35,36}. Esta modificación hace que los péptidos tengan una mayor afinidad por los alelos de susceptibilidad de HLA de clase II^{17,37-39}. Se han desarrollado algoritmos para la predicción de secuencias tóxicas, tomando en cuenta tanto la selección de péptidos capaces de interactuar con los alelos de susceptibilidad HLA como el requerimiento de la deamidación de glutaminas por TG2^{40,41}. La información experimental de análisis de reactividad de linfocitos T sumada a estos algoritmos sugiere que la respuesta adaptativa T se halla restringida principalmente a ciertos péptidos del gluten que cumplen con el requerimiento de establecer una unión de alta afinidad con los alelos de susceptibilidad HLA y la deamidación selectiva por la TG2^{42,43}.

Aunque la reactividad de los linfocitos T parece ser heterogénea, predomina la reactividad de estos frente a las α -gliadinas. Los péptidos inmuno-dominantes, tales como la α -gliadina p56-89⁴⁴, inducen respuestas inmunes específicas en prácticamente todos los pacientes con enfermedad celíaca^{17,45}. Este péptido, llamado 33mer, es considerado el péptido modelo para el estudio sobre la respuesta adaptativa en EC. Se han identificado a los principales epítomos en las α -, γ - y ω -gliadinas, así como en las gluteninas. Estos epítomos se unen a las moléculas de HLA-DQ2 y DQ8. A su vez, muchos de estos epítomos se unen con mayor afinidad cuando glutaminas de posiciones definidas han sido deamidadas por actividad de la enzima TG2, e incrementan la inducción de la proliferación de células T específicas^{36,37,44}.

Se ha propuesto una nomenclatura para los epítomos relevantes del gluten basada en la definición de la reactividad de por lo menos, un clon de célula T específico, el elemento de restricción HLA y el núcleo de nueve de aminoácidos del epítomo⁴¹. La lista incluye, al menos, 31 epítomos reconocidos por los linfocitos T CD4+, 24 de los cuales son HLA-DQ2 restringidos (23 DQ2.5 y 1 por DQ2.2) y 7 HLA-DQ8 restringidos (4 DQ8, y 3 por DQ8.5), presentes en α -gliadina, γ -gliadina, ω -gliadina, gluteninas LMW y HMW, hordeínas, secalinas y aveninas (tabla 2).

Se sabe que los péptidos del gluten pueden inducir daño en cultivos celulares de biopsias intestinales duodenales⁴⁶ o después de haber sido administrados *in vivo*, en el intestino proximal o distal⁴⁷. Los efectos tempranos tales como la inducción de vías de estrés celular y la estimulación de

la inmunidad innata local, han sido descritos para los fragmentos de α -gliadina p31-49 y p31-43. El péptido p31-43 puede inducir moléculas de MHC clase I no clásicas, estrés, muerte de células epiteliales y podría potenciar el efecto del factor de crecimiento epidérmico (EGF), así como la estimulación del sistema de quinasas de MAP quinasa p38, y la producción de IL-15, por parte de las células mononucleares de la lamina propia^{48,50,51}. Se ha observado que el péptido p31-43, a diferencia de otros péptidos, se acumula en los lisosomas intracelulares, donde induce la activación de TG2 y la degradación de PPAR γ , que es un modulador de la inflamación intestinal⁵². También, se ha descrito la actividad de otros péptidos de gliadinas con diversos efectos biológicos^{53,55}.

Tabla 2. Lista de péptidos relevantes reconocidos por las células CD4⁺ T.

EPITOPO		
Nomenclatura actual	Nomenclatura anterior	Secuencia*
DQ2.5 restringidos		
DQ2.5-glia- α 1a	DQ2- α -I, α 9	PFQPQ EL PY
DQ2.5-glia- α 1b	DQ2- α -III	PYPQ PEL PY
DQ2.5-glia- α 2	DQ2- α -II, α 2	PQ PEL PYPQ
DQ2.5-glia- α 3	glia- α 20	FR PE QYPYQ
DQ2.5-glia- γ 1	DQ2- γ -I	PQQSF PE QQ
DQ2.5-glia- γ 2	DQ2- γ -II, γ 30	IQ PE QPAQL
DQ2.5-glia- γ 3	DQ2- γ -III	QQPE QYPYQ
DQ2.5-glia- γ 4a	DQ2- γ -IV	SQ PE QEFPQ
DQ2.5-glia- γ 4b	DQ2- γ -VIIc	PQ PE QEFPQ
DQ2.5-glia- γ 4c	DQ2- γ -VIIa	QQPE QPFQ
DQ2.5-glia- γ 4d	DQ2- γ -VIIb	PQ PE QPF C Q
DQ2.5-glia- γ 5	DQ2- γ -VI	QQPF PE QPQ
DQ2.5-glia- ω 1	DQ2- ω -I	PFQPQ PE QPF
DQ2.5-glia- ω 2	DQ2- ω -II	PQ PE QPF P W
DQ2.5-glut-L1	glutenina-17	PF SE EQPV
DQ2.5-glut-L2	glutenina-156	FS QQ Q ES PF
DQ2.5-hor-1	Hor- α 9,Ha 9	PFQPQ PE QPF
DQ2.5-hor-2	Hor- α 2,Ha 2	PQ PE QPF P Q
DQ2.5-hor-3	hor-I-DQ2	PI PE Q P QPY
DQ2.5-sec-1	Sec- α 9,Sa 9	PFQPQ PE QPF
DQ2.5-sec-2	Sec- α 2,Sa 2	PQ PE QPF P Q
DQ2.5-ave-1a	Av- α 9 ^a	PYPEQ EE PF
DQ2.5-ave-1b	Av- α 9B,1490	PYPEQ EE QPF

DQ8 restringidos		
DQ8-glia- α 1	DQ8- α -I	EGSFQPSQE
DQ8-glia- γ 1a	DQ8- γ -Ia	EQPQQPFPQ
DQ8-glia- γ 1b	DQ8- γ -Ib	EQPQQPYPE
DQ8-glut-H1	HMW -glutenina	QGYYP TSPQ

**Secuencia de aminoácidos en un código de una letra. En rojo: los residuos de glutamato (E) debidos a la deamidación de TG2 que son importantes para la unión a la molécula DQ2/8. En azul: otros residuos de glutamina (Q), potenciales sustratos para TG2⁴¹.*

No obstante, quedan por identificar los receptores de estos péptidos tóxicos, comprender mejor su interacción con los enterocitos y cómo ocurre el transporte transepitelial de estos péptidos. Experimentos de transcitosis llevados a cabo in vivo, sugieren que el receptor de transferrina CD71, puede mediar la translocación de los complejos de péptidos de gliadinas/ IgA anti-gliadinas⁵⁶. Se ha descrito, en pacientes celíacos con EC, un elevado transporte transepitelial desde la membrana apical hacia la membrana basal en los enterocitos, incrementada por IFN- γ ⁵³ (Tabla 2) (Figura 3).

El conocimiento actual de la patogenia de la EC involucra dos clases de péptidos tóxicos: aquellos que son capaces de inducir un cambio muy rápido en la mucosa, mediante mecanismos inflamatorios e innatos, y otros, que generan la respuesta adaptativa. Ambas vías interactúan y se potencian la una a la otra para mantener el proceso crónico del daño intestinal^{42,57}.

En conclusión, los estudios que buscan incrementar nuestro conocimiento sobre las secuencias tóxicas de gliadinas y gluteninas, así como de los péptidos homólogos presentes en otros cereales tóxicos, tienen gran importancia para comprender muchos aspectos de la patogenia de la enfermedad celíaca.

Los mecanismos y secuencias responsables de la inducción de reacciones inflamatorias, todavía no son bien comprendidas. Algunas de estas vías inflamatorias podrían también tener un papel central en otra entidad clínica llamada Sensibilidad al Gluten no Celíaca.

El desarrollo de herramientas analíticas para la detección de gliadinas y gluteninas en alimentos destinados al consumo por pacientes con EC, requiere información inmunoquímica precisa sobre la reactividad de los anticuerpos utilizados. El desarrollo de nuevos métodos requiere además, la identificación de las secuencias apropiadas de estas proteínas como blanco tanto para la detección mediante técnicas inmunoquímicas y no inmunoquímicas. Adicionalmente, los péptidos de gliadinas pueden ser usados para la detección de anticuerpos específicos: en particular, algunas secuencias con glutaminas deamidadas son una herramienta muy útil en ensayos de serología para la detección de pacientes con EC.

Referencias

1. Shewry PR, Halford NG. *Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization*. J Exp Botany 2002; 53(370): 947-58.
<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/53.370.947>
2. Shewry PR, Tatham AS. *The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution*. Biochem J. 1990; 267: 1-12.
PMid:2183790 PMCID:PMC1131235
3. Delcour JA, Joye IJ, Pareyt B, Wilderjans E, Brijs K, Lagrain B. *Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products*. Annu Rev Food Sci Technol. 2012; 3: 469-92.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>
PMid:22224557
4. Kagnoff MF. *Overview and pathogenesis of celiac disease*. Gastroenterology 2005; 128(2 Suppl 1): S10-8.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.008>
PMid:15825116
5. Bushuk W, Zillman RR. *Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams*. Can J Plant Sci. 1978; 58: 505-15.
<http://dx.doi.org/10.4141/cjps78-076>
6. Kasarda DD, Okita TW, Bernardin JE, Baecker PA, Nimmo CC, Lew EJ et al. *Nucleic acid (cDNA) and amino acid sequences of a-type gliadins from wheat (Triticum aestivum)*. Proc Natl Acad Sci (USA). 1984; 81: 4712-6.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.15.4712>
7. Kasarda DD, Autran JC, Lew EJ, Nimmo CC, Shewry PR. *N-terminal amino acid sequences of [omega]-gliadins and w-secalins. Implications for the evolution of prolamin genes*. Biochim Biophys Acta. 1983; 747: 138-50.
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838\(83\)90132-2](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838(83)90132-2)
8. Van Herpen TW, Goryunova SB, van der Schoot J, Mitreva M, Salentijn E, Vorst et al. *Alpha-gliadin genes from the A, B and D genomes of wheat contain different sets of celiac disease epitopes*. BMC Genomics. 2006; 7: 1-13.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-7-1>
PMid:16403227 PMCID:PMC1368968
9. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
PMid:12209133
10. Tatham AS, Mifflin BJ, Shewry PR. *The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: relationships to gluten elasticity*. Cereal Chem. 1985; 62: 405-12.

11. Schofield JD, Bottomley RC, Timms MF, Booth MR. *The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions.* J. Cereal Sci. 1983; 1: 241-53.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210\(83\)80012-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210(83)80012-5)
12. Andrews JL, Skerritt JH. Quality-related epitopes of High Mr. subunits of wheat glutenin. J Cereal Sci. 1994; 19: 219-29.
<http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1994.1029>
13. Goldsbrough AP, Bulleid NJ, Freedman RB, Flavell RB. *Conformational differences between two wheat HMW-glutenin subunits are due to a short region containing six amino acid differences.* Biochem J. 1989; 263: 837-42.
PMid:2597130 PMCID:PMC1133506
14. Skerritt JH, Hill AS. *Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods.* J Assoc Off Anal Chem. 1991; 74: 257-64.
PMid:2050607
15. Chirido FG, Fossati CA, Añón MC. *Fractionation of wheat, barley and rye prolamins by cation-exchange FPLC.* J Agric Food Chem. 1994; 42: 2460-5.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf00047a018>
16. Shimoni Y, Blechl AE, Anderson OD, Galili G. *A recombinant protein of two high molecular weight glutenins alters gluten polymer formation in transgenic wheat.* J Biol Chem. 1997; 272(24): 15488-9.
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.272.24.15488>
PMid:9182582
17. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy Y et al. *The intestinal T cell response to alpha gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase.* J Exp Med. 2000A; 191: 603-12.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.191.4.603>
PMid:10684852 PMCID:PMC2195837
18. Arentz-Hansen EH, McAdam SN, Molberg O, Kristiansen C, Sollid LM. *Production of a panel of recombinant gliadins for the characterisation of T cell reactivity in coeliac disease.* Gut. 2000B; 46: 46-51.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.46.1.46>
PMid:10601054 PMCID:PMC1727782
19. Festenstein GN, Hay FC, Shewry PR. *Immunochemical relationships of the prolamins storage proteins of barley, wheat, rye and oats.* Biochim Biophys Acta. 1987; 912: 371-83.
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838\(87\)90042-2](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838(87)90042-2)
20. Ellis HJ, Doyle AP, Wieser H, Sturgess RP, Day P, Ciclitira PJ. *Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a sequenced peptide of alpha-gliadin from the coeliac-activating domain I.* J Biochem Biophys Methods. 1994; 28(1): 77-82.
[http://dx.doi.org/10.1016/0165-022X\(94\)90066-3](http://dx.doi.org/10.1016/0165-022X(94)90066-3)

21. Chirido FG, Añón MA, Fossati CA. *Optimization of a competitive ELISA for quantification of prolamins in food*. Food and Agricultural Immunology. 1995; 7(4): 333-43.
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109509354893>
22. Chirido FG, Añón MC, Fossati CA. *Development of high sensitive enzyme immunoassays for gliadin quantification using the streptavidin-biotin amplification system*. Food Agric Immunol. 1998; 10(2): 143-55.
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109809354977>
23. Sánchez D, Tucková L, Burkhard M, Plicka J, Mothes T, Hoffmanová I et al. *Specificity analysis of anti-gliadin mouse monoclonal antibodies used for detection of gliadin in food for gluten-free diet*. J Agric Food Chem. 2007; 4; 55(7): 2627-32.
24. Kahlenberg F, Sánchez D, Lachmann I, Tuckova L, Tlaskalova H, Méndez E et al. *Monoclonal antibody R5 for detection of putatively celiac-toxic gliadin peptides*. Eur Food Res Technol. 2006; 222: 78-82.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-005-0100-4>
25. Moron B, Bethune MT, Comino I, Manyani H, Ferragud M, López MC et al. *Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: Characterization of monoclonal antinboides to a main immunogenic gluten peptide*. PloS One. 2008 May 28; 3(5):e2294.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002294>
PMid:18509534 PMCID:PMC2386552
26. Mujico JR, Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, Verheijen R, van Wichen P, Streppel L et al. *Validation of a new enzyme-linked immunosorbent assay to detect the triggering proteins and peptides for celiac disease: interlaboratory study*. J AOAC Int. 2012; 95(1): 206-15.
<http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.11-042>
PMid:22468361
27. Nassef HM, Bermudo-Redondo MC, Ciclitira PJ, Ellis HJ, Fragoso A, O'Sullivan CK. *Electrochemical immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin in foodstuff*. Anal Chem. 2008; 80(23): 9265-71.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac801620j>
PMid:19551990
28. Laube T, Kergaravat SV, Fabiano SN, Hernández SR, Alegret S, Pividori MI. *Magneto immunosensor for gliadin detection in gluten-free foodstuff: towards food safety for celiac patients*. Biosens Bioelectron. 2011; 27(1): 46-52.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2011.06.006>
PMid:21764291
29. Hernández M, Esteve T, Pla M. *Real-time polymerase chain reaction based assays for quantitative detection of barley, rice, sunflower, and wheat*. J Agric Food Chem. 2005; 53(18): 7003-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf050797j>
PMid:16131102

30. Van Eckert R, Berghofer E, Ciclitira PJ, Chirido FG, Denery-Papini S, Ellis J et al. *Towards a new gliadin reference material- Isolation and characterisation*. J Cereal Sc. 2006; 43: 331-41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.009>
31. Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O et al. *Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1*0501,beta 1*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients*. J Exp Med. 1993; 178(1): 187-96.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.178.1.187>
PMid:8315377
32. Johansen BH, Buus S, Vartdal F, Viken H, Eriksen JA, Thorsby E et al. *Binding of peptides to HLA-DQ molecules: peptide binding properties of the disease-associated HLA-DQ(alpha 1*0501, beta 1*0201) molecule*. Int Immunol. 1994; 6(3): 453-61.
<http://dx.doi.org/10.1093/intimm/6.3.453>
PMid:8186196
33. Van de Wal Y, Kooy YM, van Veelen PA, Peña SA, Mearin LM, Molberg Ø et al. *Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin*. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95(17): 10050-4.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.17.10050>
Pmid:9707598 PMCID:PMC21459
34. Qiao SW, Bergseng E, Molberg Ø, Xia J, Fleckenstein B, Khosla C et al. *Antigen presentation to celiac lesion-derived T cells of a 33-mer gliadin peptide naturally formed by gastrointestinal digestion*. J Immunol. 2004; 173(3): 1757-62.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.173.3.1757>
PMid:15265905
35. Ráki M, Schjetne KW, Stammaes J, Molberg Ø, Jahnsen FL, Issekutz TB et al. *Surface expression of transglutaminase 2 by dendritic cells and its potential role for uptake and presentation of gluten peptides to T cells*. Scand J Immunol. 2007; 65(3): 213-20.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2006.01881.x>
PMid:17309775
36. Van de Wal Y, Kooy Y, Van Veelen P, Pena S, Mearin L, Papadopoulos G et al. *Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadinspecific T cell reactivity*. J Immunol. 1998; 161: 1585-8.
PMid:9712018
37. Moldberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Scott H et al. *Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut -derived T cells in coeliac disease*. Nature Med. 1998; 4(6): 713-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/nm0698-713>

38. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AVS. *In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T cell epitope*. *Nature Med.* 2000; 6: 337-42.
<http://dx.doi.org/10.1038/73200>
PMid:10700238
39. Molberg O, Uhlen AK, Jensen T, Flaete NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H et al. *Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease*. *Gastroenterology.* 2005; 128(2): 393-401.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.003>
PMid:15685550
40. Sollid LM, Qiao SW, Anderson RP, Gianfrani C, Koning F. *Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules*. *Immunogenetics.* 2012; 64(6): 455-60.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>
PMid:22322673 PMCID:PMC3349865
41. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. *Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis*. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 493-525.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>
PMid:22322673 PMCID:PMC3349865
42. Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Celiac disease: an immunological jigsaw*. *Immunity.* 2012; 36(6): 907-19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>
PMid:22749351
43. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM et al. *Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue*. *Science.* 2002; 297(5590): 2275-9.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074129>
PMid:12351792
44. Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, De Ru A, Harris D, Benckhuijsen W et al. *The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides*. *Gastroenterology.* 2002; 122(7): 1729-37.
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.33606>
PMid:12055577
45. Howdle PD, Corazza GR, Bullen AW, Losowsky MS. *Gluten sensitivity of small intestinal mucosa in vitro: quantitative assessment of histologic change*. *Gastroenterology.* 1981; 80(3): 442-50.
PMid:7450439
46. Ellis HJ, Ciclitira PJ. *In vivo gluten challenge in celiac disease*. *Can J Gastroenterol.* 2001; 15(4): 243-7.
PMid:11331926

47. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Collier C, Schmitz J et al. *A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease*. *Immunity*. 2004; 21, 367-77.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>
PMid:15357948
48. Giovannini C, Sanchez M, Straface E, Scazzocchio B, Silano M, De Vincenzi M. *Induction of apoptosis in caco-2 cells by wheat gliadin peptides*. *Toxicology*. 2000; 145(1): 63-71.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00223-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00223-1)
49. Barone M, Gimigliano A, Castoria G, Paoletta G, Maurano F et al. *Growth factor-like activity of gliadin, an alimentary protein: implications for celiac disease*. *Gut* 2007; 56: 480-88.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.086637>
PMid:16891357 PMCID:PMC1856836
50. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S et al. *Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease*. *Lancet*. 2003; 362(9377): 30-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2)
51. Luciani A, Vilella VR, Vasaturo A, Giardino I, Pettoello-Mantovani M, Guido S et al. *Lysosomal accumulation of gliadin p31-43 peptide induces oxidative stress and tissue transglutaminase-mediated PPARgamma downregulation in intestinal epithelial cells and coeliac mucosa*. *Gut*. 2010; 59(3): 311-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.183608>
PMid:19951908
52. Terrazzano G, Sica M, Gianfrani C, Mazzarella G, Maurano F, De Giulio B et al. *Gliadin regulates the NK-dendritic cell cross-talk by HLA-E surface stabilization*. *J Immunol*. 2007; 179: 372-81.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.1.372>
PMid:17579058
53. Junker Y, Zeissig S, Kim S-J, Barisari D, Wieser H, Leffler DA et al. *Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of tolllike receptor 4*. *J Exp Med*. 2012; 209(13): 2395-2408.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20102660>
PMid:23209313 PMCID:PMC3526354
54. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3*. *Gastroenterology*. 2008; 135(1): 194-204 e3.
55. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Menard S, Candalh C et al. *Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease*. *J Exp Med*. 2008; 205(1): 143-54.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20071204>
PMid:18166587 PMCID:PMC2234361

56. Zimmer KP, Fischer I, Mothes T, Weissen-Plenz G, Schmitz M, Wieser H et al. Endocytotic segregation of gliadin peptide 31-49 in enterocytes. *Gut*. 2010; 59(3): 300-10.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.169656>
PMid:19654123

57. Sollid LM, Jabri B. Triggers and drivers of autoimmunity: lessons from celiac disease. *Nat Rev Immunol*. 2013 Apr; 13(4): 294-302.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri3407>
PMid:23493116 PMCID:PMC3818716162

CAPÍTULO 4

PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Celia Escudero-Hernández¹, José Antonio Garrote^{1,2}, Eduardo Arranz¹

¹Laboratorio de Inmunología de las Mucosas. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Universidad de Valladolid – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valladolid, España.

²Laboratorio de Genética, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España.

cescuder@ibgm.uva.es jagarrote@saludcastillayleon.es earranz@med.uva.es

Cómo citar este capítulo:

Escudero-Hernández C, Garrote JA, Arranz E. *Patogenia de la Enfermedad Celíaca*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La enfermedad celíaca es un trastorno inflamatorio crónico, de mediación inmune, que afecta a individuos genéticamente susceptibles al ingerir las proteínas del gluten presentes en cereales como el trigo, la cebada y el centeno. La interacción de los factores genéticos y ambientales conduce a la pérdida de tolerancia de estas proteínas y al desarrollo de lesiones intestinales caracterizadas por linfocitosis intraepitelial, destrucción de los enterocitos, remodelación de la mucosa y presencia de auto-anticuerpos frente a la transglutaminasa tisular (TG2). El modelo patogénico más ampliamente aceptado incluye alteraciones en la digestión alterada y el transporte transepitelial del gluten. Este capítulo se enfoca sobre los mecanismos de la inmunidad adaptativa que dependen de la estimulación de las células T CD4+ reactivas al gluten, que son capaces de reconocer péptidos del gluten desaminados por la TG2 presentados mediante moléculas HLA-DQ2/DQ8 y de producir citoquinas proinflamatorias, especialmente interferón gamma (IFN- γ). Además, en la respuesta inmune innata, el gluten tiene un efecto tóxico directo sobre el epitelio, cuyo principal mediador es la interleucina (IL)-15. Ello se manifiesta mediante la expresión de moléculas de estrés en los enterocitos y por la activación de la función citotóxica de las células T intraepiteliales CD8+. Algunos aspectos aún necesitan ser aclarados, especialmente a la interacción no específica entre el gluten y las células epiteliales, el paso de los péptidos del gluten hacia la lámina propia, la activación de la TG2, los mecanismos que regulan expresión de IL-15 y la producción de auto-anticuerpos.

Palabras clave

Ruptura de tolerancia, transporte transepitelial, IL15, IFN- γ , linfocitosis intraepitelial, linfocitos CD8+, TG2, HLA-DQ2/DQ8.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso inflamatorio con características autoinmunes que afecta a individuos genéticamente predispuestos. Es activada por la ingesta del gluten y otras proteínas relacionadas presentes en el trigo, cebada, centeno y posiblemente avena. La interacción de factores genéticos y ambientales conduce a la pérdida de la tolerancia al gluten y al desarrollo de lesiones intestinales caracterizadas por un incremento en los linfocitos epiteliales y en la lámina propia (LP), pérdida de vellosidades intestinales, destrucción de las células epiteliales y remodelación de la mucosa, además de la presencia de auto-anticuerpos frente a la enzima transglutaminasa tisular tipo 2 (TG2). La lesión y los cambios inflamatorios intestinales se resuelven con la retirada del gluten dietario¹. Se ha determinado que los pacientes con EC presentan otros cambios que afectan la digestión en la luz intestinal^{2,3}, la acción directa de los péptidos del gluten sobre el epitelio y el transporte de proteínas de gluten a través del epitelio hacia la LP^{4,5}.

La respuesta inmune inapropiada a las proteínas del gluten observadas en pacientes celíacos, incluyen tanto la inmunidad innata, como la adaptativa^{6,7}. El elemento clave en la patogenia de la EC es la activación de las células T CD4+ en la mucosa de la LP después del reconocimiento de los péptidos del gluten deamidados por la TG2 ligados a moléculas HLA de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC-II), llamadas HLA-II en humanos. La acción de la TG2 consiste en transformar ciertos residuos de glutamina en ácido glutámico, mediante enzimas digestivas, lo que resulta en la exposición de cargas negativas y aumento de la afinidad de las moléculas HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 con estos fragmentos de péptidos, resistentes a la digestión proteolítica. La activación de las células T CD4+ inicia una respuesta de citoquinas pro-inflamatorias de tipo Th1, con un predominio de IFN- γ , otras citoquinas, tales como el factor de necrosis tumoral TNF- α , la interleuquina IL-18 y la IL-21, junto con una reducción proporcional en la expresión de citoquinas reguladoras como la IL-10 y el factor de crecimiento transformante tipo beta TGF- β ^{8,9}. Por lo tanto, se genera una lesión en la mucosa del intestino delgado proximal, que puede causar malabsorción y/o una captación reducida de nutrientes. Las consecuencias clínicas y funcionales varían, dependiendo del grado de atrofia y de la transformación mucosa^{10,11}.

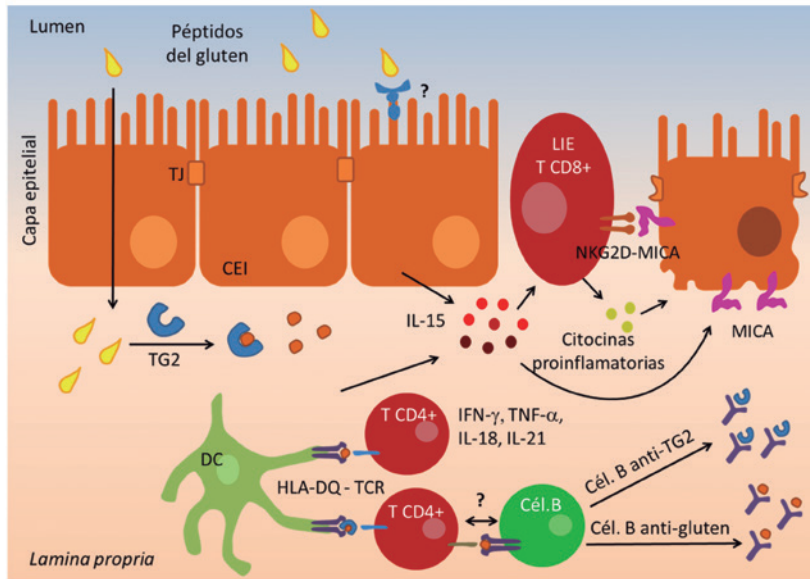


Figura 1. Respuesta inmunológica a los péptidos del gluten. La TG2 modifica los péptidos de gluten mediante desamidación; de este modo, las moléculas HLA-DQ tienen mayor probabilidad de ligar péptidos y estos son presentados a los linfocitos T CD4+ de la LP durante un lapso de tiempo más prolongado. Los linfocitos T CD4+ se activan y se dedican a producir citoquinas proinflamatorias (IFN- γ , TNF- α , IL-18 e IL-21); también pueden cooperar con la síntesis de anticuerpos a través de las células B. Estas se diferencian en células plasmáticas y segregan anticuerpos específicos frente a TG2, o gliadina. Las CEI pueden producir IL-15 después de la exposición a otros péptidos de gliadina. En conjunto, las citoquinas inflamatorias inducen a las CEI a expresar moléculas de estrés (MICA), el ligando de los receptores NKG2D en los LIEs activados. Finalmente los LIEs destruyen las CEI, aumentando la permeabilidad intestinal. CEI: células epiteliales intestinales; TJ: tight-junctions; TG2: transglutaminasa tisular 2; CD: células dendríticas; LIEs: linfocitos intraepiteliales; LP: lámina propia; TCR: receptor de células T; IFN- γ : interferón- γ ; TNF- α : factor de necrosis tumoral- α ; IL: interleuquina; MICA: secuencia A relacionada con polipéptidos MHC clase I; NKG2D: factor activador 2D de células natural killer.

No obstante, la activación de la respuesta de las células T CD4+ (inmunidad adaptativa), no es suficiente para generar la lesión mucosa característica de la EC. Algunos péptidos del gluten, tales como la α -gliadina p31-34 y p31-49, inducen cambios en la inmunidad innata, al actuar directamente sobre el epitelio, independientemente de las células T CD4+ y de la restricción molecular HLA-DQ2/DQ8. Ello se manifiesta mediante un aumento en la expresión de IL-15, la ciclooxigenasa IL-15 (COX)-y de los marcadores de activación CD25 y CD83, en las células mononucleares

de la LP¹². En la EC los linfocitos intestinales intraepiteliales del intestino, pierden la expresión de los receptores inhibidores tipo CD94/NKG2A, mientras que se aumenta la expresión de los receptores activadores NKG2D y CD94/NKG2C. Al mismo tiempo, las células epiteliales aumentan la expresión de los ligandos MIC y HLA-E respectivamente^{13,14}. El daño epitelial conduce a un incremento en la permeabilidad intestinal que puede facilitar el paso de péptidos de gliadina de mayor tamaño y parcialmente digeridos iniciando de ese modo un bucle de retroalimentación, que mantiene la reacción inflamatoria y la lesión intestinal (Figura 1).

2. El Epitelio Intestinal

El epitelio intestinal recubre el tracto gastrointestinal. Es la superficie mucosa más grande del cuerpo y separa la luz intestinal del tejido subyacente, donde se localiza el tejido linfoide asociado con el intestino (TLAE). La barrera física consiste de una sola capa de células columnares polarizadas (células epiteliales intestinales [CEIs]), unidas por las uniones estrechas que previenen la activación de respuestas inmunes sistémicas, que pueden promover la progresión de infecciones crónicas y enfermedades metabólicas¹⁵. Además el epitelio intestinal tiene propiedades auto-protectoras y auto-reguladoras, no sólo porque controla el crecimiento de nuevas células y la sustitución de células viejas, sino también porque algunas CEIs están especializadas para segregar moco (principalmente compuesto por proteínas MUC2) y péptidos antimicrobianos¹⁶ que regulan los niveles de bacterias saprofitas y patógenas, al mismo tiempo que limitan su resistencia a una respuesta antimicrobiana¹⁵.

El epitelio intestinal podría también estar implicado en la respuesta inmune, debido a la capacidad, por parte de las células M y las células caliciformes, para tomar muestras del contenido luminal y regular las respuestas mediante la expresión en membrana de diversos receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), tales como los receptores Toll-like (TLRs)¹⁷, que reconocen patrones comunes en organismos patógenos, los receptores tipo NOD-like (NLRs)¹⁸, que detectan moléculas ajenas, o marcadores de daño celular en el citosol y receptores RIG-I-like (RLRs)¹⁹, que reconocen el ácido ribonucleico viral (ARNv). No obstante, la necesidad de tolerar microorganismos saprofitos y antígenos dietarios inocuos significa que las respuestas inmunes dependen más de la presencia de señales de peligro en estados de infección y estrés inducido por microorganismos invasivos. El término vita-PAMP ha sido acuñado para referirse a los receptores de viabilidad y receptores de patrones moleculares asociados con patógenos involucrados en estos procesos²⁰. En condiciones normales (en ausencia de infección inflamación y/o de señales de peligro) el epitelio expresa un repertorio de moléculas que mantienen la homeostasis en la mucosa intestinal. Estas diversas moléculas incluyen entre otras, la denominada linfopoyetina estromal tímica (TSLP)^{21,22}, el TGF- β ^{21,22}, el ácido retinoico, la IL-25²³, el factor activador de células B (BAFF)²⁴ y el ligando inductor de proliferación de células B (APRIL)²⁵.

2.1. Transporte del Gluten a Través del Epitelio

En condiciones normales, las proteínas son hidrolizadas en el tracto intestinal, principalmente por las peptidasas gástricas y pancreáticas, lo que genera péptidos más pequeños o amino ácidos libres. Estos cruzan el epitelio intestinal mediante la ayuda de un co-transporte dependiente de iones de hidrógeno y del transporte activo secundario acoplado con sodio²⁶, y debido a su tamaño, no son fácilmente absorbidos y se acumulan la luz intestinal para cruzar el epitelio mediante una de las cuatro rutas alternativas: (1) La vía paracelular, a través de las uniones estrechas localizadas entre los enterocitos⁴. (2) La senda transcelular, mediante un mecanismo que involucra la endocitosis por los enterocitos y la degradación en lisosomas durante su tránsito a la membrana subyacente (una vía que parece estar alterada en la EC, ya que a los péptidos intactos se les permite cruzar el epitelio para alcanzar la LP^{5,27-29}). (3) La retrotranscitosis, un mecanismo dependiente de que los fragmentos de gliadina ligan con la inmunoglobulina A1 secretora (péptido-sIgA1) y posteriormente mediante la CD71, que es un receptor de transferrina, el cual se sobre-expresa en la región apical de las CEI en la EC activa³⁰. (4) Un acceso directo, mediante extensiones de las células dendríticas (CDs) derivadas de monocitos (fenotipo CD11c^{low} F4/80+ CX3CR1^{high}) emparedados entre las células epiteliales^{31,32} (Figura 2).

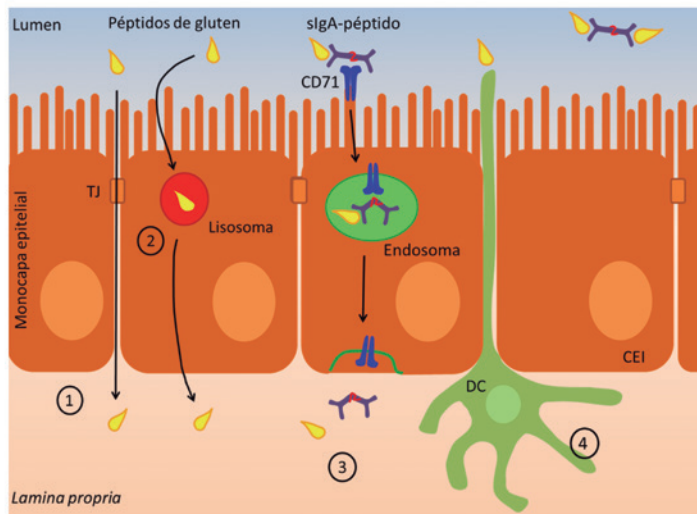


Figura 2. Transporte de gliadina a través de la capa epitelial. 1) Ruta paracelular: el gluten cruza la capa epitelial a través de las uniones estrechas localizadas entre los enterocitos. 2) Ruta transcelular: los Enterocitos efectúan la endocitosis y degradan las proteínas en los lisosomas; esta ruta se halla alterada en pacientes con enfermedad celíaca. 3) Retrotranscitosis: la IgA secretora liga péptidos de gliadina mediante interacción con el receptor de transferrina CD71, situado en la zona apical de los enterocitos. 4) Las células dendríticas pueden captar muestras de antígenos, directamente de la luz intestinal mediante las dendritas. TJ: tight-junctions (uniones estrechas); CEI: células epiteliales in-

testinales; DC: célula dendrítica; sIgA: inmunoglobulina A secretora.

El paso de péptidos del gluten a través del epitelio, no solo depende de la función de la barrera intestinal, sino también de los perfiles de expresión génica y de las cascadas de fosforilación de procesos metabólicos, proliferación y adhesión celular, entre otros^{33,34}. Se ha observado, al utilizar dos modelos de cultivo *in vitro* y en macacos sensibles al gluten, que el IFN- γ segregado por las células T activadas en la LP produce un aumento en la permeabilidad intestinal y promueve el paso del péptido 33-mer de la α -gliadina inmunoreactiva (p57-89)^{27,35,36}.

Dependiendo del grado de inflamación intestinal, el transporte paracelular podría también influir el transporte de péptidos a través del epitelio ya que la gliadina es capaz de ligar con el receptor de la quimiocina CXCR3, lo que activa el adaptador MyD88. Ello estimula la liberación de zonulina, una proteína que reestructura el citoesqueleto celular y modifica las uniones estrechas^{37,38}. Se ha observado en las biopsias de pacientes con EC activa, un incremento de la expresión ARNm de CXCL10 y CXCL11, así como niveles séricos elevados de CXCL10³⁹. El mismo estudio ha confirmado que la CXCL10 se produce en células plasmáticas y en los enterocitos, así como que su expresión se incrementa en presencia de IL-15. También se halló un incremento en la expresión de CXCR3 en células que infiltran en la mucosa intestinal (células T en el epitelio y en la LP, así como en células plasmáticas)³⁹.

3. Respuesta Adaptativa al Gluten

La transglutaminasa tisular (TG2) es el componente clave que explica la activación de la respuesta inmune adaptativa al gluten. La TG2 posee un papel fundamental en el mecanismo patogénico, ya que induce la modificación enzimática de los péptidos de gliadina inmunodominantes, lo que conduce a la expresión de cargas negativas en los residuos de aminoácidos en ciertas posiciones, incrementando así la afinidad por las moléculas HLA-DQ2/DQ8⁴⁰. Además la TG2 es el principal autoantígeno de los anticuerpos séricos específicos de mayor valor para el diagnóstico de la EC⁴¹ (Figura 2).

La TG2 se encuentra presente en diversos órganos y tejidos de todo el cuerpo. Esta enzima cataliza la formación de enlaces covalentes entre los grupos de carboxilo de glutamina y los grupos del aminoácido lisina.

Está involucrada en la apoptosis celular debido a que previene la salida de material citoplásmico y cuando se segrega fuera de la célula, colabora en la remodelación de la matriz extracelular durante la reparación de los tejidos⁴². Principalmente se le halla a nivel intracelular; pero aparece extracelularmente en respuesta al daño tisular. En el intestino normal, la TG2 se expresa en las áreas subepiteliales, en la mucosa de la LP y en el tejido conectivo que circunda las criptas; no obstante, en la EC, la TG2 también se expresa en la superficie apical de los enterocitos, lo que parece ser un efecto dependiente del gluten⁴³. Además puede que esta enzima tenga un papel en el mecanismo

de la retro-transcitosis y en el paso de los péptidos de gliadina a través del epitelio, ya que se ha demostrado que la TG2 puede interactuar con CD71 y con la IgAs en la superficie apical de los enterocitos, en biopsias de pacientes con EC. Los inhibidores de la TG2 parecen bloquear el transporte del péptido de gliadina p31-49, mediante esta vía⁴⁴.

Los efectos de la TG2 sobre los péptidos del gluten aparecen también en condiciones no fisiológicas (más moléculas donantes que aceptadoras) o con un pH menor de 7.0. En estas situaciones, la gliadina que posee un contenido de glutamina mayor del 30% es susceptible a los cambios inducidos por la TG2^{42,45}. Esto es de gran relevancia en la EC, debido a que los péptidos desamidados tienen una mayor afinidad por moléculas HLA-DQ y en particular, por HLA-DQ2^{1,46,47}. La estructura central de la hendidura del HLA-DQ2 liga con estos amino ácidos de carga negativa en las posiciones P4, P6 y P7, mientras que la molécula HLA-DQ8 lo hace de modo más externo en las posiciones P1, P4 y P9^{1,46,47}. El que los residuos desamidados se posicionen de modo diferente en cada péptido de gluten sugiere que la respuesta inmune específica al gluten puede ser activada por diversas razones patogénicas. El cambio enzimático inducido por TG2 desenmascara los epítomos de gliadina y otras prolamina, o bien conduce a la aparición de nuevos epítomos, debido a la interacción con proteínas de la matriz extracelular, lo que puede ser la causa de la pérdida de tolerancia y de la manifestación de las enfermedades autoinmunes asociadas¹.

No obstante, a pesar que la desamidación de los péptidos de gluten no es un requerimiento absoluto, esta reacción potencia la respuesta, tanto al incrementar la ligazón de péptidos inmunogénicos a las moléculas HLA-DQ2/DQ8, como al mejorar su capacidad estimuladora para presentar el antígeno y promover la activación de células T CD4+ específicas frente al gluten⁴⁸. Otra posibilidad es que la activación de la TG2 no sea un fenómeno primario en la respuesta inmune al gluten. Esta podría ser activada por la presencia de gluten nativo (no desamidado), lo que causaría una reacción inflamatoria capaz de activar la TG2 e iniciar su salida del citosol. Ello amplificaría la señal proinflamatoria y por lo tanto, la respuesta inmune al gluten^{29,49,50} (Figura 1). Además, la activación de la TG2 y otras enzimas en la mucosa intestinal podría ser el resultado de otros factores ambientales, tales como infecciones virales⁵¹, reacciones inflamatorias previas⁵² o un proceso de daño tisular⁵³.

3.1. Respuesta de las Células T ante el Gluten

La respuesta adaptativa mediada por las células T específicas de la LP precisa de la presentación de antígenos por parte de las células presentadoras de antígenos (CPAs) que portan el elemento de restricción HLA-DQ2/DQ8. En un duodeno normal, las CPA que expresan las moléculas HLA-DQ en la membrana suelen ser macrófagos (alrededor del 80%) que se caracterizan por un fenotipo tolerogénico CD103+CD11c+. No obstante, en la EC la mayoría de las CD parecen proceder del reclutamiento de monocitos de sangre periférica, con posterior maduración in situ con un fenotipo proinflamatorio (CD14+ CD11c+). Por el contrario, existen poblaciones celulares reducidas, con fenotipos tolerogénicos (CDs CD103+CD11c+ y macrófagos CD163+CD11c-)⁵⁴.

La presencia de altos niveles de IFN- α en la mucosa de pacientes con EC, puede ser un factor crítico en la diferenciación proinflamatoria de las CD⁵⁵, como lo sugieren la aparición de una EC en pacientes con hepatitis C tratados con IFN- α ⁵⁶ y la predisposición a su desarrollo observada en individuos con síndrome de Down (ya que el cromosoma 21 contiene el gen que codifica para el receptor IFN- α)⁵⁷.

Aparte de su participación en la presentación de epítomos de gliadina en los nodos linfáticos mesentéricos, las moléculas HLA-DQ2 y DQ8 pueden también presentar neo-epítomos y complejos TG2-gluten-péptidos a las células T CD4⁺ en la mucosa de la LP^{58,59}. Estos linfocitos activados inician una respuesta proinflamatoria, caracterizada por la secreción de citoquinas Th1 con predominio de IFN- γ así como TNF- α , IL-18 e IL-21, junto con una disminución en las citoquinas reguladoras IL-10 y TGF- β ^{8,60,61}. Este perfil de citoquinas y la producción de metaloproteinasas que descomponen las proteínas de la matriz extracelular podrían contribuir a las lesiones típicas observadas en la EC1 (Figura 1).

En el intestino sano el epitelio y la mucosa de la LP expresan TGF- β 1; pero en la EC, la expresión de esta citoquina está reducida y existe una pérdida de criptas que incrementa el número de macrófagos y células T activadas en la LP adyacente, donde no existe daño tisular⁶². Además el IFN- α podría estar involucrado en la diferenciación de células Th1 al intensificar la producción de IFN- γ . Se ha observado que la administración de IFN- α en individuos susceptibles, puede inducir una respuesta Th1, conductiva a lesiones hiperplásicas⁵⁵. Aunque no se ha confirmado ésto aún, es posible que el IFN- γ sea segregado por parte de fibroblastos y macrófagos activados, e inclusive por las CDs en la LP después de un episodio de infección intestinal⁶³. Es también posible que ello pudiera contribuir a la inflamación intestinal, al prevenir la apoptosis a las células T activadas, manteniendo a las células T de memoria después de que el estímulo haya desaparecido e incrementando la expresión de moléculas co-estimuladoras en las CPA locales⁵⁵. La IL-18 es una citoquina producida por macrófagos, CDs y células epiteliales, que actúa sobre las células de memoria y efectoras, intensificando la expresión de IFN- γ dependiente de IL-12 o IFN- α . En condiciones normales, el intestino expresa IL-18, pero esta expresión se eleva en la EC a expensas de su forma madura, lo que requiere la participación de la enzima convertidora de IL-1 β (ICE) o de proteinasas locales⁶⁰ (Figura 1).

3.2. Respuesta al Gluten de las Células B

La EC se caracteriza por la presencia de una variedad de auto-anticuerpos séricos y moléculas ajenas⁶⁴. En 1997 se identificó a la TG2 como el principal autoantígeno con reactividad de anticuerpo anti-endomisio⁴¹. Los anticuerpos IgA Anti-TG2 son producidos por células plasmáticas que infiltran la LP en el duodeno⁶⁵. Se ha observado en la EC activa un incremento de dos a tres veces de dichos anticuerpos en el área de la lesión. Los depósitos de IgA específicos para TG2 en el intestino también han sido descritos en todas las etapas de la enfermedad⁶⁶, aun antes de la manifestación de los síntomas o previo a la aparición de una lesión intestinal patológica⁶⁷.

Las células B son CPAs profesionales que interactúan con el antígeno, mediante el receptor BCR. En condiciones normales, el intestino contiene pocas células B vírgenes o de memoria, la mayoría son plasmablastos o células plasmáticas en la LP con baja expresión de moléculas HLA-II⁶⁸. Las células B probablemente poseen una participación más importante como CPAs en los nódulos linfáticos mesentéricos, donde podrían amplificar la respuesta de las células T frente al gluten. A pesar de que las células T específicas para TG2 no han sido aún identificadas, es posible que las células T CD4+ asistan en la diferenciación de las células B en células plasmáticas que produzcan anticuerpos anti-TG2 IgA e IgG que desaparecen cuando se retira el gluten de la dieta. Una posible explicación se basa en la capacidad de las células B de actuar como CPAs, ya que podrían presentar complejos de péptidos TG2-gluten vía HLA-DQ a células T específicas para el gluten, las cuales a su vez, proporcionarían la asistencia necesaria para la síntesis de anticuerpos⁶⁹. Además, los anticuerpos anti-TG2 podrían amplificar la respuesta inflamatoria al incrementar la absorción del gluten e inducir la activación de receptores Fc en los granulocitos locales³⁰ (Figura 1).

En la EC también se han descrito otros autoanticuerpos séricos que presentan específicamente, por ejemplo, frente a la actina diversos tipos de colágenos, miembros de la familia de la transglutaminasa (TG3, TG6) y el factor coagulante XIII⁷⁰. Debe notarse que los complejos IgA/TG3 han sido hallados en la piel de pacientes con dermatitis herpetiformis^{71,72} y que la presencia de anticuerpos para la enzima neuronal TG6 se ha asociado con ataxia por gluten⁷³. Estos hallazgos podrían explicar como se desarrollan las manifestaciones extraintestinales de la EC.

4. Respuesta Innata al Gluten

Algunos péptidos de gliadina han sido descritos con propiedades estimuladoras de la respuesta innata, los cuales actúan sobre las CEI y las CD, aunque se requiere aclarar cómo interactúan con el epitelio y cuales son las vías de señalización activadas por ellos. Estos péptidos no son reconocidos por las células T CD4+ en el contexto de las moléculas HLA-DQ2/DQ8 (tales como los péptidos p31-43 y p31-49 de la α -gliadina), que podrían alterar el procesamiento de proteínas y el tráfico intracelular en las CEI y/o activar una vía de estrés, la cual aún no ha sido identificada^{5,28,34}. La expresión incrementada de IL-15, ciclooxigenasa (COX)-2 y de los marcadores de activación CD25 y CD83 en las células mononucleares de la LP, ha sido descrita usando modelos de cultivo *ex vivo*, en biopsias de pacientes con EC¹². También se ha observado un incremento en la expresión de moléculas relacionadas en CEIs con el polipéptido MHC-clase I (MIC)⁷⁴. Por otra parte, algunos de estos péptidos de gliadina pueden comportarse de forma similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF) al retrasar la endocitosis de su receptor (EGFR) prolongando su activación⁷⁵. A pesar de que se ha demostrado que los pacientes con EC también expresan EGFR y que poseen una vía de señalización EGFR activada, tanto el EGFR y su vía de señalización se hallan constitutivamente alterados (mediante la fosforilación intensificada de la kinasa ERK). Ello sucede independientemente de la ingesta de gluten, lo que podría explicar el daño tan altamente específico que la gliadina ejerce sobre el epitelio³⁴. Aparte de estos péptidos, existen otros que pueden activar las CD al interactuar con TLR⁴⁷⁶, así como estabilizar la molécula MHC no clásica HLA-E en la

membrana⁷⁷. También podría incrementar la permeabilidad del intestino después de ligar con el receptor de quimiocinas CXCR3³⁷, un efecto que podría también deberse al debilitamiento de las uniones estrechas entre los enterocitos⁴.

4.1. El Papel de los Linfocitos Intraepiteliales

Los linfocitos intraepiteliales (LIE) son una población heterogénea ubicada en la zona basolateral de los enterocitos, con una distribución variable a lo largo del intestino. Los LIE se dividen en dos grupos: LIE naturales (T TCR $\alpha\beta$ y T TCR $\gamma\delta$) y LIE inducidos (T TCR $\alpha\beta$ CD4+ y T TCR $\alpha\beta$ CD8 $\alpha\beta$ +), que se definen por sus mecanismos de activación y por los antígenos que reconocen^{1,78} (Tabla 1). Las funciones de los LIE son la defensa frente a los diversos agentes infecciosos, la adquisición de memoria y el control de repuestas ante factores inoctrinos, así como el mantenimiento de la integridad epitelial⁷⁸ (Tabla 1).

No obstante su papel tolerogénico y protector, los LIEs pueden aumentar la severidad de patologías tales como la EC y la enfermedad inflamatoria intestinal⁷⁸⁻⁸⁰. Se ha descrito en la EC una correlación entre el número de células T TCR $\alpha\beta$ y la atrofia vellositaria⁸¹. También se ha observado que los LIE pasan por una transformación, adquiriendo un fenotipo citotóxico⁸². Existe además una proporción incrementada de LIE con TCR $\gamma\delta$ +, la que se mantiene aun bajo una dieta sin gluten estricta; ésta es una de las alteraciones más características de la EC⁸³⁻⁸⁵. Los LIE naturales comparten algunas de las características de preactivación de las células T CD4+ presentes en sangre y en la mucosa de la LP. A pesar de que poseen un umbral de activación más alto que el de estas últimas, en la EC podrían efectivamente, activarse en el intestino en respuesta a las moléculas proinflamatorias, e incluso convertirse en células autoreactivas^{78,86,87}. Bajo estas condiciones, los LIE citotóxicos interactúan vía las moléculas innatas NKG2D y CD94 con sus ligandos correspondientes, MICA y HLA-E expresados en las CEIs¹⁴. La linfocitosis intraepitelial ocurre como resultado, con destrucción de enterocitos y otras alteraciones tales como la atrofia vellositaria y la hiperplasia de criptas^{12,78} (Figura 1).

Tabla 1. Clasificación de las células del sistema inmune que podrían hallarse involucradas en la respuesta innata, o no específica, en contra del gluten en el epitelio. LIEs: linfocitos intraepiteliales; NK: natural killer; NKT: célula T NK; TCR: receptor de célula T; MHC: complejo mayor de histocompatibilidad; N/A: no aplicable.

	TCR	Restricción	Diferenciación	Funciones
LIEs naturales	A β o $\gamma\delta$	MHC	Timo	Tolerancia y protección contra dieta y microbiota en las primeras fases de la vida y protección posterior.
LIEs inducidos	$\alpha\beta$	MHC	Periférica	Adaptación a la dieta y la microbiota: defensa, memoria y mantenimiento de la integridad. Prevención de respuestas exageradas ante antígenos inocuos.
Células NK	N/A	N/A	Médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, amígdalas, timo.	Respuesta a virus y células tumorales.
Células NKT	Semi-invariable ($\alpha 24\beta 11$ y otras)	CD1d	Periférica	Protección contra células tumorales y enfermedades autoinmunes. Tolerancia oral.

Otras poblaciones de células que podrían participar en la patogenia de la EC son las células natural killer (NK) y las células NKT⁸⁸. Las células NK participan en respuestas frente a células infectadas por virus y tumores, independientemente del MHC y de la formación de anticuerpos⁸⁹. Se ha observado en pacientes con EC activa, una reducción en el número de células NK, al compararlos con un grupo control, o con pacientes que siguen una dieta sin gluten⁸⁵. A diferencia de las células NK, las células NKT forman un grupo heterogéneo que posee el complejo TCR en la membrana, así como receptores CD3 e IgG; en algunos subgrupos, también expresan un receptor semi-invariable (incluyendo TCR $\alpha 24\beta 11$)⁹⁰. Pueden activarse mediante TCRs, pero con independencia del MHC⁹⁰; inducen la producción de IL-10 epitelial⁹¹. No obstante, aún no se comprende plenamente el papel que desempeñan las células NKT en la EC y en otras enfermedades, ya que estas células pueden producir citoquinas de cualquier patrón, incluyendo las reguladoras⁹².

4.2. El Papel de las Interleucinas (IL)-15 e IL-21

La IL-15 es el principal mediador en la respuesta inmune innata inducida por el gluten, en el intestino. Esta citoquina pleiotrópica liga con su receptor específico, relacionado con el receptor IL-2, mediante una cadena α (IL-15R α) de alta afinidad. La unión entre IL-15 e IL-15R α es necesaria para la función de la citoquina y ocurre antes de la expresión de la IL-15 en la membrana⁹³ siendo uno de los muchos procesos involucrados en la compleja regulación de la IL-15⁹⁴. En la EC la IL-15 se produce en grandes cantidades en respuesta al gluten, no solo por parte de las CEIs,

sino también por parte de las células mononucleares, macrófagos y CD de la mucosa de la LP95. Dentro de este contexto, la IL-15 induce la reprogramación de los LIEs, así como el incremento de la expresión de las moléculas de estrés tipo MICA en los enterocitos⁹⁶, la activación de CDs^{97,98} y la modulación positiva de IL-21, una citoquina que también posee un papel importante en la patogenia de la EC^{99,100} (Figura 1). Se ha observado que los péptidos de gliadina incrementan la liberación de IL-15 en la mucosa intestinal, no solo en pacientes con EC, sino también en individuos no celíacos. No obstante, solamente la mucosa de pacientes con EC muestra una expresión aumentada del receptor IL-15R α , lo que podría conferirle a estos pacientes un menor umbral de respuesta a la IL-15¹⁰¹.

El hallazgo de una asociación entre la región génica IL2/IL21 y la susceptibilidad a la EC ha enfocado el interés sobre la IL-21, una citoquina determinante clave en la manifestación y en la persistencia de las lesiones intestinales en la EC. Se ha observado también un incremento en la expresión de IL-21 en las biopsias de pacientes con EC activa⁶¹. La producción de IL-21 se ubica en los linfocitos, tanto en la mucosa de la LP como en el epitelio, y es a veces co-expresada con IFN- γ . También se atribuye parte de esta producción a las células NKT¹⁰². Como se mencionó anteriormente, la expresión de IL-21 es inducida por la IL-15⁹⁹ y ambas parecen ser responsables del bloqueo de los mecanismos reguladores en la EC¹⁰³⁻¹⁰⁵. A pesar de que esta citoquina es producida por células Th17, otras que siguen este patrón no parecen estar incrementadas en la EC (excepto en un pequeño grupo de adultos con EC)^{106,107}.

Las dos citoquinas IL-15 y IL-21 pueden actuar juntas a través de diversas vías de señalización, para intensificar la resistencia de las células T CD4+ a las células T reguladoras (Treg) en la mucosa intestinal de los pacientes con EC. Se sabe que la IL-15 puede interferir con las señales anti-inflamatorias TGF- β 1/Smad3¹⁰⁴ y PI3K¹⁰³; pero aún no se han aclarado los mecanismos de acción de la IL-21¹⁰⁵. Finalmente la IL-15 también podría tener un papel importante en el desarrollo de la EC refractaria (ECR) y en el linfoma de células T asociado con enteropatía (EATL), al inducir proliferación y resistencia a la apoptosis de los LIE citotóxicos⁹⁵.

Referencias

1. Jabri B, Sollid LM. *Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease*. Nature reviews. Immunology. 2009; 9: 858-70.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri2670>
PMid:19935805
2. Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM, Khosla C. *Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides*. American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology. 2002; 283: G996-G1003.
<http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00136.2002>
PMid:12223360
3. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM et al. *Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue*. Science. 2002; 297: 2275-9.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074129>
PMid:12351792
4. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS et al. *Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function*. Gut. 2003; 52: 218-23.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.2.218>
PMid:12524403 PMCID:PMC1774976
5. Menard S, Lebreton C, Schumann M, MatysiakBudnik T, Dugave C, Bouhnik Y, et al. *Paracellular versus transcellular intestinal permeability to gliadin peptides in active celiac disease*. The American Journal of Pathology. 2012; 180: 608-15.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.10.019>
PMid:22119716
6. Sollid LM, Jabri B. *Triggers and drivers of autoimmunity: lessons from coeliac disease*. Nature reviews. Immunology. 2013; 13: 294-302.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri3407>
PMid:23493116 PMCID:PMC3818716
7. Qiao SW, Iversen R, Raki M, Sollid LM. *The adaptive immune response in celiac disease*. Seminars in immunopathology. 2012; 34: 523-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0314-z>
PMid:22535446
8. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM et al. *Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease*. Gastroenterology. 1998; 115: 551-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70134-9)

9. Leon AJ, Garrote JA, Blanco-Quiros A et al. *Interleukin 18 maintains a longstanding inflammation in coeliac disease patients*. Clinical and experimental immunology. 2006; 146: 479-85.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03239.x>
PMid:17100768 PMCID:PMC1810422
10. Marsh MN, Crowe PT. *Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity*. Bailliere's clinical gastroenterology. 1995; 9: 273-93.
[http://dx.doi.org/10.1016/0950-3528\(95\)90032-2](http://dx.doi.org/10.1016/0950-3528(95)90032-2)
11. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. *The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists*. European journal of gastroenterology & hepatology. 1999; 11: 1185-94.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199910000-00019>
12. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I et al. *Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease*. Lancet. 2003; 362: 30- 7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2)
13. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN et al. *Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease*. Immunity. 2004; 21: 357-66.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.020>
PMid:15357947
14. Meresse B, Curran SA, Ciszewski C et al. *Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in celiac disease*. J Exp Med. 2006; 203: 1343-55.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20060028>
PMid:16682498 PMCID:PMC2121214
15. Peterson LW, Artis D. *Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis*. Nature reviews. Immunology. 2014; 14: 141-53.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri3608>
PMid:24566914
16. Bevins CL, Salzman NH. *Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis*. Nature reviews. Microbiology. 2011; 9: 356-68.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2546>
PMid:21423246
17. Abreu MT. *Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function*. Nature reviews. Immunology. 2010; 10: 131- 44.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri2707>
PMid:20098461

18. Elinav E, Henao-Mejia J, Flavell RA. *Integrative inflammasome activity in the regulation of intestinal mucosal immune responses*. *Mucosal immunology*. 2013; 6: 4- 13.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.115>
PMid:23212196
19. Loo YM, Gale M Jr. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity*. 2011; 34, 680-92.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.003>
PMid:21616437 PMCID:PMC3177755
20. Sander LE, Davis MJ, Boekschoten MV, Amsen D, Dascher CC, Ryffel B et al. *Detection of prokaryotic mRNA signifies microbial viability and promotes immunity*. *Nature*. 2011; 474: 385-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature10072>
PMid:21602824 PMCID:PMC3289942
21. Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V et al. *Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells*. *Nature immunology*. 2005; 6: 507-14.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni1192>
PMid:15821737
22. Zaph C, Troy AE, Taylor BC et al. *Epithelial-cell-intrinsic IKK-beta expression regulates intestinal immune homeostasis*. *Nature*. 2007; 446: 552-6.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature05590>
PMid:17322906
23. Zaph C, Du Y, Saenz SA et al. *Commensal-dependent expression of IL-25 regulates the IL-23-IL-17 axis in the intestine*. *J Exp Med*. 2008; 205: 2191-8.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20080720>
PMid:18762568 PMCID:PMC2556798
24. Xu W, He B, Chiu A, Chadburn A, Shan M, Buldys M et al. *Epithelial cells trigger frontline immunoglobulin class switching through a pathway regulated by the inhibitor SLPI*. *Nature immunology*. 2007; 8: 294-303.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni1434>
PMid:17259987
25. He B, Xu W, Santini PA et al. *Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL*. *Immunity*. 2007; 26: 812-26.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2007.04.014>
Pmid:17570691
26. Daniel H. *Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport*. *Annual review of physiology*. 2004; 66: 361-84.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.66.032102.144149>
PMid:14977407

27. Schumann M, Richter, J.F, Wedell, I et al. *Mechanisms of epithelial translocation of the alpha(2)-gliadin-33mer in coeliac sprue*. Gut. 2008; 57: 747-754.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2007.136366>
PMid:18305066
28. Zimmer KP, Fisher I, Mothes T, Plenz G, Schmitz M, Wieser H. *Endocytotic segregation of gliadin peptide 31-49 in enterocytes*. Gut. 2010; 59, 300-10.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.169656>
PMid:19654123
29. Luciani A, Vilella VR, Vasaturo A, Giardino I, Mantovani M, Guido S. *Lysosomal accumulation of gliadin p31-43 peptide induces oxidative stress and tissue transglutaminase-mediated PPARgamma downregulation in intestinal epithelial cells and coeliac mucosa*. Gut. 2010; 59, 311-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.183608>
PMid:19951908
30. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Menard S, Candalh C et al. *Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease*. J Exp Med. 2008; 205: 143-54.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20071204>
PMid:18166587 PMCID:PMC2234361
31. Rescigno M, Di Sabatino A. *Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease*. The Journal of clinical investigation. 2009; 119: 2441-50.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI39134>
PMid:19729841 PMCID:PMC2735931
32. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. *Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms*. Annals of the New York Academy of Sciences. 2009; 1165: 195-205.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04037.x>
PMid:19538307 PMCID:PMC2886850
33. Bracken S, Byrne G, Kelly J, Jackson J, Feighery C. *Altered gene expression in highly purified enterocytes from patients with active coeliac disease*. BMC genomics. 2008; 9: 377.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-9-377>
PMid:18691394 PMCID:PMC2533024
34. Nanayakkara M, Lania G, Maglio M, Kosova R, Sarno M et al. *Enterocyte proliferation and signaling are constitutively altered in celiac disease*. PloS one. 2013; 8: e76006.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0076006>
PMid:24204586 PMCID:PMC3799793

35. Bethune MT, Siegel M, Howles-Banerji S, Khosla C. *Interferon-gamma released by gluten-stimulated celiac disease-specific intestinal T cells enhances the transepithelial flux of gluten peptides*. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2009; 329: 657-68.
<http://dx.doi.org/10.1124/jpet.108.148007>
PMid:19218531 PMCID:PMC2672868
36. Mazumdar K, Alvarez X, Borda JT et al. *Visualization of transepithelial passage of the immunogenic 33-residue peptide from alpha-2 gliadin in gluten-sensitive macaques*. PloS one. 2010; 5: e10228.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0010228>
PMid:20419103 PMCID:PMC2856682
37. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3*. Gastroenterology. 2008; 135: 194-204 e193.
38. Palova-Jelinkova L, Danova K, Drasarova H et al. *Pepsin digest of wheat gliadin fraction increases production of IL-1beta via TLR4/MyD88/TRIF/MAPK/NF-kappaB signaling pathway and an NLRP3 inflammasome activation*. PloS one. 2013; 8: e62426.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062426>
PMid:23658628 PMCID:PMC3639175
39. Bondar C, Araya RE, Guzman L, Rua EC, Chopita N et al. *Role of CXCR3/CXCL10 Axis in Immune Cell Recruitment into the Small Intestine in Celiac Disease*. PloS one. 2014; 9: e89068.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089068>
PMid:24586509 PMCID:PMC3930692
40. Arentz-Hansen H, Körner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YM et al. *The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase*. J Exp Med. 2000; 191: 603-12.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.191.4.603>
PMid:10684852 PMCID:PMC2195837
41. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al. *Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease*. Nature medicine. 1997; 3: 797-801.
<http://dx.doi.org/10.1038/nm0797-797>
PMid:9212111
42. Bruce SE, Bjarnason I, Peters TJ. *Human jejunal transglutaminase: demonstration of activity, enzyme kinetics and substrate specificity with special relation to gliadin and coeliac disease*. Clin Sci (Lond). 1985; 68: 573-9.
43. Biagi F, Biagi F, Campanella J, Laforenza U, Gastaldi G, Tritto S et al. *Transglutaminase 2 in the enterocytes is coeliac specific and gluten dependent*. Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2006; 38: 652-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2006.05.021>
PMid:16916632

44. Lebreton C, Ménard S, Abed J, Moura IC, Coppo R et al. *Interactions among secretory immunoglobulin A, CD71, and transglutaminase-2 affect permeability of intestinal epithelial cells to gliadin peptides.* Gastroenterology. 2012; 143: 698-707, e691-694.
45. Wieser H. *Chemistry of gluten proteins.* Food Microbiol. 2007; 24, 115-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
PMid:17008153
46. Kim CY, Quarsten H, Bergseng E, Khosla C, Sollid LM. *Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004; 101: 4175-9.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0306885101>
PMid:15020763 PMCID:PMC384714
47. Henderson KN, Tye-Din JA, Reid HH, Chen Z, Borg NA, Beissbarth T et al. *A structural and immunological basis for the role of human leukocyte antigen DQ8 in celiac disease.* Immunity. 2007; 27: 23-34.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2007.05.015>
PMid:17629515
48. van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Peña S, Mearin L, Papadopoulos G et al. *Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity.* J Immunol. 1998; 161: 1585-8.
PMid:9712018
49. Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O et al. *Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1*0501,beta 1*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients.* J Exp Med. 1993; 178: 187-196.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.178.1.187>
PMid:8315377
50. Lundin KE, Scott H, Fausa O, Thorsby E, Sollid LM. *T cells from the small intestinal mucosa of a DR4, DQ7/DR4, DQ8 celiac disease patient preferentially recognize gliadin when presented by DQ8.* Human immunology. 1994; 41: 285-91.
[http://dx.doi.org/10.1016/0198-8859\(94\)90047-7](http://dx.doi.org/10.1016/0198-8859(94)90047-7)
51. Zanoni G, Navone R, Lunardi C et al. *In celiac disease, a subset of autoantibodies against transglutaminase binds toll-like receptor 4 and induces activation of monocytes.* PLoS medicine. 2006; 3: e358.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0030358>
PMid:16984219 PMCID:PMC1569884
52. Farrace MG, Picarelli A, Di Tola M et al. *Presence of anti-"tissue" transglutaminase antibodies in inflammatory intestinal diseases: an apoptosis-associated event?* Cell death and differentiation. 2001; 8: 767-70.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.cdd.4400880>
PMid:11464221
53. Siegel M, Strnad P, Watts RE, Choi K, Jabri B, Omary MB et al. *Extracellular transglutaminase 2 is catalytically inactive, but is transiently activated upon tissue injury.* PloS one. 2008; 3: e1861.

54. Beitnes AC, Raki M, Lundin KE, Jahnsen J, Sollid LM et al. *Rapid accumulation of CD14+CD11c+ dendritic cells in gut mucosa of celiac disease after in vivo gluten challenge*. PloS one. 2012; 7: e33556.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0033556>
PMid:22438948 PMCID:PMC3306402
55. Monteleone G, Pender SLF, Alstead E, Hauer AC, Lionetti P, McKenzie C et al. *Role of interferon alpha in promoting T helper cell type 1 responses in the small intestine in coeliac disease*. Gut. 2001; 48: 425-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.48.3.425>
PMid:11171837 PMCID:PMC1760133
56. Cammarota G, Cuoco L, Cianci R, Pandolfi F, Gasbarrini G. *Onset of coeliac disease during treatment with interferon for chronic hepatitis C*. Lancet. 2000; 356: 1494-5.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02880-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02880-4)
57. George EK, Mearin ML, Bouquet J, von Blomberg BM, Stapel SO, van Elburg RM et al. *High frequency of celiac disease in Down syndrome*. The Journal of pediatrics. 1996; 128: 555-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(96\)70369-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(96)70369-4)
58. Qiao SW, Bergseng E, Molberg O, Jung G, Fleckenstein B, Sollid LM. *Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ2 molecule in celiac disease: importance of proline spacing and glutamine deamidation*. J Immunol. 2005; 175: 254-61.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.175.1.254>
Pmid:15972656
59. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Ara C, Biagi F, Perilli M, Amicosante G. *Gliadin and tissue transglutaminase complexes in normal and coeliac duodenal mucosa*. Clinical and experimental immunology. 2003; 134: 516-24.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2003.02326.x>
PMid:14632760 PMCID:PMC1808891
60. Salvati VM, MacDonald TT, Bajaj-Elliott M et al. *Interleukin 18 and associated markers of T helper cell type 1 activity in coeliac disease*. Gut. 2002; 50: 186-90.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.2.186>
PMid:11788557 PMCID:PMC1773110
61. Fina D, Sarra M, Caruso R et al. *Interleukin 21 contributes to the mucosal T helper cell type 1 response in coeliac disease*. Gut. 2008; 57: 887-92.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2007.129882>
PMid:17965065
62. Lionetti P, Pazzaglia A, Moriondo M, Azzari C, Resti M, Amorosi A, et al. *Differing patterns of transforming growth factor-beta expression in normal intestinal mucosa and in active celiac disease*. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 1999; 29: 308-13.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-199909000-00013>
PMid:10467997

63. Di Sabatino A, Pickard KM, Gordon JN, Salvati V, Mazzarella G, Beattie RM et al. *Evidence for the role of interferon-alfa production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease*. Gastroenterology. 2007; 133: 1175-87.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.08.018>
PMid:17919493
64. Dieterich W, Storch WB, Schuppan D. *Serum antibodies in celiac disease*. Clin Lab. 2000; 46: 361-4.
PMid:10934583
65. Di Niro R, Mesin L, Zheng NY, Stammaes J, Morrissey M, Lee JH. *High abundance of plasma cells secreting transglutaminase 2-specific IgA autoantibodies with limited somatic hypermutation in celiac disease intestinal lesions*. Nature medicine. 2012; 18: 441-5.
<http://dx.doi.org/10.1038/nm.2656>
PMid:22366952
66. Brandtzaeg P. *The changing immunological paradigm in coeliac disease*. Immunology letters. 2006; 105: 127-39.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2006.03.004>
Pmid:16647763
67. Mesin L, Sollid LM, Di Niro R. *The intestinal B-cell response in celiac disease*. Frontiers in immunology. 2012; 3: 313.
<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2012.00313>
PMid:23060888 PMCID:PMC3463893
68. Farstad IN, Carlsen H, Morton HC, Brandtzaeg P. *Immunoglobulin A cell distribution in the human small intestine: phenotypic and functional characteristics*. Immunology. 2000; 101: 354-63.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00118.x>
PMid:11106939 PMCID:PMC2327091
69. Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin KE. *Autoantibodies in coeliac disease: tissue transglutaminase - guilt by association?* Gut. 1997; 41: 851-2.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.41.6.851>
PMid:9462222 PMCID:PMC1891617
70. Alaedini A, Green PH. *Autoantibodies in celiac disease*. Autoimmunity. 2008; 41: 19-26.
<http://dx.doi.org/10.1080/08916930701619219>
PMid:18176861
71. Sardy M, Karpati S, Merkl B, Paulsson M, Smyth N. *Epidermal transglutaminase (TGase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis*. J Exp Med. 2002; 195: 747- 57.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20011299>
PMid:11901200 PMCID:PMC2193738

72. Qiao SW, Iversen R, Raki M, Sollid LM. *The adaptive immune response in celiac disease*. Semin Immunopathol. 2012; 34: 523-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0314-z>
PMid:22535446
73. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Strigun A et al. *Autoantibodies in gluten ataxia recognize a novel neuronal transglutaminase*. Ann Neurol. 2008; 64: 332-43.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.21450>
PMid:18825674
74. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J et al. *A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease*. Immunity. 2004; 21: 367-77.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>
PMid:15357948
75. Barone MV, Gimigliano A, Castoria G, Paoella G, Maurano F, Paparo F et al. *Growth factor-like activity of gliadin, an alimentary protein: implications for coeliac disease*. Gut. 2007; 56: 480-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.086637>
PMid:16891357 PMCID:PMC185
76. Junker Y, Zeissig S, Kim SJ, Barisani D, Wieser H, Leffler DA et al. *Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4*. J Exp Med. 2012; 209: 2395-408.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20102660>
PMid:23209313 PMCID:PMC3526354
77. Terrazzano G, Sica M, Gianfrani C, Mazzarella G, Maurano F, De Giulio B, de Saint-Mezard S et al. *Gliadin regulates the NK-dendritic cell cross-talk by HLA-E surface stabilization*. J Immunol. 2007; 179: 372-81.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.1.372>
PMid:17579058
78. Cheroutre H, Lambolez F, Mucida D. *The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes*. Nature reviews. Immunology. 2011; 11, 445-56.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri3007>
PMid:21681197 PMCID:PMC3140792
79. Qiu Y, Yang H. *Effects of Intraepithelial Lymphocyte-Derived Cytokines on Intestinal Mucosal Barrier Function*. Journal of interferon & cytokine research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research. 2013.
80. Cheroutre H. In IBD eight can come before four. Gastroenterology. 2006; 131: 667- 70.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.041>
PMid:16890619

81. Kutlu T, Brousse N, Rambaud C, Le Deist F, Schmitz J, Cerf-Bensussan N. *Numbers of T cell receptor (TCR) alpha beta+ but not of TcR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet.* Gut. 1993; 34: 208-14.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.34.2.208>
PMid:8432475 PMCID:PMC1373972
82. Spencer J, MacDonald TT, Diss TC, Walker-Smith JA, Ciclitira PJ, Isaacson PG. *Changes in intraepithelial lymphocyte subpopulations in coeliac disease and enteropathy associated T cell lymphoma (malignant histiocytosis of the intestine).* Gut. 1989; 30: 339-46.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.30.3.339>
PMid:2785074 PMCID:PMC1378456
83. Halstensen TS, Scott H, Brandtzaeg P. *Intraepithelial T cells of the TcR gamma/delta+ CD8- and V delta 1/J delta 1+ phenotypes are increased in coeliac disease.* Scandinavian journal of immunology. 1989; 30: 665-72.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.1989.tb02474.x>
Pmid:24813
84. Arranz E, Bode J, Kingstone K, Ferguson A. *Intestinal antibody pattern of coeliac disease: association with gamma/delta T cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes, and other indices of potential coeliac disease.* Gut. 1994; 35: 476-82.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.35.4.476>
PMid:8174984 PMCID:PMC1374795
85. Leon F. *Flow cytometry of intestinal intraepithelial lymphocytes in celiac disease.* Journal of immunological methods. 2011; 363: 177-86.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2010.09.002>
PMid:20833175
86. Guehler SR, Finch RJ, Bluestone JA, Barrett TA. *Increased threshold for TCR-mediated signaling controls self reactivity of intraepithelial lymphocytes.* J Immunol. 1998; 160: 5341-6.
PMid:9605133
87. Han A et al. *Dietary gluten triggers concomitant activation of CD4+ and CD8+ alphabeta T cells and gammadelta T cells in celiac disease.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2013; 110: 13073- 8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1311861110>
PMid:23878218 PMCID:PMC3740842
88. Calleja S, Vivas S, Santiuste M, Arias L, Hernando M, Nistal E et al. *Dynamics of non-conventional intraepithelial lymphocytes-NK, NKT, and gammadelta T-in celiac disease: relationship with age, diet, and histopathology.* Digestive diseases and sciences. 2011; 56: 2042-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-010-1534-5>
PMid:21221796

89. Caligiuri MA. *Human natural killer cells*. Blood. 2008; 112: 461-9.
<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>
PMid:18650461 PMCID:PMC2481557
90. Middendorp S, Nieuwenhuis EE. *NKT cells in mucosal immunity*. Mucosal immunology. 2009; 2: 393-402.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2009.99>
PMid:19587641
91. Colgan SP, Hershberg RM, Furuta GT, Blumberg RS. *Ligation of intestinal epithelial CD1d induces bioactive IL-10: critical role of the cytoplasmic tail in autocrine signaling*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1999; 96: 13938-43.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.24.13938>
PMid:10570177 PMCID:PMC24169
92. Godfrey DI, Kronenberg M. *Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells*. The Journal of clinical investigation. 2004; 114: 1379- 88.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI200423594>
93. Duitman EH, Orinska Z, Bulanova E, Paus R, Bulfone-Paus S. *How a cytokine is chaperoned through the secretory pathway by complexing with its own receptor: lessons from interleukin-15 (IL-15)/IL-15 receptor alpha*. Molecular and cellular biology. 2008; 28: 4851-61.
<http://dx.doi.org/10.1128/MCB.02178-07>
PMid:18505820 PMCID:PMC2493373
94. Budagian V, Bulanova E, Paus R, Bulfone-Paus S. *IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe*. Cytokine & growth factor reviews. 2006; 17: 259-80.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.05.001>
PMid:16815076
95. Pagliari D, Cianci R, Frosali S, Landolfi R, Cammarota G, Newton EE. *The role of IL-15 in gastrointestinal diseases: A bridge between innate and adaptive immune response*. Cytokine & growth factor reviews. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2013.05.004>
PMid:23791986
96. Martin-Pagola A, Pérez-Nanclares G, Ortiz L, Vitoria JC, Hualde I et al. *MICA response to gliadin in intestinal mucosa from celiac patients*. Immunogenetics. 2004; 56: 549-54.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-004-0724-8>
PMid:15490153
97. Ohteki T, Suzue K, Maki C, Ota T, Koyasu S. *Critical role of IL-15-IL-15R for antigen-presenting cell functions in the innate immune response*. Nature immunology. 2001; 2: 1138-43.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni729>
PMid:11702064

98. Mattei F, Schiavoni G, Belardelli F, Tough DF. IL-15 is expressed by dendritic cells in response to type I IFN, double-stranded RNA, or lipopolysaccharide and promotes dendritic cell activation. *J Immunol.* 2001; 167: 1179-87.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.167.3.1179>
PMid:11466332
99. Sarra M, Cupi ML, Monteleone I, Franzè E, Ronchetti G, Di Sabatino A et al. IL-15 positively regulates IL-21 production in celiac disease mucosa. *Mucosal immunology.* 2013; 6: 244-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.65>
PMid:22785229
100. van Heel DA, Franke L, Hunt KA, Gwilliam R, Zhernakova A, Inouye M et al. *A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21.* *Nature genetics.* 2007; 39: 827-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/ng2058>
PMid:17558408 PMCID:PMC2274985
101. Bernardo D, Garrote JA, Allegretti Y, León A, Gómez E, Bermejo-Martin JF et al. *Higher constitutive IL15R alpha expression and lower IL-15 response threshold in celiac disease patients.* *Clinical and experimental immunology.* 2008; 154: 64-73.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03743.x>
PMid:18821940 PMCID:PMC2561095
102. Coquet JM, Kyparissoudis K, Pellicci DG, Besra G, Berzins SP, Smyth MJ et al. *IL-21 is produced by NKT cells and modulates NKT cell activation and cytokine production.* *J Immunol.* 2007; 178: 2827-34.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.178.5.2827>
PMid:17312126
103. Ben Ahmed M, Belhadj Hmida N, Moes N et al. *IL-15 renders conventional lymphocytes resistant to suppressive functions of regulatory T cells through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway.* *J Immunol.* 2009; 182: 6763-70.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0801792>
PMid:19454671
104. Benahmed, M., Meresse, B., Arnulf, B. et al. *Inhibition of TGF-beta signaling by IL-15: a new role for IL-15 in the loss of immune homeostasis in celiac disease.* *Gastroenterology.* 2007; 132: 994-1008.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.12.025>
PMid:17324400
105. Peluso I, Fantini MC, Fina D et al. *IL-21 counteracts the regulatory T cell-mediated suppression of human CD4+ T lymphocytes.* *J Immunol.* 2007; 178: 732-9.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.178.2.732>
PMid:17202333

106. Bodd M, Raki M, Tollefsen S et al. *HLA-DQ2-restricted gluten-reactive T cells produce IL-21 but not IL-17 or IL-22*. *Mucosal immunology*. 2010; 3: 594-601.

<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2010.36>

PMid:20571486

107. van Leeuwen MA, Lindenbergh-Kortleve DJ, Raatgeep HC et al. *Increased production of interleukin-21, but not interleukin-17A, in the small intestine characterizes pediatric celiac disease*. *Mucosal immunology*. 2013; 6: 1202-13.

PMid:23571506

CAPÍTULO 5

MICROBIOTA INTESTINAL Y ENFERMEDAD CELÍACA.

Marta Olivares, Yolanda Sanz

Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA-CSIC), Valencia, España.

yolsanz@iata.csic.es

Cómo citar este capítulo:

Olivares M, Sanz, Y. *Microbiota Intestinal y Enfermedad Celíaca*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La microbiota intestinal está constituida fundamentalmente por bacterias que desarrollan relaciones de simbiosis con su huésped, contribuyendo a diversas funciones fisiológicas y determinando su resistencia a las enfermedades. Diversos factores ambientales e intrínsecos pueden alterar esta relación simbiótica, de modo que el ecosistema pasa de un estado de equilibrio o eubiosis a uno de disbiosis, que provoca modificaciones funcionales y puede favorecer el desarrollo de ciertas enfermedades. Por ejemplo, la disfunción del sistema inmunológico frecuentemente coincide con la disbiosis intestinal y una puede ocurrir como resultado de la otra, creando un círculo vicioso. En este contexto, se ha sugerido que una microbiota intestinal disbiótica podría influir en la aparición y la progresión de la enfermedad celíaca (EC). Los estudios epidemiológicos publicados hasta ahora indican que factores ambientales perinatales y postnatales que influyen en el riesgo de desarrollar la EC, también influyen en la composición de la microbiota intestinal. Un estudio prospectivo reciente realizado en niños sanos con riesgo familiar de desarrollar la EC, ha revelado que el genotipo HLA-DQ influyen sobre la composición de la microbiota. Además, en pacientes con la EC se han detectado alteraciones en la microbiota intestinal que no se normalizan plenamente tras su adherencia a una dieta exenta de gluten, lo que sugiere que tales desequilibrios no son solamente una consecuencia secundaria de la EC. Tres pequeños estudios de intervención en humanos también han sugerido el posible uso de bifidobacterias específicas para mejorar el tratamiento de la EC, aunque se necesitan estudios de mayor tamaño para confirmar estos beneficios. Globalmente, los hallazgos indican que la composición y la función de la microbiota intestinal podría ser uno de los aspectos que ayuden a mejorar nuestro conocimiento sobre la etiología y patogénesis de la EC. Estas investigaciones también podrían ayudar al diseño de estrategias de intervención sobre el ecosistema intestinal que mejoren el tratamiento y hagan posible la prevención de la EC.

Palabras clave

Microbiota, enfermedad celíaca, *Bifidobacterium*, probióticos.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica que se desencadena en individuos genéticamente predispuestos como consecuencia de la ingesta de las proteínas del gluten de los cereales. La aparición de la EC habitualmente ocurre en fases tempranas de la infancia, tras las primeras exposiciones al gluten de la dieta; no obstante, durante las últimas décadas ha habido un incremento en el número de sujetos a los que se les diagnostica la EC en etapas avanzadas de la edad adulta¹. Este fenómeno no se puede explicar completamente con base en mejoras en el diagnóstico y sugiere que la exposición al gluten no es el único desencadenante de la enfermedad y que existen cambios en la exposición a otros factores ambientales que contribuyen también a su desarrollo.

La etiología de la enfermedad está fuertemente asociada con la presencia de los genes del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés), que codifican los heterodímeros HLA-DQ2 (HLA-DQ2.5 y HLA-DQ2.2) y los heterodímeros HLA-DQ8, expresados por las células presentadoras de antígenos (CPA). Los péptidos del gluten se unen a los heterodímeros HLA y son presentados a las células T, los cuales desencadenan una compleja respuesta inmune que incluye a componentes del sistema inmune innato y adaptativo. La mayoría de los pacientes son portadores de los genes HLA-DQ2/DQ8, pero este genotipo también está presente en cerca del 40% de la población general y solamente un pequeño porcentaje (2-5%) desarrolla la EC^{2,3}. Esto indica que el genotipo HLA es un claro factor de riesgo, pero no exclusivamente responsable del desarrollo de la enfermedad. El gluten es el principal desencadenante ambiental de la EC, pero su ingesta tampoco explica completamente su debut ni sus manifestaciones clínicas. En los últimos años, otros factores ambientales que ejercen una influencia importante sobre la composición de la microbiota intestinal durante los primeros años de vida también han sido asociados con el riesgo de desarrollar la EC. Estos factores son el tipo de parto y lactancia, la incidencia de infecciones intestinales y el consumo de antibióticos²⁻⁷.

Estudios observacionales llevados a cabo en niños y pacientes adultos con la EC (sin tratamiento y con dieta sin gluten (DSG)) revelaron desequilibrios en su microbiota intestinal al compararla con sujetos control, y se señaló que podrían contribuir a la patogénesis de la enfermedad^{8,9}. Además, esta evidencia sugiere que los desequilibrios en la microbiota intestinal no son solo una consecuencia secundaria del entorno inflamatorio característico de la fase activa de la EC, sino que podrían ser también un factor que predisponga al desarrollo de la enfermedad. No obstante, la DSG *per se* también indujo cambios en la composición de la microbiota intestinal en sujetos adultos sanos y podría ser parcialmente responsable de las alteraciones que se han detectado en pacientes con la EC que se han seguido esta dieta¹⁰. Por lo tanto, para saber si los desequilibrios de la microbiota intestinal también podrían tener un papel en el desarrollo de la EC, se está desarrollando un estudio prospectivo para investigar las características de la microbiota intestinal en etapas tempranas en niños sanos, pero con riesgo de desarrollar EC por sus antecedentes familiares (poseen al menos un familiar celíaco de primer grado).

Actualmente, la EC se halla entre los trastornos digestivos crónicos más prevalentes, pero su único tratamiento es la adherencia de por vida a la DSG. No obstante, el cumplimiento de esta restricción dietética es complicado debido a la presencia de gluten en la mayoría de los alimentos procesados, por lo que los pacientes se hallan expuestos continuamente a la ingestión accidental de pequeñas cantidades de gluten. Sería deseable el desarrollo de estrategias preventivas que conduzcan a una reducción de la incidencia de la enfermedad. Para ello, es crucial identificar los factores ambientales modificables que contribuyen al debut de la EC. Este podría ser el caso de componentes de la microbiota intestinal, cuya adquisición podría estar modulada por factores ambientales, como la dieta.

En este capítulo hemos resumido el conocimiento actual sobre el papel que desempeña la microbiota intestinal en la etiopatogenia de la EC. También, discutimos las posibilidades de contribuir a la prevención y tratamiento de la enfermedad, modulando la composición y función de la microbiota intestinal.

2. Microbiota Intestinal en niños con riesgo de desarrollar la EC

La colonización del intestino comienza fundamentalmente al nacer, con la adquisición de microorganismos del ambiente y la vagina y la piel materna. La colonización del intestino y el establecimiento de la microbiota es un proceso dinámico, que involucra interacciones de co-ocurrencia y exclusión entre bacterias intestinales y cambios en su composición que reflejan diversos eventos en la vida del neonato (cambios de alimentación, episodios de infecciones y exposición a antibióticos, etc.). En esta primera etapa, la microbiota intestinal es muy inestable y va evolucionando hasta adquirir una configuración más estable y parecida a la del adulto hacia los dos o tres años de edad^{11,12}. El proceso de la colonización intestinal conduce a la adquisición y establecimiento de una microbiota protectora que podría modular el riesgo de desarrollar enfermedades de base inmunológica en etapas posteriores de la vida¹³. Esta influencia está mediada por la microbiota intestinal que se adquiere en edades tempranas y sus interacciones con el sistema inmune, que son cruciales para el desarrollo de la tolerancia a antígenos inocuos de la dieta y de la propia microbiota del individuo.

2.1. Tipo de parto y lactancia

Los factores ambientales perinatales y postnatales que influyen en la composición de la microbiota en estadios tempranos de la vida también se han asociado con la susceptibilidad a la EC¹⁴. Los niños nacidos por medio de cesárea presentan un riesgo más elevado de desarrollar EC¹⁵, lo que podría atribuirse al retraso en la colonización intestinal mediante las bifidobacterias y a la reducida diversidad bacteriana en comparación con la de los niños nacidos por parto vaginal¹⁶. La prolongación de la lactancia materna y, particularmente, el mantenerla cuando se introduce el gluten parece reducir el riesgo de desarrollar la EC, o por lo menos, retrasa su manifestación en la mayoría de los estudios retrospectivos caso-control incluidos en el meta-análisis de Akobeng y cols. (2006)¹⁷. Además, se propuso que la recomendación de introducir el gluten simultáneamente con

la lactancia materna fue responsable de la reducción de la prevalencia de la EC en una cohorte de recién nacidos que se comparó con la cohorte en la que se produjo la llamada “epidemia sueca de EC”¹⁸. No obstante, otros estudios prospectivos y de intervención no han corroborado que la lactancia materna ejerza un efecto protector frente al desarrollo de anticuerpos de la EC o frente a la enfermedad diagnosticada mediante biopsia duodenal^{19,20}. Estas inconsistencias podrían deberse a la implicación de variables no controladas (tipo de parto, incidencia de infecciones, cantidad de gluten en la dieta, etc.) que confunden el análisis estadístico de los efectos de la lactancia materna sobre el riesgo de desarrollar EC. La duración de la lactancia materna también podría estar asociada con una exposición más reducida o retrasada en el tiempo del recién nacido al gluten, lo que podría contribuir al efecto protector de la leche materna. Algunos componentes presumiblemente bioactivos de la leche materna también pueden estar involucrados en el potencial efecto protector de la lactancia materna sobre el desarrollo de la EC. La leche materna es una fuente de bacterias y oligosacáridos humanos (HMOs, por su siglas en inglés) para el intestino del lactante, que promueven la colonización de especies del género *Bifidobacterium*, lo que posiblemente explicaría las diferencias que se han observado entre la microbiota intestinal de niños amamantados con la de los alimentados con fórmula²³⁻²⁵. Los efectos beneficiosos de las bifidobacterias en la salud de los niños son generalmente aceptados²⁶ y la escasez de estas bacterias se ha asociado con el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)²⁷, diabetes mellitus tipo 1 (T1D, por sus siglas en inglés)²⁸ y alergias en la infancia²⁹. Además, la leche humana también proporciona muchas sustancias bioactivas involucradas en la protección inmune pasiva y el desarrollo inmunológico del bebé³⁰. Ésta está contiene citocinas y quimioquinas que cumplen una función fundamentalmente defensiva, que compensa el retraso en el desarrollo del sistema inmune del neonato y contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades y, especialmente, infecciones³¹. Investigaciones recientes han analizado las diferencias entre la composición de la leche materna de madres sanas y de madres con la EC que mantenían una DSG³². La leche de madres con la EC presentaron una disminución en varios marcadores inmunológicos (interleucina (IL)-12p70), factor de crecimiento transformador (TGF)- β 1, IgA secretora (sIgA) y en el número de *Bifidobacterium* spp.³². A raíz de estos resultados se ha sugerido que las diferencias en la composición de la leche de madres con la EC podrían influir en los efectos protectores de la lactancia materna sobre la salud del bebé, explicando parcialmente la controversia entre estudios³². Asimismo, se han descrito cambios en la composición de la leche materna en pacientes alérgicas, caracterizados por un menor contenido de mediadores inmunológicos (interferón gamma (IFN)- γ , TGF- β 2, IL-10 y sIgA) y también se ha sugerido que estos cambios podrían constituir un factor de riesgo para la salud de los hijos^{33,34}. Además, se han detectado gliadinas de trigo y otros péptidos del gluten en la leche materna, utilizando anticuerpos específicos de clase IgA frente a la gliadina^{35,36} y se ha sugerido que la presencia de gluten en leche materna podría tener un papel en la inducción de la tolerancia oral en los niños amamantados. De ser así, la leche de madres con la EC que siguen una DSG carecerá de este estímulo y ello podría influir en la futura tolerancia al gluten de sus hijos. No obstante, no existe, por el momento, evidencia suficiente que apoye estas hipótesis.

En resumen, estudios epidemiológicos indican que diversos factores perinatales participan conjuntamente modulando el riesgo de desarrollar la EC. No obstante, todavía no existen estudios

prospectivos que revelen que las diferencias en la composición de la leche materna y la adquisición de microbiota durante las primeras fases de la vida pueden proteger o contribuir al desarrollo de la EC.

2.2. Genotipo y Microbiota Intestinal

Modelos murinos que usaron diversas variedades de ratón portadoras de genes del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) indican que éste afecta la composición de la microbiota fecal³⁷. Recientemente, un modelo de pez (*Gasterosteus aculeatus*) ha demostrado que la presencia de cierto polimorfismo está asociado con alteraciones en la abundancia de ciertas familias microbianas³⁸.

Hace más de 30 años, Van de Merwe y cols.³⁹ describieron que la microbiota fecal de gemelos humanos monocigotos era mucho más similar que la de gemelos dicigotos. Posteriormente, se publicó una observación similar en adultos con diferentes grados de parentesco⁴⁰, gemelos y controles sin parentesco⁴¹. El estudio más reciente comparó la microbiota de 416 pares de gemelos e identificó muchos taxones microbianos cuyas abundancias parecían influenciadas por la genética del huésped. La familia de bacterias *Christensenellaceae* demostró la más alta heredabilidad, formando una red de co-ocurrencia con otras bacterias heredables y *Archaea* en individuos delgados⁴². Esta evidencia sugiere que la genética del huésped ejerce influencia sobre la composición de la microbiota intestinal y que ello influye en el fenotipo⁴². En el caso de la EC, un estudio prospectivo llevado a cabo con una cohorte de 164 niños con riesgo de padecer la EC por sus antecedentes familiares, permitió detectar asociaciones entre el genotipo HLA-DQ2/8 y alteraciones en la composición de la microbiota intestinal⁴³⁻⁴⁵. Se observó que el genotipo HLA-DQ2/8 y el tipo de alimentación (materna o fórmula) influían conjuntamente en la colonización intestinal analizada mediante hibridación “in situ” con sondas fluorescentes (FISH, por sus siglas en inglés), PCR en tiempo real y técnicas de electroforesis en gel de gradiente desnaturizante (DGGE, por sus siglas en inglés)⁴³⁻⁴⁵. Además, se observaron asociaciones entre las reducciones en la abundancia de *Bifidobacterium* spp. y *Bifidobacterium longum* y los incrementos en la de *Staphylococcus* spp. con un mayor riesgo genético de desarrollar la EC, con independencia del tipo de lactancia⁴⁴. En un análisis más reciente de la microbiota de un sub-grupo de 22 niños de la misma cohorte, nacidos por parto vaginal y alimentados con leche materna exclusivamente, mediante secuenciación del gen del 16S rRNA, confirmó que el genotipo HLA-DQ “per se” parece influir en la composición de la microbiota intestinal⁴⁶. El grupo de niños de alto riesgo genético (genotipo HLA-DQ2) presentó un incremento en las proporciones de *Firmicutes* (*Clostridium sensu stricto* y *Clostridiaceae* no clasificadas y *Gemella*) y *Proteobacterias* (*Raoultella* y *Enterobacteriaceae* no clasificadas) y una reducción en *Actinobacterias* (*Bifidobacterium*). También se han establecido asociaciones entre ciertas especies de *Clostridium*, tales como *C. difficile*, en muestras del íleon de sujetos humanos y el genotipo NOD2 y el fenotipo de las enfermedades inflamatorias intestinales⁴⁷. Un estudio prospectivo describió también que una reducción en la proporción de *Bifidobacterium* spp. en relación a la *Clostridium* spp. estaba asociada al desarrollo posterior de dermatitis atópica⁴⁸. Otro pequeño estudio caracterizó los cambios longitudinales en las comunidades microbianas de niños genéticamente predisuestos (HLA-DQ2/8)⁵ y comparó los resultados con datos de otro estudio

de niños sanos no genotipados¹². La microbiota de portadores de los genes HLA-DQ2/8 se caracterizó por una mayor abundancia de *Firmicutes* y una menor abundancia de *Bacteroidetes* (de 1%, a indetectable) al compararla con la de niños sanos de otra cohorte. No obstante, las diferencias atribuidas por los autores al genotipo HLA-DQ podrían deberse también a la utilización de diferentes metodologías para el muestreo, almacenamiento y procesamiento de muestras de heces y análisis taxonómicos, lo que hace que los datos no sean comparables.

Aún no se conocen los mecanismos por los cuales el genotipo HLA-DQ podría influir selectivamente en el proceso de colonización y en la composición de la microbiota intestinal. No obstante, sabemos que el sistema CMH II de las células presentadoras de antígenos podrían presentar los procedentes de bacterias intestinales a las células T. Dependiendo del tipo de antígeno presentado, la activación de las células T podría dar lugar a diferentes respuestas y, por ejemplo, contribuir a la regulación de los microorganismos que colonizan el intestino al activar a las células B para secretar anticuerpos en la luz intestinal que podrían ayudar a eliminarlos⁴⁹. Los antígenos bacterianos presentados vía moléculas CMH II podrían también impulsar la maduración de las células T hacia células efectoras (Th1, Th2 o Th17) o células Foxp3+Treg con actividad inmunosupresora, que podría contribuir al desarrollo de tolerancia hacia la microbiota intestinal. En este contexto, estudios realizados en ratones, indican que el repertorio de células Treg derivadas del timo, que constituyen la mayoría de las células Treg presentes en todos los órganos linfoides e intestinales, incluyendo el colon, está fuertemente influido por la composición de la microbiota intestinal, lo que apoya esta hipótesis⁵⁰.

En lo referente a la posible patogenicidad de las alteraciones de la microbiota halladas en sujetos con el genotipo de riesgo de la EC, el incremento en *Staphylococcus* spp. descrito por De Palma y cols. es de particular interés. Esto se debe a que algunos superantígenos de estafilococos interactúan con las moléculas HLA-DQ, activando una respuesta inflamatoria que podría incrementar el riesgo de desarrollar EC⁵¹. En la actualidad se continúa el seguimiento de esta cohorte de niños a fin de determinar si los trastornos en la microbiota intestinal que se han detectado a edad muy temprana están finalmente relacionados con el debut de la EC. Existe una fuerte asociación entre la EC y la expresión de las moléculas HLA-DQ2/DQ8 en contraste con otras enfermedades relacionadas con el HLA⁵²; no obstante, otros genes no-HLA también contribuyen a la enfermedad⁵³ y no se puede descartar que estos genes también sean responsables de las diferencias observadas en la microbiota intestinal de los niños con el genotipo de riesgo de sufrir la EC. Por ejemplo, la no expresión del gen FUT2, que codifica para fucosiltransferasa 2, conduciendo a un fenotipo no secretor, ha sido asociada con una mayor susceptibilidad a desarrollar EC⁵⁴. La fucosiltransferasa 2 es responsable de la síntesis de antígenos ABH en la mucosa y en otras secreciones y su expresión también la ha asociado con una reducción en la diversidad, riqueza y abundancia de bifidobacterias intestinales en humanos⁵⁵. Por tanto, tanto las moléculas HLA-DQ2/8 como el fenotipo no secretor, (debido a la disfunción del gen FUT2), se han relacionado con el desarrollo de la EC y con reducciones en la abundancia de bifidobacterias en el intestino. Esta evidencia, junto con los niveles reducidos de bifidobacterias detectados en pacientes con la EC (descritos más adelante (9, 10)) indican que este género de bacterias puede tener un papel importante en el riesgo de desarrollar la EC.

3. Influencia de la Microbiota Intestinal sobre la Patogenia de la EC

Varios estudios observacionales en niños y adultos con la EC han demostrado la presencia de alteraciones en la composición de la microbiota intestinal en contraste con la de sujetos control. Nuestros estudios realizados utilizando métodos cuantitativos moleculares, tales como FISH y la PCR cuantitativa, hallaron cantidades reducidas de *Bifidobacterium* spp. y *B. longum*, y cantidades incrementadas de *Bacteroides* spp. en heces y biopsias duodenales de pacientes con la EC sin tratamiento y tratados con una DSG en comparación con los controles^{8,9}. La cantidad de enterobacterias y estafilococos también fue más elevada en pacientes con EC que en controles, pero estas diferencias prácticamente desaparecerían en sujetos con la enfermedad que habían seguido una DSG durante largo tiempo⁹. Asimismo, otros análisis de microbiota realizados mediante electroforesis de gel en gradiente de temperatura (TTGE, por sus siglas en inglés) demostraron una prevalencia aumentada de *Bacteroides vulgatus* y *E. coli* en biopsias de sujetos con la EC, tanto antes como después de la DSG, al compararlos con controles⁵⁶. También se detectaron una menor prevalencia de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y mayor de *Bacteroides*, *Staphylococcus* y enterobacterias en heces de niños con EC comparados con controles sanos⁵⁷. Otros estudios realizados mediante el análisis con DGGE de la microbiota de adultos con EC, agrupó las comunidades microbianas dominantes de individuos sanos separadas de las de pacientes con EC sin tratar⁵⁸. No obstante, en el estudio anterior se detectó una prevalencia incrementada de la especie *Bifidobacterium bifidum* en pacientes con la EC en fase activa, en contraposición con otros estudios en los que se detectaron menores cantidades de bifidobacterias en pacientes con EC^{9,57,59,60} o ausencia de diferencias⁶¹. El análisis de metabolitos derivados de la actividad de la microbiota intestinal, también ha revelado diferencias significativas entre pacientes con EC con tratamiento y controles sanos, lo que sugiere que existe un perfil metabólico característico del microbioma asociado a la EC^{58,59}. Uno de los estudios más recientes también ha detectado que la microbiota de los pacientes con EC con síntomas gastrointestinales presenta una composición diferente a la de controles sanos y pacientes con dermatitis herpetiformis, lo que sugiere que la microbiota puede estar relacionada con la forma en la que se manifiesta la enfermedad⁶². En Suecia, un estudio pionero con muestras recolectadas entre 1985-1996 reveló que bacterias con morfología bacilar se hallaban frecuentemente asociadas con la mucosa de pacientes con EC, tanto durante fase activa, como bajo tratamiento con DSG, tal y como se detectó vía microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés)⁶³. Posteriormente, estos análisis de SEM fueron complementados mediante secuenciación del gel del 16S rRNA para identificar las comunidades bacterianas detectadas en muestras procedentes de la epidemia sueca (1985-1996) y en una nueva cohorte de pacientes (2004-2007)⁶⁴. No obstante, solo una biopsia de un paciente con EC obtenida entre 2004 y 2007 contenía bacterias con morfología bacilar, en contraste con la alta frecuencia descrita en las muestras de la epidemia sueca, lo que invalida la teoría inicial de que estas bacterias podían ser uno de los factores causales de la epidemia sueca de EC⁶⁴. La caracterización de la microbiota realizada en las biopsias de pacientes con EC de la epidemia de celiaquía sueca demostró que las biopsias con análisis SEM positivo estaban significativamente enriquecidas en *Clostridium*, *Prevotella* spp. y *Actinomyces* en comparación con las de las muestras con análisis SEM negativo procedentes también de pacientes con la EC⁶⁴. En nuestro grupo, también realizamos una caracterización más profunda de la microbiota asociada a la EC en

niños, aislando grupos taxonómicos específicos de bacterias incrementadas en la EC y analizando sus características patogénicas⁶⁵⁻⁶⁷. Específicamente, los clones de *E. coli* pertenecientes a grupos filogenéticos virulentos (B2 y D), que fueron aislados de pacientes con EC, sin tratamiento y con tratamiento, presentaron una mayor cantidad de genes que codifican factores de virulencia como fimbrias (*P fimbriae*), cápsulas (cápsula K5) y hemolisinas, que aquellos aislados de controles sanos⁶⁵. Adicionalmente, detectamos que los aislados de la especie *Bacteroides fragilis* que codifican metaloproteasas presentaban una mayor abundancia en pacientes con EC, tratados y sin tratar con una DSG, y por tanto podrían tener un posible papel patogénico en la enfermedad⁶⁶. De hecho, *Bacteroides fragilis* y las cepas que producen metaloproteasas, se hallan frecuentemente involucradas en infecciones oportunistas y han demostrado agravar la colitis en modelos animales⁶⁸. También aislamos e identificamos clones del género *Staphylococcus*, observándose que los aislados de la especie *S. epidermis* que poseían el gen *mecA*, que confiere resistencia a la meticilina, eran más abundantes en pacientes con EC (con y sin tratamiento) que en controles⁶⁷.

4. Potenciales Mecanismos de Acción de la Microbiota Intestinal en la EC

La microbiota y sus alteraciones podrían contribuir a la etiopatogenia de la EC mediante tres mecanismos: (1) su actividad proteolítica, la cual podría dar lugar a la generación de péptidos derivados del gluten tóxicos e inmunogénicos^{66,69}, a interacciones huésped-microbiota, que podrían (2) alterar la función barrera intestinal⁷⁰ y (3) modular la función inmune⁷¹ favoreciendo el proceso inflamatorio de la EC (Figura 1).

Algunos péptidos de gluten (gliadina) son resistentes a las enzimas digestivas y no son hidrolizados totalmente. En el intestino, estos péptidos no digeridos pueden perturbar la integridad de la barrera intestinal debido a que alteran las proteínas que regulan las uniones intercelulares entre los enterocitos, incrementando la permeabilidad⁷³. Ello podría permitir el acceso de péptidos de gliadina a la lámina propia, así como su interacción con linfocitos infiltrados y las células presentadoras de antígenos responsables de iniciar la respuesta inmune. Los clones de *B. fragilis*, aislados de la microbiota intestinal de pacientes con la EC, presentaron capacidad para hidrolizar las gliadinas en fragmentos de menor tamaño pero que mantenían su inmunogenicidad y estimulaban la secreción de citocinas inflamatorias en cultivos de células Caco-2. Los péptidos generados a partir de las gliadinas por las proteasas de *B. fragilis* también poseían una mayor facilidad para atravesar la monocapa de células Caco-2, lo que favorecería su capacidad para interactuar con células inmunocompetentes de la submucosa intestinal y activar respuestas inflamatorias⁶⁶. En contraste, otras bifidobacterias y particularmente, la cepa *B. longum* CECT 7347 (también denominada *B. longum* IATA-ES1), redujeron los efectos citotóxicos e inflamatorios de los péptidos de gliadina, generados durante la digestión gastrointestinal⁶⁹. De este modo, los estudios *in vitro* indican que la actividad proteolítica de la microbiota intestinal, podría modificar los péptidos de gliadina diferentemente, incrementando, o reduciendo su toxicidad. Del mismo modo, Fernández-Feo y cols.⁷⁵ aislaron especies de la cavidad oral y heces para hidrolizar péptidos de gluten; no obstante, estos autores no evaluaron sus efectos biológicos.

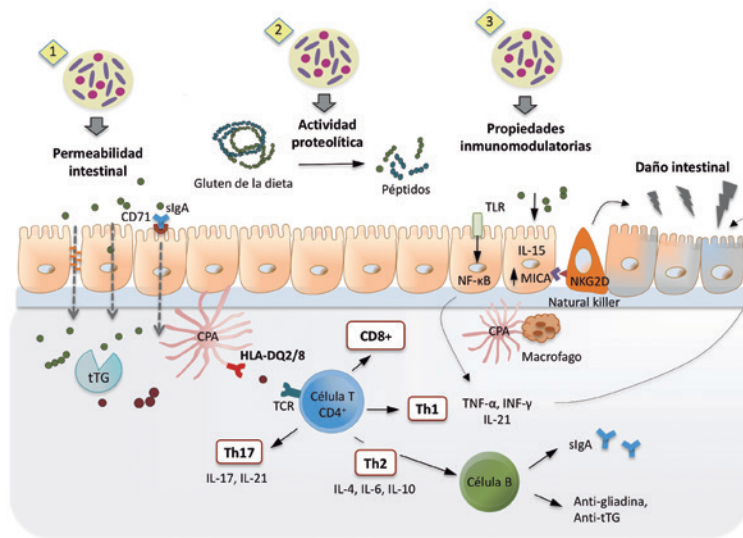


Figura 1. Representación esquemática de la patogénesis de la EC y el papel potencial de la disbiosis intestinal. Algunos péptidos de gluten a traviesan el epitelio intestinal y pueden ser deaminados por la transglutaminasa tisular (tTG), lo que aumenta su afinidad por las moléculas HLA-DQ2/8 de las células presentadoras de antígenos y su capacidad para iniciar una respuesta inmune adaptativa que involucra células Th1, Th2 y Th17, que conducen a la liberación de citocinas inflamatorias (IFN- γ , interleucina (IL)-21, etc.) y la producción de anticuerpos de la EC; otros péptidos de gluten activan la respuesta inmune innata al interactuar con células epiteliales y células presentadoras de antígenos y de ese modo, activan las vías inflamatorias (NF κ B) y la producción de citocinas inflamatorias tales como IL-15. En particular, la IL-15 incrementa la expresión de la molécula MICA en la superficie de las células epiteliales y activa los linfocitos intraepiteliales que expresan la molécula NKG2D, lo que favorece sus efectos citotóxicos de forma similar a los desarrollados por las células inmunes innatas sobre las células epiteliales provocando su destrucción y una respuesta adaptativa mediada por células T CD8, lo que contribuye a la atrofia vellositaria⁷². La microbiota podría contribuir a la etiopatogenia de la EC al (2) proporcionar actividad proteolítica que influya en la generación de péptidos tóxicos e inmunogénicos del gluten^{66,69} y al mediar interacciones huésped-microbiota, que podrían afectar (1) la barrera intestinal⁷⁰ y (3) la función inmune⁷¹.

En lo referente al mecanismo de acción de componentes de la microbiota intestinal sobre la función de la barrera intestinal, experimentos realizados en modelos intestinales utilizando ratas Wistar-AVN libres de gérmenes demostraron que los activadores de la EC (la gliadina y el IFN- γ) redujeron la cantidad de células caliciformes productoras de mucosidad, mientras que la presencia de enterobacterias aisladas en pacientes con EC, tales como *E. coli* CBL2 y *Shigella* CBD8, agravan este efecto⁷¹. Además, la exposición a estas enterobacterias generó un incremento en la secreción de mucina y mayores alteraciones en las uniones intercelulares. En contraste, la presencia de

Bifidobacterium bifidum CECT 7365 (también denominada *B. bifidum* IATA-ES2) incrementó la cantidad de células calciformes productoras de mucus y la producción de inhibidores de metaloproteasas que podrían limitar el efecto adverso de estas proteasas en la destrucción tisular. Esta bifidobacteria también disminuyó la translocación de gliadina hacia la lámina propia, indicando que ejerce un efecto protector sobre la integridad del epitelio y la mucosa intestinal⁷¹. Se ha demostrado que otras bacterias probióticas, tales como la cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG podría contribuir al mantenimiento de la permeabilidad intestinal normal en cultivos *in vitro* de células Caco-2 expuestas a gliadina⁷⁶.

La composición de la microbiota intestinal podría también influir en la liberación de citocinas pro-inflamatorias, activada por péptidos de gluten. Por ejemplo, una mezcla de bacterias aisladas en pacientes con la EC (*Prevotella* spp., *Lachnoanaerobaculum umeaense* y *Actinomyces graevenitzi*) indujeron expresión de IL-17A mRNA en biopsias *ex vivo* de la mucosa intestinal de pacientes con EC. Se ha pensado que esas bacterias podrían modular la respuesta IL-17 y cooperar en el deterioro de la tolerancia al gluten⁷⁷. En contraste, con ratones transgénicos que sobre-expresan la molécula HLA-DQ8, sensibilizados con gliadina, una cepa de *Lactobacillus casei* redujo los niveles de TNF- α en secciones del tejido yeyunal⁷⁸. En un modelo de ratas neonatas sensibilizadas con IFN- γ y gliadina administrada oralmente, la cepa *B. longum* CECT 7347 redujo los niveles de TNF- α , e incrementó la concentración de IL-10 en muestras de tejido intestinal, ejerciendo, así, un efecto anti-inflamatorio⁷⁹.

En experimentos *in vitro*, las cepas de *B. longum* CECT 7347 y *B. bifidum* CECT 7365 redujeron la secreción de citocinas inflamatorias (IFN- γ y TNF- α) producidas por la microbiota de pacientes con la EC e incrementaron la secreción de IL-10 por células mononucleares de la sangre periférica (PBMC, por su siglas en inglés)⁸⁰. En otro experimento, las cepas *E. coli* CBL2 y *Shigella* CBD8, aisladas de pacientes con EC, potenciaron la secreción de IL-12 e IFN- γ , y la expresión de los marcadores de activación HLA-DR y CD40 en co-cultivos de células dendríticas derivadas de monocitos y células Caco-2, en comparación con los efectos producidos por las cepas *B. longum* CECT 7347 o *B. bifidum* CECT 7365⁸¹. Estas respuestas podrían estar mediadas por la activación de receptores toll-like (TLRs), lo cuales poseen una función importante en el reconocimiento de moléculas microbianas, activando diferentes vías de transcripción involucradas en la respuesta inmune. Hasta la fecha, se ha descrito que las biopsias de pacientes con EC presentan una mayor expresión de TLR2, que es un receptor que responde a lipopéptidos bacterianos, y de TLR9, que es un receptor que responde al ADN bacteriano⁶¹. Podríamos pensar que esta expresión incrementada de TLRs en biopsias de pacientes con la EC podría intensificar la señalización de la microbiota intestinal, especialmente si existe un estado de disbiosis intestinal; no obstante, aún no existe evidencia directa de que estos receptores actúen como mediadores moleculares de las señales derivadas de la microbiota en la patogénesis de la EC.

5. Ingesta de Gluten y Microbiota Intestinal

El único tratamiento para la EC es la adherencia de por vida a la DSG, lo que implica cambios im-

portantes en la dieta. En algunos estudios se ha observado que las hembras que siguen una DSG, globalmente, reducen la ingesta de proteínas y fibra de la dieta y aumentan la de lípidos⁸². Estas diferencias dietéticas parecen ocasionar cambios en la composición de la microbiota intestinal *in vivo* y en la respuesta inmune a la microbiota alterada *in vitro*. En niños con EC, tras tres meses de adherencia a la DSG, se observaron incrementos en el grupo *B. fragilis* y *Enterobacteriaceae* y en los niveles de sIgA en heces⁸³. En adultos, la DSG causó alteraciones en la composición de la microbiota intestinal, caracterizada por reducciones en la abundancia de *Bifidobacterium* spp., *B. longum* y del grupo *Lactobacillus*, así como incrementos en las de *Enterobacteriaceae* y *E. coli*¹⁰. Estos resultados sugieren que la DSG debería ser considerada como un factor ambiental que podría contribuir a conformar la composición de la microbiota e influir en sus funciones en pacientes con la EC bajo tratamiento¹⁰.

En modelos animales, los cambios en la microbiota intestinal también han sido relacionados con la DSG, pero los datos no son comparables con los humanos. Por ejemplo, los cambios inducidos por la DSG en la microbiota de ratones NOD se caracterizaron por mayores cantidades de *Bacteroides* y *Akkermansia* y un porcentaje más alto de células reguladoras CD4+CD25+Foxp3, así como una menor incidencia de T1D⁸⁴. En contraste, ratones NOD alimentados con una dieta con gluten, presentaron números más altos de *Bifidobacterium*, *Tannerella* y *Barnesiella*, así como mayor incidencia de T1D⁸⁴. Harsen y cols. (2014)⁸⁵ también propusieron que incrementos en la cantidad de *Akkermansia*, *Proteobacterias* y abundancia de TM7 inducidos por la DSG, protegieron a las crías de ratones NOD y redujeron la incidencia de diabetes⁸⁶; no obstante, no existe una evidencia directa de que fueran los cambios en la microbiota los que mediaran cambios en la incidencia de la enfermedad.

6. El Papel de los Probióticos en la EC: Estudios en Humanos

Existen diversas propuestas para utilizar ciertas bacterias probióticas en el manejo de la EC, basándose en las asociaciones entre la EC y los desequilibrios en la microbiota intestinal, y en el papel atribuido a ciertas cepas bacterianas en el mantenimiento de la función de la barrera intestinal y en la regulación de la respuesta inmune en ciertas enfermedades inflamatorias crónicas. Hasta donde sabemos, solo se han llevado a cabo, tres ensayos clínicos de intervención con probióticos, en pacientes con la EC. Estos fueron estudios aleatorizados, doble-ciego y controlados por placebo, pero diferían en sus objetivos, especies y cepas de bifidobacterias administradas. En una de las intervenciones, se administró *B. infantis* NLS a pacientes con EC sin tratamiento que consumían gluten, para evaluar el efecto del probiótico independientemente de la DSG⁸⁷. Los efectos beneficiosos ejercidos por *B. infantis* NLS incluyeron la reducción de algunos síntomas gastrointestinales, específicamente, la sensación de indigestión, el estreñimiento y el reflujo, aunque las diferencias fueron poco significativas. No obstante, no mejoró la diarrea o el dolor abdominal, tampoco modificó la permeabilidad intestinal o el estado pro-inflamatorio, tal y como lo reflejó el análisis de citocinas y quimiocinas séricas⁸⁷. Otro estudio evaluó la influencia de la administración de *B. longum* CECT 7347 a niños recién diagnosticados de EC quienes seguían se adherían en ese

momento a una DSG, para evaluar si mejoraba la eficacia de la DSG⁸³. Las comparaciones entre grupos revelaron una disminución en los linfocitos T CD3+ y en los niveles de TNF- α en suero en el grupo que recibió la bifidobacteria. La administración de *B. longum* CECT 7347 también redujo las cantidades de *Bacteroides fragilis* y sIgA en heces al compararlas con el grupo que recibió el placebo⁸³, lo que podría, presumiblemente, contribuir a mejorar la recuperación del estado inflamatorio asociado con la fase activa de la enfermedad. A pesar de las diferencias experimentales, el presunto mecanismo detrás de los efectos de *B. infantis* NLS difieren de los del *B. longum* CECT 7347, ya que la última ejerce una influencia sobre los marcadores de inflamación, la microbiota intestinal y mecanismos defensivos del huésped. Recientemente, también se ha evaluado el efecto de la combinación de las cepas *B. breve* BR03 y *B. breve* B632, en comparación con un placebo, en niños con la EC y siguiendo una dieta exenta de gluten⁸⁸. Este estudio también ha confirmado que las cepas reducen los marcadores de inflamación, en concreto la citocina TNF- α , en los niños con la EC⁸⁸. Todos estos estudios sugieren el interés potencial de estas cepas bacterianas para mejorar el tratamiento de la EC a pesar de que se necesitan ensayos clínicos en humanos de mayor tamaño para confirmar estos potenciales efectos beneficiosos.

7. Conclusiones

La mayoría de los estudios demuestran asociaciones entre la EC y alteraciones en la composición de la microbiota intestinal. Estos cambios, no son solo consecuencia del estado inflamatorio característico de la fase activa de la enfermedad, debido a las perturbaciones ecológicas no se restauran completamente después de la adherencia a la DSG, aun cuando ésta *per se* también ejerce una influencia sobre la composición de la microbiota. En niños sanos con riesgo familiar de desarrollar la EC, los estudios prospectivos también indican que las alteraciones en la composición de la microbiota intestinal están asociadas con el genotipo HLA-DQ2/8 y podrían influir en el riesgo de sufrir la EC. El efecto de la composición de la microbiota intestinal sobre la etiopatogenia de la EC, podría estar relacionado con su actividad proteolítica y su capacidad para generar péptidos tóxicos e inmunogénicos o para degradarlos en mayor medida y así reducir sus efectos adversos y, particularmente, con su capacidad para regular la función de la barrera intestinal y la respuesta inmune al gluten. Aunque los resultados de los primeros estudios de intervención con bacterias potencialmente probióticas realizados en humanos son prometedores, se necesitan estudios de un mayor alcance para poder confirmar que este tipo de intervenciones pueden contribuir a mejorar el estado de la salud de los pacientes con EC y, posiblemente, ayudar a reducir el riesgo de desarrollar la enfermedad en un futuro.

Reconocimiento

Este artículo fue financiado por el proyecto AGL2011-25169 del Ministerio de Economía y Competitividad de España (MINECO). También se agradece el contrato pre-doctoral de M. Olivares financiado por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Referencias

1. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, Sturgeon C, Helzlsouer K, Clipp SL et al. *Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974*. *Ann Med*. 2010; 42(7): 530-8.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2010.514285>
PMid:20868314
2. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. *Breast-feeding protects against celiac disease*. *The American journal of clinical nutrition*. 2002; 75(5): 914-21.
PMid:11976167
3. Sandberg-Bennich S, Dahlquist G, Kallen B. *Coeliac disease is associated with intrauterine growth and neonatal infections*. *Acta paediatrica*. 2002; 91(1): 30-3.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2002.tb01635.x>
PMid:11883814
4. Sanz Y, De Pama G, Laparra M. *Unraveling the ties between celiac disease and intestinal microbiota*. *International reviews of immunology*. 2011; 30(4): 207-18.
<http://dx.doi.org/10.3109/08830185.2011.599084>
PMid:21787226
5. Sellitto M, Bai G, Serena G, Fricke WF, Sturgeon C, Gajer P et al. *Proof of concept of microbiome-metabome analysis and delayed gluten exposure on celiac disease autoimmunity in genetically at-risk infants*. *PLoS one*. 2012; 7(3): e33387.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0033387>
PMid:22432018 PMCID:PMC3303818
6. Marild K, Stephansson O, Montgomery S, Murray JA, Ludvigsson JF. *Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study*. *Gastroenterology*. 2012; 142(1): 39-45 e3.
7. Marild K, Ye W, Lebwohl B, Green PH, Blaser MJ, Card T et al. *Antibiotic exposure and the development of coeliac disease: a nationwide case-control study*. *BMC gastroenterology*. 2013; 13: 109.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-13-109>
PMid:23834758 PMCID:PMC3720284
8. Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease*. *Journal of medical microbiology*. 2007; 56(Pt 12): 1669-74.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47410-0>
PMid:18033837
9. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease*. *Journal of clinical pathology*. 2009; 62(3): 264-9.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2008.061366>
PMid:18996905

10. De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. *Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects*. The British journal of nutrition. 2009; 102(8): 1154-60.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114509371767>
PMid:19445821
11. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R et al. *Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2011; 108 Suppl 1: 4578-85.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1000081107>
PMid:20668239 PMCID:PMC3063592
12. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. *Development of the human infant intestinal microbiota*. PLoS biology. 2007; 5(7): e177.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>
PMid:17594176 PMCID:PMC1896187
13. Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O'Toole GA, Moore JH et al. *Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis*. Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition. 2012; 97(6): F456-62.
<http://dx.doi.org/10.1136/fetalneonatal-2011-301373>
14. Pozo-Rubio T, de Palma G, Mujico JR, Olivares M, Marcos A, Acuna MD et al. *Influence of early environmental factors on lymphocyte subsets and gut microbiota in infants at risk of celiac disease; the PROFICEL study*. Nutricion hospitalaria. 2013; 28(2): 464-73.
PMid:23822699
15. Decker E, Engelmann G, Findeisen A, Gerner P, Laass M, Ney D et al. *Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children*. Pediatrics. 2010; 125(6): e1433-40.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2009-2260>
PMid:20478942
16. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. *Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria*. The Journal of nutrition. 2008; 138(9): 1796S-800S.
PMid:18716189
17. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. *Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies*. Archives of disease in childhood. 2006; 91(1): 39-43.
<http://dx.doi.org/10.1136/adc.2005.082016>
PMid:16287899 PMCID:PMC2083075
18. Ivarsson A, Myleus A, Norstrom F, van der Pals M, Rosen A, Hogberg L et al. *Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding*. Pediatrics. 2013; 131(3): e687-94.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2012-1015>
PMid:23420914

19. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE et al. *Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease*. JAMA: the journal of the American Medical Association. 2005; 293(19): 2343-51.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.293.19.2343>
PMid:15900004
20. Welander A, Tjernberg AR, Montgomery SM, Ludvigsson J, Ludvigsson JF. *Infectious disease and risk of later celiac disease in childhood*. Pediatrics. 2010; 125(3): e530-6.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2009-1200>
PMid:20176673
21. Martin R, Jimenez E, Heilig H, Fernandez L, Marin ML, Zoetendal EG et al. *Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR*. Applied and environmental microbiology. 2009; 75(4): 965-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02063-08>
PMid:19088308 PMCID:PMC2643565
22. Gronlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Gronroos T, Salminen S et al. *Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease*. Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 2007; 37(12): 1764-72.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02849.x>
PMid:17941914
23. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R et al. *Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics*. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2010; 51(1): 77-84.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181d1b11e>
PMid:20479681
24. Tannock GW, Lawley B, Munro K, Gowri Pathmanathan S, Zhou SJ, Makrides M et al. *Comparison of the compositions of the stool microbiotas of infants fed goat milk formula, cow milk-based formula, or breast milk*. Applied and environmental microbiology. 2013; 79(9): 3040-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03910-12>
PMid:23455335 PMCID:PMC3623157
25. Garrido D, Barile D, Mills DA. *A molecular basis for bifidobacterial enrichment in the infant gastrointestinal tract*. Advances in nutrition. 2012; 3(3): 415S-21S.
<http://dx.doi.org/10.3945/an.111.001586>
PMid:22585920 PMCID:PMC3649478
26. Di Gioia D, Aloisio I, Mazzola G, Biavati B. *Bifidobacteria: their impact on gut microbiota composition and their applications as probiotics in infants*. Applied microbiology and biotechnology. 2014; 98(2): 563-77.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-013-5405-9>
PMid:24287935

27. Schwartz A, Jacobi M, Frick JS, Richter M, Rusch K, Kohler H. *Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease*. *The Journal of pediatrics*. 2010; 157(2): 240-51.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.02.046>
PMid:20400104
28. Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F et al. *Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study*. *BMC medicine*. 2013; 11:46.
<http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-11-46>
PMid:23433344 PMCID:PMC3621820
29. Kirjavainen PV, Apostolou E, Arvola T, Salminen SJ, Gibson GR, Isolauri E. *Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease*. *FEMS immunology and medical microbiology*. 2001; 32(1): 1-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2001.tb00526.x>
PMid:11750215
30. Garofalo R. Cytokines in human milk. *The Journal of pediatrics*. 2010; 156: S36-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.11.019>
PMid:20105664
31. Peroni DG, Pescollderung L, Piacentini GL, Rigotti E, Maselli M, Watschinger K et al. *Immune regulatory cytokines in the milk of lactating women from farming and urban environments*. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2010; 21(6): 977-82.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3038.2010.00995.x>
PMid:20718928
32. Olivares M, Albrecht S, De Palma G, Ferrer MD, Castillejo G, Schols HA et al. *Human milk composition differs in healthy mothers and mothers with celiac disease*. *European Journal of Nutrition*. 2015; 54(1): 119-28.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00394-014-0692-1>
33. Tomicic S, Johansson G, Voor T, Bjorksten B, Bottcher MF, Jenmalm MC. *Breast milk cytokine and IgA composition differ in Estonian and Swedish mothers-relationship to microbial pressure and infant allergy*. *Pediatric research*. 2010; 68(4): 330-4.
<http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181ee049d>
PMid:20581738
34. Laiho K, Lampi AM, Hamalainen M, Moilanen E, Piironen V, Arvola T et al. *Breast milk fatty acids, eicosanoids, and cytokines in mothers with and without allergic disease*. *Pediatric research*. 2003; 53(4): 642-7.
<http://dx.doi.org/10.1203/01.PDR.0000055778.58807.C8>
PMid:12612204

35. Troncone R, Scarcella A, Donatiello A, Cannataro P, Tarabuso A, Auricchio S. *Passage of gliadin into human breast milk. Acta paediatrica Scandinavica.* 1987; 76(3): 453-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1987.tb10498.x>
PMid:3300148
36. Ozkan T, Ozeke T, Meral A. *Gliadin-specific IgA antibodies in breast milk.* The Journal of international medical research. 2000; 28(5): 234-40.
<http://dx.doi.org/10.1177/147323000002800506>
PMid:11092234
37. Toivanen P, Vahtovuori J, Eerola E. *Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora.* Infection and immunity. 2001; 69(4): 2372-7.
<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.4.2372-2377.2001>
PMid:11254595 PMCID:PMC98167
38. Bolnick DI, Snowberg LK, Caporaso JG, Lauber C, Knight R, Stutz WE. *Major Histocompatibility Complex class IIb polymorphism influences gut microbiota composition and diversity.* Mol Ecol. 2014; 23(19): 4831-45.
<http://dx.doi.org/10.1111/mec.12846>
PMid:24975397
39. Van de Merwe JP, Stegeman JH, Hazenberg MP. *The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease?* Antonie van Leeuwenhoek. 1983; 49(2): 119-24.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00393669>
PMid:6684413
40. Zoetendal EG, Akkermans ADL, Akkermans-van Vliet WM, de Visser JAGM, de Vos WM. *The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract.* Microb Ecol Health Dis. 2001; 13: 129-34.
<http://dx.doi.org/10.1080/089106001750462669>
41. Stewart JA, Chadwick VS, Murray A. *Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children.* Journal of medical microbiology. 2005; 54(Pt 12): 1239-42.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.46189-0>
PMid:16278440
42. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R et al. *Human genetics shape the gut microbiome.* Cell. 2014; 159(4): 789-99.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
PMid:25417156
43. De Palma G, Capilla A, Nadal I, Nova E, Pozo T, Varea V et al. *Interplay between human leukocyte antigen genes and the microbial colonization process of the newborn intestine.* Current issues in molecular biology. 2010; 12(1): 1-10.
PMid:19478349

44. Palma GD, Capilla A, Nova E, Castillejo G, Varea V, Pozo T 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(2): e30791.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030791>
PMid:22319588 PMCID:PMC3272021
45. Sanchez E, De Palma G, Capilla A, Nova E, Pozo T, Castillejo G et al. *Influence of environmental and genetic factors linked to celiac disease risk on infant gut colonization by Bacteroides species*. Applied and environmental microbiology. 2011; 77(15): 5316-23.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00365-11>
PMid:21642397 PMCID:PMC3147488
46. Olivares M, Neef A, Castillejo G, Palma GD, Varea V, Capilla A et al. *The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease*. Gut. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-306931>
47. Li E, Hamm CM, Gulati AS, Sartor RB, Chen H, Wu X et al. *Inflammatory bowel diseases phenotype, C. difficile and NOD2 genotype are associated with shifts in human ileum associated microbial composition*. PloS one. 2012; 7(6): e26284.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0026284>
PMid:22719818 PMCID:PMC3374607
48. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. *Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing*. The Journal of allergy and clinical immunology. 2001; 107(1): 129-34.
<http://dx.doi.org/10.1067/mai.2001.111237>
PMid:11150002
49. Fagarasan S, Honjo T. *Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences*. Nat Rev Immunol. 2003; 3(1): 63-72.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri982>
PMid:12511876
50. Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL et al. *Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota*. Nature. 2013; 497(7448): 258-62.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature12079>
PMid:23624374 PMCID:PMC3711137
51. Rajagopalan G, Polich G, Sen MM, Singh M, Epstein BE, Lytle AK et al. *Evaluating the role of HLA-DQ polymorphisms on immune response to bacterial superantigens using transgenic mice*. Tissue antigens. 2008; 71(2): 135-45.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2007.00986.x>
PMid:18086265
52. Di Sabatino A, Corazza GR. *Coeliac disease*. Lancet. 2009; 373(9673): 1480-93.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60254-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60254-3)

53. Romanos J, Rosen A, Kumar V, Trynka G, Franke L, Szperl A et al. *Improving coeliac disease risk prediction by testing non-HLA variants additional to HLA variants*. Gut. 2014; 63(3): 415-22.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304110>
PMid:23704318 PMCID:PMC3933173
54. Parmar AS, Alakulppi N, Paavola-Sakki P, Kurppa K, Halme L, Farkkila M et al. *Association study of FUT2 (rs601338) with celiac disease and inflammatory bowel disease in the Finnish population*. Tissue antigens. 2012; 80(6): 488-93.
<http://dx.doi.org/10.1111/tan.12016>
PMid:23075394
55. Wacklin P, Makivuokko H, Alakulppi N, Nikkila J, Tenkanen H, Rabina J et al. *Secretor genotype (FUT2 gene) is strongly associated with the composition of Bifidobacteria in the human intestine*. PloS one. 2011; 6(5): e20113.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0020113>
PMid:21625510 PMCID:PMC3098274
56. Shippa S, Iebba V, Barbaro M, Di Nardo G, Totino V, Checchi MP et al. *A distinctive "microbial signature" in celiac pediatric patients*. BMC Microbiol. 2010; 10: 1757.
57. Di Cagno R, De Angelis M, De Pasquale I, Ndagijimana M, Vernocchi P, Ricciuti P et al. *Duodenal and faecal microbiota of celiac children: molecular, phenotypic and metabolome characterization*. BMC Microbiol. 2011; 11: 219.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-11-219>
PMid:21970810 PMCID:PMC3206437
58. Nistal E, Caminero A, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Saenz de Miera LE, Rodriguez-Aparicio LB et al. *Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients*. Biochimie. 2012; 94(8): 1724-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.03.025>
PMid:22542995
59. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and non-active coeliac disease*. BMC Microbiol. 2008; 8: 232.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-8-232>
PMid:19102766 PMCID:PMC2635381
60. Golfetto L, Senna FD, Hermes J, Beserra BT, Franca Fda S, Martinello F. *Lower bifidobacteria counts in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet*. Arq Gastroenterol. 2014; 51(2): 139-43.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-28032014000200013>
PMid:25003267

61. Kalliomaki M, Satokari R, Lahteenoja H, Vahamiko S, Gronlund J, Routi T et al. *Expression of microbiota, Toll-like receptors, and their regulators in the small intestinal mucosa in celiac disease*. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2012; 54(6): 727-32.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318241cfa8>
PMid:22134550
62. Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, Collin P, Lindfors K, Partanen J et al. *The duodenal microbiota composition of adult celiac disease patients is associated with the clinical manifestation of the disease*. Inflammatory bowel diseases. 2013; 19(5): 934-41.
<http://dx.doi.org/10.1097/MIB.0b013e31828029a9>
PMid:23478804
63. Forsberg G, Fahlgren A, Horstedt P, Hammarstrom S, Hernell O, Hammarstrom ML. *Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood celiac disease*. The American journal of gastroenterology. 2004; 99(5): 894-904.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04157.x>
PMid:15128357
64. Ou G, Hedberg M, Horstedt P, Baranov V, Forsberg G, Drobni M et al. *Proximal small intestinal microbiota and identification of rod-shaped bacteria associated with childhood celiac disease*. The American journal of gastroenterology. 2009; 104(12): 3058-67.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2009.524>
PMid:19755974
65. 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 gastroenterology. 2008; 8: 50.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-8-50>
PMid:18983674 PMCID:PMC2615025
66. Sánchez E, Laparra JM, Sanz Y. *Discerning the role of Bacteroides fragilis in celiac disease pathogenesis*. Applied and environmental microbiology. 2012; 78(18): 6507-15.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00563-12>
PMid:22773639 PMCID:PMC3426693
67. Sánchez E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Intestinal Staphylococcus spp. and virulent features associated with coeliac disease*. Journal of clinical pathology. 2012; 65(9): 830-4.
<http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2012-200759>
PMid:22718843
68. Fasano A, Shea-Donohue T. *Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases*. Nature clinical practice Gastroenterology & hepatology. 2005; 2(9): 416-22.
<http://dx.doi.org/10.1038/ncpgasthep0259>
PMid:16265432

69. Laparra JM, Sanz Y. *Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion*. Journal of cellular biochemistry. 2010; 109(4): 801-7.
PMid:20052669
70. Koropatkin NM, Cameron EA, Martens EC. *How glycan metabolism shapes the human gut microbiota*. Nature reviews Microbiology. 2012; 10(5): 323-35.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2746>
71. Cinova J, De Palma G, Stepankova R, Kofronova O, Kverka M, Sanz Y et al. *Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: study in germ-free rats*. PloS one. 2011; 6(1): e16169.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016169>
PMid:21249146 PMCID:PMC3020961
72. Hüe S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J et al. *A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease*. Immunity. 2004; 21(3): 367-77.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>
PMid:15357948
73. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR et al. *Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function*. Gut. 2003; 52(2): 218-23.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.2.218>
PMid:12524403 PMCID:PMC1774976
74. Fernandez-Feo M, Wei G, Blumenkranz G, Dewhirst FE, Schuppan D, Oppenheim FG et al. *The cultivable human oral gluten-degrading microbiome and its potential implications in coeliac disease and gluten sensitivity*. Clin Microbiol Infect. 2013; 19,E386-94.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12249>
PMid:23714165 PMCID:PMC3749263
75. Caminero A, Herrán AR, Nistal E, Pérez-Andrés J, Vaquero L, Vivas S et al. *Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease*. FEMS Microbiol Ecol. 2014; 88(2): 309-19.
<http://dx.doi.org/10.1111/1574-6941.12295>
PMid:24499426
76. Orlando A, Linsalata M, Notarnicola M, Tutino V, Russo F. *Lactobacillus GG restoration of the gliadin induced epithelial barrier disruption: the role of cellular polyamines*. BMC microbiology. 2014; 14: 19.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-14-19>
PMid:24483336 PMCID:PMC3911798
77. Sjoberg V, Sandstrom O, Hedberg M, Hammarstrom S, Hernell O, Hammarstrom ML. *Intestinal T-cell responses in celiac disease - impact of celiac disease associated bacteria*. PloS one. 2013; 8(1): e53414.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0053414>
PMid:23326425 PMCID:PMC3541273

78. D'Arienzo R, Stefanile R, Maurano F, Mazzarella G, Ricca E, Troncone R et al. *Immunomodulatory effects of Lactobacillus casei administration in a mouse model of gliadin-sensitive enteropathy*. Scandinavian journal of immunology. 2011; 74(4): 335-41.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02582.x>
PMid:21615450
79. Laparra JM, Olivares M, Gallina O, Sanz Y. *Bifidobacterium longum CECT 7347 modulates immune responses in a gliadin-induced enteropathy animal model*. PLoS One, 2012; 7(2): e30744.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030744>
PMid:22348021 PMCID:PMC3277586
80. Medina M, De Palma G, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Bifidobacterium strains suppress in vitro the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients*. Inflamm (Lond). 2008; 5: 19.
<http://dx.doi.org/10.1186/1476-9255-5-19>
PMid:18980693 PMCID:PMC2640389
81. De Palma G, Kamanova J, Cinova J, Olivares M, Drasarova H, Tuckova L et al. *Modulation of phenotypic and functional maturation of dendritic cells by intestinal bacteria and gliadin: relevance for celiac disease*. J Leukoc Biol. 2012; 92(5): 1043-54.
<http://dx.doi.org/10.1189/jlb.1111581>
PMid:22891290
82. Miranda J, Lasa A, Bustamante MA, Churrua I, Simon E. *Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten*. Plant foods for human nutrition. 2014; 69(2): 182-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-014-0410-4>
PMid:24578088
83. Olivares M, Castillejo G, Varea V, Sanz Y. *Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of Bifidobacterium longum CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease*. The British journal of nutrition. 2014; 112(1): 30-40.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514000609>
PMid:24774670
84. Marietta EV, Gomez AM, Yeoman C, Tilahun AY, Clark CR, Luckey DH et al. *Low incidence of spontaneous type 1 diabetes in non-obese diabetic mice raised on gluten-free diets is associated with changes in the intestinal microbiome*. PloS one. 2013; 8(11): e78687.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078687>
PMid:24236037 PMCID:PMC3827256
85. Hanser CH, Krych L, Buschard K, Metzдорff SB, Nellesmann C, Hansen LH et al. *A maternal gluten-free diet reduces inflammation and diabetes incidence in the offspring of NOD mice*. Diabetes, 2014; 63(8): 2821-32.
<http://dx.doi.org/10.2337/db13-1612>
PMid:24696449

86. Hansen CH, Krych L, Nielsen DS, Vogensen FK, Hansen LH, Sorensen SJ et al. *Early life treatment with vancomycin propagates Akkermansia muciniphila and reduces diabetes incidence in the NOD mouse.* Diabetologia. 2012; 55(8): 2285-94.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00125-012-2564-7>

PMid:22572803

87. Smecuol E, Hwang HJ, Sugai E, Corso L, Chernavsky AC, Bellavite FP et al. *Exploratory, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the effects of Bifidobacterium infantis natrene life start strain super strain in active celiac disease.* Journal of clinical gastroenterology. 2013; 47(2): 139-47.

<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31827759ac>

PMid:23314670

88. Klemenak M, Dolinšek J, Langerholc T, Di Gioia D, Mičetić-Turk D. *Administration of Bifidobacterium breve Decreases the Production of TNF- α in Children with Celiac Disease.* Dig Dis Sci. 2015 Nov;60(11):3386-92

CAPÍTULO 6

TERAPIAS ADYUVANTES Y OPCIONES A LA DIETA SIN GLUTEN EN LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Justin L. McCarville, Alberto Caminero, Elena F. Verdu

Farncombe Family Digestive Health Research Institute; Universidad McMaster; Hamilton, Ontario, Canadá.

mccarvjl@mcmaster.ca acamine@mcmaster.ca verdue@mcmaster.ca

Cómo citar este capítulo:

Terapias Adyuvantes y Alternativas a la Dieta sin Gluten en la Enfermedad Celíaca. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten.*

Resumen

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica que aparece en individuos genéticamente susceptibles cuando ingieren gluten. El único tratamiento aceptado actualmente para la EC, es una dieta sin gluten (DSG) de por vida. A pesar de que la DSG ha demostrado ser segura y eficaz en la mayoría de los pacientes con EC, existen limitaciones que justifican nuevas terapias adyuvantes para el tratamiento de la EC. Las terapias en desarrollo para la EC se incluyen en las siguientes categorías 1) Eliminación de la toxicidad del gluten. 2) Terapias lumbinales. 3) Terapias de fortalecimiento de la barrera intestinal. 4) Terapias dirigidas a la reacción inflamatoria. 5) Terapias experimentales.

La eliminación de la toxicidad del gluten se basa en alterar las proteínas de los alimentos, antes de su comercialización. Las terapias lumbinales buscan neutralizar el gluten en la luz del intestino delgado. Entre ellas se incluyen la terapia de digestión enzimática, los probióticos y los aglutinantes del gluten. Las terapias fortalecedoras de la barrera intestinal disminuyen el pasaje de péptidos de gluten, o de otros antígenos dañinos, hacia la lámina propia. Las terapias dirigidas contra la reacción inflamatoria incluyen bloqueadores de la transglutaminasa 2 (TG2), bloqueadores del HLA, modulación de las células T y de los mediadores inflamatorios y vacunación o desensibilización. Finalmente, las terapias experimentales comprenden compuestos o estrategias biológicas que se hallan en fase de estudio. Entre estas, ha propuesto recientemente que la Elafina tiene un papel protector en la barrera intestinal y disminuye la inflamación por gluten en un modelo animal. Hasta la fecha, ninguna de las terapias bajo discusión han sido aprobadas para uso clínico y se hallan en diferentes etapas de desarrollo. No obstante, las terapias adyuvantes a la DSG probablemente estarán disponibles en un futuro cercano y mejorarán la calidad de vida de pacientes que viven con trastornos relacionados con el gluten.

Palabras clave

Terapias para la EC, alternativas sin gluten, terapias celíacas, eliminación de la toxicidad del gluten, proteólisis del gluten.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía autoinmune crónica que aparece cuando individuos genéticamente susceptibles ingieren gluten en la dieta. Los pacientes con un diagnóstico de EC necesitan adoptar una dieta sin gluten (DSG) de por vida¹. Esta, por sí sola, conduce a una mejoría clínica e histológica significativa en pacientes con EC, aunque a menudo resulta en una carga social. La DSG resulta costosa, no está fácilmente disponible en muchos países y, si no es adecuadamente supervisada, puede conducir a la aparición de deficiencias nutricionales que pueden afectar a la calidad de vida del paciente. Una dieta que contenga gluten, basada en el consumo de cereales como trigo, cebada y centeno, es una importante fuente de aporte de hierro, fibra dietaria y vitamina B²⁻⁴. Uno de los principales problemas subyacentes del cumplimiento de la DSG reside en la dificultad de evitar completamente el gluten⁵ debido a su presencia en alimentos procesados y a su utilización en cosméticos y en la industria farmacéutica. El gluten puede estar presente en alimentos que contienen almidón, como la salsa de soja y la cerveza, de modo que los pacientes con EC pueden estar expuestos a pequeñas cantidades de gluten que generan inflamación⁶. Existen estudios que han demostrado que la recuperación de la mucosa no es inmediata al iniciar la DSG y que una proporción notable de pacientes con EC, presentan inflamación de bajo grado, pero de larga duración, en la mucosa del intestino delgado⁷⁻¹⁰. Por lo tanto, a pesar de que la DSG ha demostrado ser una terapia segura y efectiva, las limitaciones descritas anteriormente justifican la necesidad de nuevas terapias adyuvantes para el tratamiento de la EC. Con base en el conocimiento actual sobre la patogenia de la EC, se están explorando varias dianas terapéuticas potenciales y se han publicado diversos estudios sobre este tema¹¹⁻¹³. El objetivo de este capítulo es resumir las estrategias actuales y discutir el progreso reciente en el desarrollo de tratamientos adyuvantes potenciales para la EC.

2. Eliminación de la Toxicidad del Gluten

El trigo, y las proteínas relacionadas en la cebada y el centeno, activan la EC en personas genéticamente susceptibles. La clave para el manejo de la EC es la completa eliminación de las proteínas de gluten que contienen estos cereales¹⁴. Actualmente se están desarrollando técnicas novedosas para generar variedades de cereales con menor capacidad inmunogénica o tóxica para pacientes con EC. Para lograr este objetivo, se ha propuesto el cultivo selectivo y la manipulación genética de los granos que activan la enfermedad¹⁵⁻¹⁷. El uso de herramientas de ingeniería genética para disminuir la expresión génica mediante ARN de interferencia (iARN), representa una oportunidad atractiva para reducir los componentes inmunotóxicos del gluten. Esta tecnología ha sido aplicada para disminuir la expresión de gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular en el pan de trigo. Los resultados han demostrado la utilidad del iARN para silenciar genes específicos que corresponden a las proteínas de gluten que se sabe son fuentes de péptidos inmunogénicos¹⁸⁻²². La harina procedente de estas líneas podría representar un gran avance en el desarrollo de nuevos productos para la comunidad celíaca. No obstante, se necesitan estudios adicionales, tales como pruebas clínicas en pacientes con trastornos relacionados con el gluten, para determinar si el pro-

ducto puede ser consumido por la población celíaca en general^{18,23}.

Una estrategia alternativa para eliminar la toxicidad del gluten es la digestión de péptidos de gluten inmunogénicos, mediante peptidasas, durante el procesamiento de alimentos y antes de la administración a pacientes con EC²⁴. A diferencia de las proteasas digestivas de los mamíferos, las enzimas proteolíticas de plantas, hongos y microorganismos pueden hidrolizar los péptidos tóxicos de los alimentos, para convertirlos en amino ácidos y péptidos no tóxicos²⁵. Di Cagno y cols. (2010) han aislado variedades de *Lactobacillus* a partir de pan de masa fermentada, que presentaron considerable hidrólisis de gliadinas durante la fermentación, e investigaron un método novedoso de panificación para producir panes de masa fermentada seguros²⁶. De forma similar, Rizello et al. (2007) demostraron que la fermentación con una fórmula compleja de *Lactobacillus* de pan de masa fermentada y proteasas procedentes de hongos, disminuyó considerablemente la concentración de gluten. En un estudio clínico se demostró que esta harina de trigo hidrolizada durante el procesamiento de alimentos es segura para el consumo de algunos pacientes con EC^{27,28}. A pesar de que los resultados de la interferencia de ARN y de la utilización de proteasas en la fermentación del pan son prometedores, se plantean dos preguntas importantes. 1: El modo en que ello afectaría la calidad del producto 2: Si sería seguro el consumo generalizado de estos alimentos por parte de pacientes con EC^{14,15,23}.

3. Terapias Luminales

3.1. Terapia Enzimática

Las proteínas de gluten son solo parcialmente digeridas por las enzimas digestivas humanas. Como consecuencia, la digestión gastrointestinal del gluten conduce a la generación de péptidos tóxicos, que activan la inflamación en individuos genéticamente susceptibles²⁹. Por lo tanto, la terapia enzimática oral se enfoca sobre la inactivación de los péptidos de gluten inmunogénicos en el tracto gastrointestinal humanos^{30,31}. Las enzimas capaces de llevar a cabo este proceso que han sido más ampliamente estudiadas son las proteasas de la familia de las prolil endopeptidasas (PEPs), que no se hallan presentes en humanos. Los PEP de *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata* y *Myxococcus xanthus*, son capaces de degradar regiones inmunogénicas presentes en las proteínas de gluten³²⁻³⁴.

Para que estas enzimas sean efectivas, deben ser resistentes tanto al ambiente ácido como a las proteasas digestivas del estómago. Además, la mayor parte de la hidrólisis de los epítomos debería de ocurrir en el estómago, para evitar que los péptidos tóxicos entren en el intestino delgado y activen respuestas inmunes. A pesar de que el encapsulamiento de PEPs fue propuesto para protegerlas de las secreciones gástricas, estudios recientes han demostrado que solamente dosis elevadas de PEPs son capaces de eliminar péptidos inmunogénicos de una carga diaria de gluten^{35,36}. AN-PEP es una enzima derivada del hongo *Aspergillus niger*, que está siendo desarrollada por una empresa alimentaria (DSM)³⁷. Estudios *in vitro* han demostrado que la AN-PEP presenta actividad a un

pH ácido, resiste la digestión por parte de la pepsina y degrada péptidos inmunogénicos del gluten, con una vida media que oscila entre 2 y 6 minutos^{34,38}. Con base en estos hallazgos *in vitro*, se hallan en marcha varios estudios *in vivo* en pacientes con EC. A pesar de que pacientes con EC parecen tolerar bien la AN-PEP, la mejoría clínica en estos pacientes no es clara³⁹ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01225503). Otro fármaco candidato es ALV003, el cual consiste en una mezcla de dos glutenasas (ALV001 y ALV002) que se administra oralmente⁴⁰. ALV001 es una endoproteasa de cisteína específica para la glutamina, derivada de semillas de cebada germinadas (EP-B2) y ALV002 es una PEP procedente de la bacteria *Sphingomonas capsulata*^{33,41}. Ambas enzimas presentan actividad en el ambiente ácido de estómago y una fórmula de 1:1 (w/w) (ALV003) potencia su actividad glutenásica³³. Se han llevado a cabo pruebas clínicas en Fase 1 y Fase 2a con ALV003 en pacientes con EC. Estos estudios demostraron que ALV003 puede atenuar el daño inducido por el gluten a la mucosa intestinal y reducir la respuesta inmune frente al gluten en pacientes con EC; pero ALV003 no mejoró la respuesta clínica (NCT00959114 y NCT01233696)^{42,43}. Se está realizando actualmente un estudio en Fase 2b aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, basado en dosificación, sobre la eficacia y la seguridad del tratamiento con ALV003, en pacientes con EC sintomática (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01917630). Una tercera mezcla de proteasas (STAN 1) ha sido evaluada en una prueba clínica en Fase 2 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00962182). STAN 1 es un cóctel de enzimas microbianas, utilizadas en suplementos alimentarios, que presentaron una modesta capacidad de reducir la toxicidad del gluten^{31,44}. El estudio evaluó el efecto del STAN1 en pacientes con EC, que ingirieron 1g de gluten diario durante 12 semanas. No se hallaron diferencias serológicas entre el grupo del placebo y los pacientes tratados con STAN1^{44,45}. Un contratiempo común en la terapia de enzimas orales parece ser la necesidad de un mecanismo de administración de enzimas suficientemente activo para permitir la interacción con péptidos inmunogénicos presentes en una carga diaria de gluten. No obstante, a pesar de que probablemente estas enzimas no eliminen la necesidad de la DSG, podrían aportar una flexibilidad sustancial y una prevención de los efectos secundarios ocasionados por la exposición de bajas cantidades de gluten, lo que reduciría las complicaciones a largo plazo y el retraso en la recuperación de la mucosa¹². Una bacteria saprofita beneficiosa, que produzca *in situ* enzimas proteolíticas específicas para el gluten sería una alternativa atractiva.

3.2. Terapia Probiótica

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios de salud al huésped⁴⁶. Los probióticos poseen una variedad de efectos inmunomoduladores, fortalecedores de la barrera e incluso moduladores del ánimo, que podrían ser atractivos para los pacientes con EC⁴⁷⁻⁴⁹. Se ha demostrado que la preparación probiótica VSL#3 hidroliza las proteínas de gliadina *in vitro* y podría producir gliadinas pre-digeridas, durante el procesamiento de alimentos⁵⁰. Otros estudios realizados con cultivos celulares y modelos de ratón con sensibilidad al gluten han demostrado que bacterias probióticas particulares tales como *Bifidobacterium lactis* o *Lactobacillus casei*, podrían ser de utilidad potencial en la EC⁵¹⁻⁵³. La administración de una variedad específica de *Bifidobacterium infantis* a pacientes con

EC activa, (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01257620) produjo una mejoría de los síntomas, acompañados por cambios inmunogénicos, sin cambio significativo en la permeabilidad intestinal⁵⁴.

Otra opción sugerida para facilitar la degradación del gluten y la modulación inmune incluye el uso de bacterias procedentes del tracto gastrointestinal humano. Varios estudios realizados por grupos diferentes han descrito diferencias sustanciales en la microbiota intestinal de pacientes con EC⁵⁵⁻⁵⁷. La *Bifidobacterium longum* CECT7347 es una cepa bacteriana probiótica, aislada a partir de un niño sano amamantado, con efectos anti-inflamatorios y actividad proteolítica sobre los péptidos de gliadina *in vitro*⁵⁸⁻⁶⁰. Actualmente se ha completado una prueba de intervención, doble ciega, aleatorizada, controlada con placebo, para evaluar los efectos del *Bifidobacterium longum* CECT 7347, en niños recién diagnosticados con EC. Estos hallazgos sugieren que *B. longum* CECT 7347 podría mejorar la salud de pacientes con EC que tienden a presentar alteraciones en la composición de la microbiota intestinal y una respuesta inmune sesgada, aun siguiendo una DSG⁶¹. Varios estudios han aislado variedades de bacterias saprofitas de la cavidad oral humana y del intestino grueso que poseen la capacidad de hidrolizar péptidos ricos en prolina, incluyendo péptidos inmunogénicos de la gliadina, como el 33-mer y el 26-mer. Estas bacterias son probióticos candidatos de interés en el tratamiento de la EC^{62,63}. Por ejemplo, algunas variedades de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* han mostrado efectos beneficiosos *in vitro*, debido a la inmunomodulación y restauración del trastorno de la barrera epitelial^{60,64}. Son necesarios datos pre-clínicos y clínicos adicionales para sustentar el uso de probióticos específicos en pacientes con EC.

Debido a la capacidad de los PEPs de hidrolizar gluten, Álvarez-Sieiro y cols. (2014) han desarrollado mediante ingeniería genética dos variedades de *Lactobacillus casei* de grado alimentario capaces de producir PEP. Una variedad libera PEP en el ambiente circundante, mientras que la segunda, retiene el PEP intracelularmente. La variedad que secreta extracelularmente es la más efectiva en degradar 33-mer y es resistente al estrés gastrointestinal. Los resultados sugieren que, en el futuro, una bacteria de ingeniería genética (OMG) de grado alimentario podría ser útil como vector para la producción *in situ* de PEP en el intestino delgado superior de pacientes con EC⁶⁵. Esto podría plantear discusiones sobre la aceptabilidad de los OMG, a pesar de se ha demostrado que pueden ser administrados con seguridad a ratones y humanos^{66,67}.

3.3. Polímero de Unión al Gluten: BL-7010

El polímero de unión al gluten BL-7010 o copolímero poli(hidroxítíl metacrilato-co-estireno sulfonato (P(HEMA-co-SS) es una molécula no absorbible que se une intraluminalmente, con alta especialización, con gliadina o gluten. Al ligar el polímero con gliadina, las enzimas digestivas no tienen acceso a los sitios de escisión de la proteína, evitando la producción de péptidos inmunogénicos⁶⁸. Adicionalmente estos péptidos no son absorbidos por el intestino delgado y por lo tanto, no parecen inducir respuestas inmunes en el huésped. BL-7010 ha demostrado tener efectos preclínicos beneficiosos *in vitro*⁶⁹ e *in vivo* usando un modelo de ratón humanizado, sensi-

bilizado al gluten. BL-7010 disminuyó la patología asociada con el gluten, incluyendo linfocitosis intraepitelial, relación reducida de vellosidades a las criptas y normalización de la alteración de la función de barrera⁶⁸. Esta terapia presenta un elevado perfil de seguridad en modelos animales y las pruebas preclínicas en Fase 1 se hallan actualmente en progreso (ClinicalTrials.gov Identifier: NTC01990885).

4. Terapias de Fortalecimiento de la Barrera

La EC está asociada con trastornos de la barrera⁷⁰ y deterioro de la función de las *tight-junction* (TJ)^{71,72}. Los mecanismos para la translocación de péptidos de gluten en la EC son controvertidos y se han propuesto varias vías^{73,74}. Una se halla relacionada con aumentos en la absorción paracelular e incrementos en la liberación de zonulina, un modulador endógeno de las TJ⁷⁵. Se ha descrito que la zonulina está regulada por la unión directa de gliadina con CXCR3 en las células epiteliales intestinales, lo que incrementa su liberación y posterior disminución de la función de la barrera⁷⁴. El acetato de lazarotide o AT-1001 está siendo desarrollado como modulador de TJ por *Alba Therapeutics*. Esta molécula es un octapéptido, derivado de la toxina del cólera, segregada por la bacteria *Vibrio cholerae*⁴⁴. Se ha demostrado que el acetato de lazarotide promueve la reestructuración de la actina y previene el desmontaje de las uniones estrechas (*tight junction*), debido a estímulos externos⁷⁶, incluyendo gliadina⁷⁷, en cultivos celulares. Este pequeño péptido inhibió la translocación de los elementos constituyentes de la gliadina (13-mer), a través de las monocapas de cultivo celular *in vitro*⁷⁷. En un modelo animal *in vivo*, la administración de acetato de lazarotide normalizó las proteínas de las TJ, e inhibió el reclutamiento de macrófagos en el intestino, inducido por gliadina⁷⁷. En contraste con individuos con EC que recibieron placebo, AT-1001 tendió a revertir la permeabilidad intestinal incrementada en pacientes con EC bajo provocación con gluten, aunque no tuvo significación estadística⁷⁸. No obstante, el acetato de lazarotide redujo los síntomas gastrointestinales inducidos por gluten⁷⁹, así como los niveles de INF- γ . Un estudio de seguimiento demostró que los pacientes con EC que se adhieren a la DSG recibiendo una sobrecarga diaria de 2.7 gramos de gluten y acetato de lazarotide presentaron menores niveles de IgA TG2 en contraste con pacientes que recibieron placebo y la misma dieta⁸⁰. Los resultados de las pruebas en Fase 2b han sido recientemente publicados por *Alba Therapeutics*. Los síntomas GI y no-GI se redujeron en individuos que habían seguido la DSG durante más de 12 meses, mientras consumieron acetato de lazarotide, en comparación con placebo. El acetato de lazarotide pasará ahora a pruebas fase 3⁸¹.

5. Terapias Dirigidas a la Inmunidad

Existen varias terapias inmunes en desarrollo para la inflamación gastrointestinal crónica que podrían aplicarse a la EC. Algunas se dirigen a vías específicas y otras a mediadores inflamatorios comunes en la inflamación gastrointestinal. Por ejemplo, los fármacos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) podrían ser de utilidad en la EC⁴⁴. Por otro lado, las te-

terapias específicas para inmunidad en la EC incluyen bloqueadores de transglutaminasa-2 (TG2), bloqueadores de antígeno leucocitario humano (HLA), anticuerpos monoclonales anti-IL-15 y estrategias de vacunación²⁵.

5.1. Bloqueantes de TG2

La TG2 posee un papel crítico en la patogenia de la EC, al enmascarar los epítomos del gluten reconocidos por las células T mediante deaminación⁸². Por lo tanto esta, es de gran interés como diana terapéutica. Se ha desarrollado una gran cantidad de bloqueantes de TG2, ya que esta enzima se halla también asociada con otras enfermedades, tales con la Enfermedad de Huntington y algunos tipos de cáncer⁸³. Estos diferentes subgrupos de inhibidores de TG2 incluyen inhibidores competitivos de aminas, inhibidores reversibles e inhibidores irreversibles⁸⁴. No se ha demostrado el bloqueo *in vivo* de la TG2 en humanos y los modelos *in vivo*. Por lo tanto, la mayoría de los estudios se ha concentrado en modelos *in vitro* e *in situ*. Los inhibidores de la TG2 son capaces de reducir ciertos efectos inducidos *in vitro* por la gliadina⁸⁵. En cultivos de biopsias de pacientes con EC, los bloqueantes son capaces de reducir las células CD25+ e IL-15+ inducidas por el gluten. El inhibidor de TG2 cistamina condujo a una reducción en la proliferación de células T específicas de gliadina⁸³. De manera similar, se ha demostrado que el inhibidor L682777 2-[(2-oxopropilo)tio]imidazolio es eficaz al bloquear la activación de las células T en biopsias del intestino delgado al ser incubadas con gliadina no deaminada⁸³. El ERW1041E es el único inhibidor hasta la fecha, que ha demostrado *in vivo*, ser efectivo al bloquear TG2⁸⁶. La significación biológica de los inhibidores de la TG2 es desconocida, ya que la función biológica exacta de la TG2 aún no está clara. No se han observado efectos secundarios *in situ* e *in vitro* hasta la fecha⁸³. No obstante, ello tendrá que ser definido antes de planear pruebas clínicas. Gianfrani y cols. (2007) han propuesto una estrategia de enzimas para desactivar los péptidos inmunogénicos y al mismo tiempo, preservar la integridad de la estructura de la proteína utilizando transaminación de harina de trigo, con una enzima de grado alimentario y un donante de aminas apropiado. Los autores trataron harina de trigo con una transglutaminasa microbiana y ester metílico de lisina generando péptidos de gliadina modificados que disminuyeron su afinidad con los HLA-DQ⁸⁷.

5.2. Bloqueantes de HLA

El componente genético de la EC son las moléculas HLA-DQ2/8, necesarias para el desarrollo de la enfermedad, convirtiéndolas en una diana terapéutica deseable. Los bloqueantes han sido puestos a prueba como terapia en otras enfermedades, tales como esclerosis múltiple y artritis reumatoide²⁵. Los investigadores están desarrollando moléculas con estructura similar a la gliadina, que no susciten una respuesta inmune. Kaporerchan y cols. (2013) desarrollaron una estrategia en la que los residuos de prolina de gluten fueron sustituidos con azidoprolinas. Esta molécula se une con HLA-DQ2, reduciendo las respuestas inmunes en células T aisladas provenientes de individuos con EC⁸⁸. Xia y cols. (2007) desarrollaron péptidos cíclicos y diméricos con la capacidad de

ligar DQ2, bloqueando parcialmente la proliferación de células T y presentación de antígenos⁸⁴. No obstante, estas moléculas no bloquean plenamente la activación de las células T²⁵.

5.3. Terapias Dirigidas frente a Células T

Las células T poseen un papel crítico en la patología de la EC, son responsables de la respuesta inmune proinflamatoria y de la aparición de atrofia vellositaria⁸⁹. No existen, en desarrollo, terapias específicas para EC mediadas por células T. Los anticuerpos monoclonales anti-CD3 podrían bloquear células T patogénicas específicas para el gluten²⁵ y actualmente están siendo sometidas a pruebas clínicas para diabetes y colitis ulcerosa. El CCR9 es un receptor de quimiocinas de las células T y los antagonistas de este receptor están actualmente siendo sometidos a pruebas clínicas para EC²⁵ y Enfermedad de Crohn⁹⁰. El fármaco CCX282-B, *Vercirnon* o *Traficet-EN* podría ser efectivo en la EC, al bloquear el reclutamiento de células T hacia el intestino. *Traficet-EN* está siendo investigado en una prueba clínica Fase 2a (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00540657)⁴⁴.

5.4. Trastornos de Mediadores de Inflamación

Un porcentaje de pacientes con EC presentan niveles elevados de IL-15, la cual es un citoquina que presenta una función crítica en la activación de linfocitos intraepiteliales (LIE) y une las respuestas innata y adaptativa en la EC^{91,92}. Por lo tanto, podría ser deseable bloquear la IL-15 en individuos con EC. Se ha demostrado *in vivo* que la destrucción del intestino delgado puede ser revertida cuando se bloquea la IL-15 con un anticuerpo monoclonal⁹³. La versión humanizada de este anticuerpo ha sido probada con éxito en humanos para el tratamiento de la leucemia linfocítica granular (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00076180)⁹⁴. El anticuerpo Hu-Mik- β -1 se dirige frente a la IL-2/IL-15R β bloqueando la trans-presentación de IL-15⁹⁵. El reclutamiento para pruebas clínicas para Hu-Mik- β -1 en EC se halla en progreso (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01893775). El *Tofacitinib*, un inhibidor del Jak2/3 que bloquea la señalización de IL-15, revirtió el daño relacionado con la EC en un modelo de ratón transgénico IL-15⁹⁶.

5.5. Terapia con Vacunas

La terapia con vacunas para la EC, se basa en el concepto de que puede inducirse la tolerancia inmune frente a un antígeno mediante la exposición repetida al mismo. En el caso de la EC, la inmunización con epítomos de gluten induciría la expansión de las células T reguladoras⁹⁷, restaurando la tolerancia oral al gluten. NEXVAX2 está siendo desarrollado por *ImmunsanT* para el tratamiento de la EC y comprende el uso de tres epítomos de gluten. Estos péptidos fueron seleccionados basándose en un estudio realizado por Tye-Din y Col. (2010), en el que se analizó una biblioteca conteniendo 16.000 péptidos de trigo, cebada y centeno, de acuerdo con su capacidad de inducir y estimular células T aisladas del suero de pacientes con EC, que siguen una dieta que contiene gluten. Identificaron tres péptidos responsables de la mayoría de las respuestas inmunes,

por parte de las células T aisladas, que han sido incorporadas a la vacuna⁹⁸. Esta terapia requiere de inyecciones intradérmicas repetidas y actualmente se halla en Fase 1b (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT0087949)^{44,99}. NEXVAX2 es específica solo para individuos HLA-DQ2 (90% de la población con EC)^{25,99}. Entre las terapias bajo desarrollo, la estrategia de vacunas sería curativa si resultara ser eficaz.

6. Terapias Alternativas

6.1. *Necator Americanus*

El parásito *Necator americanus* es un nematodo gastrointestinal humano o anquilostoma, que infecta a más de 500 millones de personas mundialmente¹⁰⁰. La infección con este anquilostoma no tiene grandes efectos secundarios y se asocia con una apariencia normal de la mucosa en biopsias duodenales¹⁰¹. No obstante el desarrollo de anemia podría ser un problema, ya que el parásito se alimenta de la sangre de su huésped (0.03-0.08 mL/día)¹⁰⁰. Se ha demostrado que la administración de larvas infecciosas de *N. americanus* a individuos con EC, suprime el incremento sérico de células CD4+CD25+Foxp3+, que se asocian con la EC¹⁰². Las biopsias duodenales de individuos con EC infectados con *N. americanus* y expuestas al constituyente de gliadina QE65¹⁰³ presentaron una menor capacidad de producir IL-2, IFN- γ e IL-17A¹⁰². En un estudio separado, se demostró que *Necator americanus* revierte los cambios en la relación entre vellosidades y cripta, los incrementos en los LIE, la producción de IgA hacia TG2, la reducción de LIEs productores de IFN γ y células de lámina propia, así como el incremento de células CD3+CD4+Foxp3+ en los compartimientos de LIEs en pacientes con EC, tras una prueba de provocación con gluten¹⁰⁴. *N. americanus* se halla actualmente en pruebas clínicas Fase 2a (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00671138)⁴⁴; no obstante, en comparación con otras terapias en desarrollo, podrían anticiparse algunos efectos secundarios asociados con esta terapia¹⁰⁵. La aceptación por parte de los pacientes también podría ser un problema. No está claro en qué sentido la reducción en CD4+CD24+Foxp3+ sérico podría ser una ventaja en la EC, ya que éstas podrían incluir células T reguladoras de importancia para la supresión de las células T inflamatorias.

6.2. Elafin

Elafin, un inhibidor de serin proteasas de carácter anti-inflamatorio, se encuentra reducido en el colon de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y la administración de elafin a ratones, mejoró la colitis inducida por químicos¹⁰⁶. Recientemente se ha descrito una expresión reducida de elafin en el intestino delgado, de pacientes con EC activa⁹². La administración de elafin en el intestino delgado, mediante la bacteria de grado alimentario *Lactobacillus lactis*, mejoró las respuestas inmunes y patológicas al gluten en un modelo de ratón (NOD-DQ8) que desarrolla proporciones vellosidad-cripta y anticuerpos TG2 anti-gliadina y anti tisulares al ser sensibilizados¹⁰⁷. Investigaciones futuras determinarán la modalidad de administración óptima de esta

molécula en humanos, así como su eficacia clínica.

7. Discusión y Conclusiones

En resumen, existen varias terapias para la EC en desarrollo que están dirigidas a controlar diferentes mecanismos del proceso de la enfermedad. Muchas de estas terapias están siendo sometidas a pruebas clínicas, otras se hallan en niveles de desarrollo iniciales. Actualmente, la terapia más avanzada bajo pruebas clínicas es la terapia fortalecedora de la barrera AT-1001. No obstante, no es posible predecir si este fármaco será el primero en ser aprobado para uso clínico. Aun cuando uno o más fármacos para la EC sean aprobados en el futuro, se requerirán más pruebas para determinar si las terapias de combinación son más eficaces que las terapias únicas. Por ejemplo, la terapia enzimática ALV003, o del aglutinante de gluten BL-7010 podría ser utilizada conjuntamente con la mayoría de las otras terapias disponibles actualmente. No obstante, combinaciones de ALV003 y BL-7010 no serían aconsejables, ya que ambos actúan mediante mecanismos de acción opuestos. Mientras que ALV003, aumenta la digestión proteolítica del gluten, BL-7010 reduce la acción de las enzimas digestivas de la molécula de gluten y la producción de péptidos inmunogénicos. Otras posibles combinaciones podrían incluir la terapia de elafin, si se desarrolla efectivamente, junto con probióticos inmunomoduladores o fortalecedores de la barrera. Finalmente, un tema preocupante es si la disponibilidad de estas terapias podría instar a los pacientes a abandonar la dieta sin gluten. Será necesario establecer claramente las guías para el uso “adyuvante” de estas terapias junto con la DSG. Estos fármacos podrían también ser efectivos en otros trastornos relacionados con el gluten y esto requerirá más investigación. Se avecinan años interesantes en el manejo de los trastornos relacionados con el gluten. La disponibilidad de una o más de las terapias descritas, incrementará la calidad de vida de los pacientes, que que desarrollan reacciones inflamatorias o sintomáticas al gluten.

Tabla 1. Resumen de las terapias actuales en desarrollo para la EC.

Terapia	Producto	Modalidad de acción	Etapas de desarrollo	Referencia
Terapias luminales				
Líneas de <i>Triticum</i> transgénico reducido en gliadina	Trigo para pan con baja expresión de gliadinas dañinas	Material de base para desarrollo de productos alimentarios que puedan ser seguramente tolerados por pacientes con Enfermedad celíaca	Preclínica	18,19

Terapia	Producto	Modalidad de acción	Etapa de desarrollo	Referencia
Terapias luminales				
Trigo para pan de masa fermentada	Peptidasas derivadas de lactobacilos de pan de masa fermentada	Digestión de péptidos de gluten inmunogénicos durante el procesamiento de alimentos	Preclínica	26
	Peptidasas derivadas de lactobacilos de pan de masa fermentada en combinación con proteasas de hongos		2a	28
Transaminación de gliadina	Harina de trigo tratada con TG y lisina métil ester	Desactiva epítomos inmunogénicos mediante transaminación de harina de trigo con una enzima de grado alimentario y un amino donante apropiado	Preclínica	87
Terapia enzimática oral	PEP de <i>S. capsulata</i> , <i>F. meningosepticum</i> , <i>M. xanthus</i>	Hidrólisis de péptidos de gliadina ricos en prolina en el tracto gastrointestinal superior	Preclínica	32,35
	AN-PEP		2a	37, 39
	ALV003		2b	42, 43
	STAN-1		2a	
	VSL#3		Preclínica	50
Bacterias probióticas	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Microorganismos vivos que confieren beneficios de salud al huésped	2a	54
	<i>Bifidobacterium longum</i> CECT7347		2a	58,59,61

Terapia	Producto	Modalidad de acción	Etapas de desarrollo	Referencia
Terapia de ligamiento del gluten	p(HEMA-co-SS) o BL-7010	Liga con el gluten en la luz intestinal, evitando la translocación del gluten y la inducción inmune	Preclínica	68
Terapias de Fortalecimiento de la Barrera				
Activador de zonulina	AT-1001	El acetato de lazarotide inhibe la activación de la zonulina, incrementando las asociaciones entre <i>tight junctions</i> y por lo tanto, disminuye la permeabilidad intestinal	2b	80,81
Terapias Dirigidas a la inmunidad				
Bloqueadores del HLA	Azidoprolinas/ péptidos cíclicos y diméricos	Aglutinantes de HLA-DQ2 que bloquean la proliferación y activación de células T en contra de péptidos naturales de gluten	Preclínica	85,88
Bloqueadores de señalización IL-15	Hu-Mik- β -1	Anticuerpo monoclonal dirigido frente a IL-2/IL-15R β , bloqueando la trans-presentación de IL-15	1	93,94
	Tofacitinib	Inhibidor de Jak2/3 que bloquea señalización IL-15	3 para tratamiento de colitis ulcerosa	96
Antagonista CCR9	Traficet-EN	Antagoniza CCR9 de células T bloqueando su reclutamiento y localización al intestino delgado	2a	90
Vacuna	NEXVAX2	Inyección intradérmica de 3 péptidos de gluten para inducir tolerancia en individuos portadores de HLA-DQ2	1b	44

Terapia	Producto	Modalidad de Acción	Etapa de desarrollo	Referencia
Otras Terapias				
Infección de parásito	<i>Necator americanus</i>	Suprime la inducción de células T CD4+CD24+Foxp3+ séricas, incrementa las células CD3+CD4+Foxp3+ en compartimientos LIE, disminuye IL-2, IFN- γ y IL-17a de biopsias del intestino delgado	2a	101,10
Elafin	L. lactis secretora de elafin	Reduce la severidad de las patologías inducidas por el gluten	Descubrimiento	107

Referencias

1. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH et al. *The Oslo definitions for coeliac disease and related terms*. Gut. 2012.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301346>
2. Kupper C. *Dietary guidelines and implementation for celiac disease*. Gastroenterology. 2005; 128(4 Suppl 1): S121-7.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.024>
PMid:15825119
3. Freeman HJ. *Non-dietary forms of treatment for adult celiac disease*. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 2013; 4(4): 108-12.
PMid:24199026 PMCID:PMC3817285
4. McAllister CS, Kagnoff MF. *The immunopathogenesis of celiac disease reveals possible therapies beyond the gluten-free diet*. Semin Immunopathol. 2012; 34(4): 581-600.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0318-8>
PMid:22674144
5. Hall NJ, Rubin GP, Charnock A. *Intentional and inadvertent non-adherence in adult coeliac disease. A cross-sectional survey*. Appetite. 2013; 68: 56-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2013.04.016>
PMid:23623778
6. Collin P, Mäki M, Kaukinen K. *It is the compliance, not milligrams of gluten, that is essential in the treatment of celiac disease*. Nutr Rev. 2004; 62(12): 490; author reply 1.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2004.tb00022.x>
PMid:15648825
7. Rubio-Tapia A, Murray JA. *Classification and management of refractory coeliac disease*. Gut. 2010; 59(4): 547-57.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.195131>
PMid:20332526 PMCID:PMC2861306
8. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. *Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet*. Am J Gastroenterol. 2010; 105(6): 1412-20.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.10>
PMid:20145607 PMCID:PMC2881171
9. Leffler DA, Dennis M, Hyett B, Kelly E, Schuppan D, Kelly CP. *Etiologies and predictors of diagnosis in nonresponsive celiac disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007; 5(4): 445-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.12.006>
PMid:17382600

10. Theethira TG, Dennis M, Leffler DA. *Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet*. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 8(2): 123-9.
<http://dx.doi.org/10.1586/17474124.2014.876360>
PMid:24417260
11. Pinier M, Fuhrmann G, Verdu EF, Leroux JC. *Prevention measures and exploratory pharmacological treatments of celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105(12): 2551-61; quiz 62.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.372>
PMid:20877349
12. Mukherjee R, Kelly CP, Schuppan D. *Nondietary therapies for celiac disease*. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2012; 22(4): 811-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.giec.2012.09.001>
PMid:23083995
13. Kurppa K, Hietikko M, Sulic AM, Kaukinen K, Lindfors K. *Current status of drugs in development for celiac disease*. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014; 7.
<http://dx.doi.org/10.1517/13543784.2014.916274>
14. Comino I, Moreno MeL, Real A, Rodríguez-Herrera A, Barro F, Sousa C. *The gluten-free diet: testing alternative cereals tolerated by celiac patients*. *Nutrients*. 2013; 5(10): 4250-68.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5104250>
PMid:24152755 PMCID:PMC3820072
15. van den Broeck HC, van Herpen TW, Schuit C, Salentijn EM, Dekking L, Bosch D et al. *Removing celiac disease-related gluten proteins from bread wheat while retaining technological properties: a study with Chinese Spring deletion lines*. *BMC Plant Biol*. 2009; 9: 41.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-9-41>
PMid:19351412 PMCID:PMC2670835
16. Spaenij-Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, van Veelen P, Drijfhout JW, Jonker H, van Soest L et al. *Natural variation in toxicity of wheat: potential for selection of nontoxic varieties for celiac disease patients*. *Gastroenterology*. 2005; 129(3): 797-806.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.06.017>
PMid:16143119
17. Mitea C, Salentijn EM, van Veelen P, Goryunova SV, van der Meer IM, van den Broeck HC et al. *A universal approach to eliminate antigenic properties of alpha-gliadin peptides in celiac disease*. *PLoS One*. 2010; 5(12): e15637.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015637>
PMid:21179575 PMCID:PMC3002971

18. Gil-Humanes J, Pistón F, Altamirano-Fortoul R, Real A, Comino I, Sousa C et al. *Reduced-gliadin wheat bread: an alternative to the gluten-free diet for consumers suffering gluten-related pathologies*. PLoS One. 2014; 9(3): e90898.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090898>
PMid:24621595 PMCID:PMC3951262
19. Gil-Humanes J, Pistón F, Barro F, Rosell CM. *The Shutdown of Celiac Disease-Related Gliadin Epitopes in Bread Wheat by RNAi Provides Flours with Increased Stability and Better Tolerance to Over-Mixing*. PLoS One. 2014; 9(3): e91931.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0091931>
PMid:24633046 PMCID:PMC3954839
20. Gil-Humanes J, Pistón F, Tollefsen S, Sollid LM, Barro F. *Effective shutdown in the expression of celiac disease-related wheat gliadin T-cell epitopes by RNA interference*. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107(39): 17023-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1007773107>
PMid:20829492 PMCID:PMC2947919
21. Altenbach SB, Allen PV. *Transformation of the US bread wheat 'Butte 86' and silencing of omega-5 gliadin genes*. GM Crops. 2011; 2(1): 66-73.
<http://dx.doi.org/10.4161/gmcr.2.1.15884>
PMid:21844700
22. Wen S, Wen N, Pang J, Langen G, Brew-Appiah RA, Mejias JH et al. *Structural genes of wheat and barley 5-methylcytosine DNA glycosylases and their potential applications for human health*. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(50): 20543-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1217927109>
PMid:23184965 PMCID:PMC3528507
23. Gil-Humanes J, Pistón F, Giménez MJ, Martín A, Barro F. *The introgression of RNAi silencing of γ -Gliadins into commercial lines of bread wheat changes the mixing and technological properties of the dough*. PLoS One. 2012; 7(9): e45937.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0045937>
PMid:23029328 PMCID:PMC3454332
24. Caputo I, Lepretti M, Martucciello S, Esposito C. *Enzymatic strategies to detoxify gluten: implications for celiac disease*. Enzyme Res. 2010; 2010: 174354.
<http://dx.doi.org/10.4061/2010/174354>
PMid:21048862 PMCID:PMC2963796
25. Sollid LM, Khosla C. *Novel therapies for coeliac disease*. J Intern Med. 2011; 269(6): 604-13.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02376.x>
PMid:21401739 PMCID:PMC3101315

26. Di Cagno R, De Angelis M, Lavermicocca P, De Vincenzi M, Giovannini C, Faccia M et al. *Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance*. Appl Environ Microbiol. 2002; 68(2): 623-33.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.68.2.623-633.2002>
PMid:11823200 PMCID:PMC126681
27. Rizzello CG, De Angelis M, Di Cagno R, Camarca A, Silano M, Losito I et al. *Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease*. Appl Environ Microbiol. 2007; 73(14): 4499-507.
<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00260-07>
PMid:17513580 PMCID:PMC1932817
28. Di Cagno R, Barbato M, Di Camillo C, Rizzello CG, De Angelis M, Giuliani G et al. *Gluten-free sourdough wheat baked goods appear safe for young celiac patients: a pilot study*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010; 51(6): 777-83.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181f22ba4>
PMid:20975578
29. Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM et al. *Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue*. Science. 2002; 297(5590): 2275-9.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074129>
PMid:12351792
30. Gass J, Khosla C. *Prolyl endopeptidases*. Cell Mol Life Sci. 2007; 64(3): 345-55.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00018-006-6317-y>
PMid:17160352
31. Bethune MT, Khosla C. *Oral enzyme therapy for celiac sprue*. Methods Enzymol. 2012; 502: 241-71.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416039-2.00013-6>
PMid:22208988 PMCID:PMC3382113
32. Shan L, Marti T, Sollid LM, Gray GM, Khosla C. *Comparative biochemical analysis of three bacterial prolyl endopeptidases: implications for coeliac sprue*. Biochem J. 2004; 383(Pt 2): 311-8.
PMid:15245330 PMCID:PMC1134072
33. 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(2): 472-80.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.05.028>
PMid:17681168
34. Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R et al. *Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006; 291(4): G621-9.
<http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00034.2006>
PMid:16690904

35. Gass J, Ehren J, Strohmeier G, Isaacs I, Khosla C. *Fermentation, purification, formulation, and pharmacological evaluation of a prolyl endopeptidase from Myxococcus xanthus: implications for Celiac Sprue therapy*. *Biotechnol Bioeng*. 2005; 92(6): 674-84.
<http://dx.doi.org/10.1002/bit.20643>
PMid:16136593
36. Marti T, Molberg O, Li Q, Gray GM, Khosla C, Sollid LM. *Prolyl endopeptidase-mediated destruction of T cell epitopes in whole gluten: chemical and immunological characterization*. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 312(1): 19-26.
<http://dx.doi.org/10.1124/jpet.104.073312>
PMid:15358813
37. Tack G, van de Water J, Kooy-Winkelaar E, van Bergen J, Meijer G, vom Blomberg B et al. *Can Prolyl Endoprotease Enzyme Treatment Mitigate the Toxic Effect of Gluten in Coeliac Patients?* *Gastroenterology*. 2010; 138(5): S-54.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(10\)60247-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(10)60247-8)
38. Mitea C, Havenaar R, Drijfhout JW, Edens L, Dekking L, Koning F. *Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease*. *Gut*. 2008; 57(1): 25-32.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.111609>
PMid:17494108
39. Tack GJ, van de Water JM, Bruins MJ, Kooy-Winkelaar EM, van Bergen J, Bonnet P et al. *Consumption of gluten with gluten-degrading enzyme by celiac patients: a pilot-study*. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(35): 5837-47.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v19.i35.5837>
PMid:24124328 PMCID:PMC3793137
40. Siegel M, Garber ME, Spencer AG, Botwick W, Kumar P, Williams RN et al. *Safety, tolerability, and activity of ALV003: results from two phase 1 single, escalating-dose clinical trials*. *Dig Dis Sci*. 2012; 57(2): 440-50.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-011-1906-5>
PMid:21948339
41. Siegel M, Bethune MT, Gass J, Ehren J, Xia J, Johannsen A et al. *Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue*. *Chem Biol*. 2006; 13(6): 649-58.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.04.009>
PMid:16793522
42. Tye-Din JA, Anderson RP, French RA, Brown GJ, Hodsman P, Siegel M et al. *The effects of ALV003 pre-digestion of gluten on immune response and symptoms in celiac disease in vivo*. *Clin Immunol*. 2010; 134(3): 289-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2009.11.001>
PMid:19942485

43. Lähdeaho ML, Kaukinen K, Laurila K, Vuotikka P, Koivurova OP, Kärjä-Lahdensuu T et al. *The Glutase ALV003 Attenuates Gluten-Induced Mucosal Injury in Patients with Celiac Disease*. Gastroenterology. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.02.031>
PMid:24583059
44. Crespo Pérez L, Castillejo de Villasante G, Cano Ruiz A, León F. *Non-dietary therapeutic clinical trials in coeliac disease*. European journal of internal medicine. 2012; 23(1): 9-14.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2011.08.030>
PMid:22153524
45. Stoven S, Murray JA, Marietta E. *Celiac disease: advances in treatment via gluten modification*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012; 10(8): 859-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.06.005>
PMid:22728383 PMCID:PMC3788609
46. Bertazzoni E, Donelli G, Midtvedt T, Nicoli J, Sanz Y. *Probiotics and clinical effects: is the number what counts?* J Chemother. 2013; 25(4): 193-212.
<http://dx.doi.org/10.1179/1973947813Y.0000000078>
PMid:23906073
47. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. *Probiotics and immunity*. J Gastroenterol. 2009; 44(1): 26-46.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00535-008-2296-0>
PMid:19159071
48. Saulnier DM, Ringel Y, Heyman MB, Foster JA, Bercik P, Shulman RJ et al. *The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology*. Gut Microbes. 2013; 4(1): 17-27.
<http://dx.doi.org/10.4161/gmic.22973>
PMid:23202796 PMCID:PMC3555881
49. Verdú EF, Bercik P, Collins SM. *Effect of probiotics on gastrointestinal function: evidence from animal models*. Therap Adv Gastroenterol. 2009; 2(4): 31-5.
<http://dx.doi.org/10.1177/1756283X09337645>
PMid:21180552 PMCID:PMC3002531
50. De Angelis M, Rizzello CG, Fasano A, Clemente MG, De Simone C, Silano M et al. *VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for Celiac Sprue*. Biochim Biophys Acta. 2006; 1762(1): 80-93.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2005.09.008>
PMid:16311022

51. Lindfors K, Blomqvist T, Juuti-Uusitalo K, Stenman S, Venäläinen J, Mäki M et al. *Live probiotic Bifidobacterium lactis bacteria inhibit the toxic effects induced by wheat gliadin in epithelial cell culture*. Clin Exp Immunol. 2008; 152(3): 552-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03635.x>
PMid:18422736 PMCID:PMC2453197
52. D'Arienzo R, Maurano F, Luongo D, Mazzarella G, Stefanile R, Troncone R et al. *Adjuvant effect of Lactobacillus casei in a mouse model of gluten sensitivity*. Immunol Lett. 2008; 119(1-2): 78-83.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2008.04.006>
PMid:18547649
53. D'Arienzo R, Stefanile R, Maurano F, Mazzarella G, Ricca E, Troncone R et al. *Immunomodulatory effects of Lactobacillus casei administration in a mouse model of gliadin-sensitive enteropathy*. Scand J Immunol. 2011; 74(4): 335-41.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02582.x>
PMid:21615450
54. Smecuol E, Hwang HJ, Sugai E, Corso L, Cheriñavsky AC, Bellavite FP et al. *Exploratory, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the effects of Bifidobacterium infantis natrene life start strain super strain in active celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 2013; 47(2): 139-47.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31827759ac>
PMid:23314670
55. Nadal I, Donat E, Donant E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease*. J Med Microbiol. 2007; 56(Pt 12): 1669-74.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47410-0>
PMid:18033837
56. De Palma G, Nadal I, Medina M, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M et al. *Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children*. BMC Microbiol. 2010; 10: 63.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-10-63>
PMid:20181275 PMCID:PMC2843610
57. Nistal E, Caminero A, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Sáenz de Miera LE, Rodríguez-Aparicio LB et al. *Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients*. Biochimie. 2012; 94(8): 1724-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.03.025>
PMid:22542995
58. Medina M, De Palma G, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Bifidobacterium strains suppress in vitro the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients*. J Inflamm (Lond). 2008; 5: 19.
<http://dx.doi.org/10.1186/1476-9255-5-19>
PMid:18980693 PMCID:PMC2640389

59. Laparra JM, Olivares M, Gallina O, Sanz Y. *Bifidobacterium longum* CECT 7347 modulates immune responses in a gliadin-induced enteropathy animal model. PLoS One. 2012; 7(2): e30744.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030744>
PMid:22348021 PMCID:PMC3277586
60. Laparra JM, Sanz Y. *Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion*. J Cell Biochem. 2010; 109(4): 801-7.
PMid:20052669
61. Olivares M, Castillejo G, Varea V, Sanz Y. *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; 28: 1-11.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514000609>
62. Fernandez-Feo M, Wei G, Blumenkranz G, Dewhirst FE, Schuppan D, Oppenheim FG et al. *The cultivable human oral gluten-degrading microbiome and its potential implications in coeliac disease and gluten sensitivity*. Clin Microbiol Infect. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12249>
PMid:23714165 PMCID:PMC3749263
63. Caminero A, Herrán AR, Nistal E, Pérez-Andrés J, Vaquero L, Vivas S et al. *Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: Isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease*. FEMS Microbiol Ecol. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1111/1574-6941.12295>
PMid:24499426
64. Orlando A, Linsalata M, Notarnicola M, Tutino V, Russo F. *Lactobacillus GG restoration of the gliadin induced epithelial barrier disruption: the role of cellular polyamines*. BMC Microbiol. 2014; 14: 19.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-14-19>
PMid:24483336 PMCID:PMC3911798
65. Alvarez-Sieiro P, Martin MC, Redruello B, Del Rio B, Ladero V, Palanski BA et al. *Generation of food-grade recombinant Lactobacillus casei delivering Myxococcus xanthus prolyl endopeptidase*. Appl Microbiol Biotechnol. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-014-5730-7>
PMid:24752841
66. Martin R, Chain F, Miquel S, Natividad JM, Sokol H, Verdu EF et al. *Effects in the use of a genetically engineered strain of Lactococcus lactis delivering in situ IL-10 as a therapy to treat low-grade colon inflammation*. Hum Vaccin Immunother. 2014; 14: 10(6).
67. Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, Remon JP et al. *A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006; 4(6): 754-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.03.028>
PMid:16716759

68. Pinier M, Fuhrmann G, Galipeau HJ, Rivard N, Murray JA, David CS et al. *The copolymer P(HEMA-co-SS) binds gluten and reduces immune response in gluten-sensitized mice and human tissues*. *Gastroenterology*. 2012; 142(2): 316-25 e1-12.
69. Pinier M, Verdu EF, Nasser-Eddine M, David CS, Vezina A, Rivard N et al. *Polymeric binders suppress gliadin-induced toxicity in the intestinal epithelium*. *Gastroenterology*. 2009; 136(1): 288-98.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.09.016>
PMid:18992747
70. Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, De Rosa M et al. *Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity*. *BMC Med*. 2011; 9: 23.
<http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-9-23>
PMid:21392369 PMCid:PMC3065425
71. Ciccocioppo R, Finamore A, Ara C, Di Sabatino A, Mengheri E, Corazza GR. *Altered expression, localization, and phosphorylation of epithelial junctional proteins in celiac disease*. *Am J Clin Pathol*. 2006; 125(4): 502-11.
<http://dx.doi.org/10.1309/DTYRA91G8R0KTM8M>
PMid:16627260
72. Schumann M, Gunzel D, Buergel N, Richter JF, Troeger H, May C et al. *Cell polarity-determining proteins Par-3 and PP-1 are involved in epithelial tight junction defects in coeliac disease*. *Gut*. 2012; 61(2): 220-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300123>
PMid:21865402
73. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Menard S, Candalh C et al. *Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease*. *J Exp Med*. 2008; 205(1): 143-54.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20071204>
PMid:18166587 PMCid:PMC2234361
74. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3*. *Gastroenterology*. 2008; 135(1): 194-204 e3.
75. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A et al. *Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease*. *Lancet*. 2000; 355(9214): 1518-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02169-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02169-3)
76. Gopalakrishnan S, Tripathi A, Tamiz AP, Alkan SS, Pandey NB. *Larazotide acetate promotes tight junction assembly in epithelial cells*. *Peptides*. 2012; 35(1): 95-101.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.016>
PMid:22401910

77. Gopalakrishnan S, Durai M, Kitchens K, Tamiz AP, Somerville R, Ginski M et al. *Larazotide acetate regulates epithelial tight junctions in vitro and in vivo*. *Peptides*. 2012; 35(1): 86-94.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.015>
PMid:22401908
78. Paterson BM, Lammers KM, Arrieta MC, Fasano A, Meddings JB. *The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007; 26(5): 757-66.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03413.x>
PMid:17697209
79. Leffler DA, Kelly CP, Abdallah H, Colatrella A, Harris L, Leon F et al. *A randomized, double-blind study of larazotide acetate to prevent the activation of celiac disease during gluten challenge*. *The American journal of gastroenterology*. 2012.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.211>
PMCID:PMC3463856
80. Kelly CP, Green PHR, Murray JA, DiMarino A, Colatrella A, Leffler DA et al. *Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study*. *Aliment Pharm Ther*. 2013; 37(2): 252-62.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12147>
PMid:23163616
81. Wang C, Rasmussen H, Perrow W, Ciaran KP, Leffler D, Green P et al. *Larazotide acetate, a First In-Class, Novel Tight Junction Regulator, Meets Primary Endpoint and Significantly Reduces Signs and Symptoms of Celiac Disease in Patients on a Gluten-Free Diet: Results of a Multicentre, Randomized, Placebo Controlled Trial*. *Digestive Disease Week; Chicago (United States)*. 2014.
82. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YM et al. *The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase*. *J Exp Med*. 2000; 191(4): 603-12.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.191.4.603>
PMid:10684852 PMCID:PMC2195837
83. Siegel M, Khosla C. *Transglutaminase 2 inhibitors and their therapeutic role in disease states*. *Pharmacol Ther*. 2007; 115(2): 232-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.05.003>
PMid:17582505 PMCID:PMC1975782
84. Xia J, Bergseng E, Fleckenstein B, Siegel M, Kim CY, Khosla C et al. *Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibiting DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease*. *Bioorg Med Chem*. 2007; 15(20): 6565-73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.001>
PMid:17681795 PMCID:PMC2034199

85. Rauhavirta T, Oittinen M, Kivisto R, Mannisto PT, Garcia-Horsman JA, Wang Z et al. *Are transglutaminase 2 inhibitors able to reduce gliadin-induced toxicity related to celiac disease? A proof-of-concept study.* J Clin Immunol. 2013; 33(1): 134-42.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10875-012-9745-5>
PMid:22878839
86. Dafik L, Albertelli M, Stammaes J, Sollid LM, Khosla C. *Activation and inhibition of transglutaminase 2 in mice.* PLoS One. 2012; 7(2): e30642.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030642>
PMid:22319575 PMCID:PMC3271093
87. Gianfrani C, Siciliano RA, Facchiano AM, Camarca A, Mazzeo MF, Costantini S et al. *Transamidation of wheat flour inhibits the response to gliadin of intestinal T cells in celiac disease.* Gastroenterology. 2007; 133(3): 780-9.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2007.06.023>
PMid:17678925
88. Kapoerchan VV, Wiesner M, Overhand M, van der Marel GA, Koning F, Overkleeft HS. *Design of azidoprolinone containing gluten peptides to suppress CD4+ T-cell responses associated with celiac disease.* Bioorg Med Chem. 2008; 16(4): 2053-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.10.091>
PMid:18037302
89. Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Celiac disease: an immunological jigsaw.* Immunity. 2012; 36(6): 907-19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>
PMid:22749351
90. Keshav S, Vanasek T, Niv Y, Petryka R, Howaldt S, Bafutto M et al. *A randomized controlled trial of the efficacy and safety of CCX282-B, an orally administered blocker of chemokine receptor CCR9, for patients with Crohn's disease.* PLoS One. 2013; 8(3): e60094.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0060094>
PMid:23527300 PMCID:PMC3603920
91. Maiuri L, Ciacci C, Auricchio S, Brown V, Quarantino S, Londei M. *Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease.* Gastroenterology. 2000; 119(4): 996-1006.
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2000.18149>
PMid:11040186
92. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM et al. *Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease.* Gut. 2006; 55(4): 469-77.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.068684>
PMid:16105889 PMCID:PMC1856172

93. Yokoyama S, Watanabe N, Sato N, Perera PY, Filkoski L, Tanaka T et al. *Antibody-mediated blockade of IL-15 reverses the autoimmune intestinal damage in transgenic mice that overexpress IL-15 in enterocytes*. Proc Natl Acad Sci USA. 2009; 106(37): 15849-54.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0908834106>
PMid:19805228 PMCID:PMC2736142
94. Waldmann TA, Conlon KC, Stewart DM, Worthy TA, Janik JE, Fleisher TA et al. *Phase 1 trial of IL-15 trans presentation blockade using humanized Mikbeta1 mAb in patients with T-cell large granular lymphocytic leukemia*. Blood. 2013; 121(3): 476-84.
<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2012-08-450585>
PMid:23212516 PMCID:PMC3548167
95. Waldmann TA. *The biology of IL-15: implications for cancer therapy and the treatment of autoimmune disorders*. J Investig Dermatol Symp Proc. 2013; 16(1): S28-30.
<http://dx.doi.org/10.1038/jidsymp.2013.8>
PMid:24326545
96. Yokoyama S, Perera PY, Waldmann TA, Hiroi T, Perera LP. *Tofacitinib, a janus kinase inhibitor demonstrates efficacy in an IL-15 transgenic mouse model that recapitulates pathologic manifestations of celiac disease*. J Clin Immunol. 2013; 33(3): 586-94.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10875-012-9849-y>
PMid:23269601 PMCID:PMC3594487
97. Verhoef A, Alexander C, Kay AB, Larche M. *T cell epitope immunotherapy induces a CD4+ T cell population with regulatory activity*. PLoS Med. 2005; 2(3): e78.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0020078>
PMid:15783262 PMCID:PMC1069669
98. Tye-Din JA, Stewart JA, Dromej JA, Beissbarth T, van Heel DA, Tatham A et al. *Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease*. Sci Transl Med. 2010; 2(41): 41ra51.
<http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3001012>
PMid:20650871
99. Riedmann EM. *Human vaccines: news*. Hum Vaccin Immunother. 2012; 8(11): 1550-3.
<http://dx.doi.org/10.4161/hv.22753>
PMid:23151443 PMCID:PMC3601129
100. Croese J, Gaze ST, Loukas A. *Changed gluten immunity in celiac disease by Necator americanus provides new insights into autoimmunity*. Int J Parasitol. 2013; 43(3-4): 275-82.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.12.005>
PMid:23291460

101. Daveson AJ, Jones DM, Gaze S, McSorley H, Clouston A, Pascoe A et al. *Effect of hookworm infection on wheat challenge in celiac disease-a randomised double-blinded placebo controlled trial*. PLoS One. 2011; 6(3): e17366.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0017366>
PMid:21408161 PMCID:PMC3050888
102. McSorley HJ, Gaze S, Daveson J, Jones D, Anderson RP, Clouston A et al. *Suppression of inflammatory immune responses in celiac disease by experimental hookworm infection*. PLoS One. 2011; 6(9): e24092.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024092>
PMid:21949691 PMCID:PMC3174943
103. Anderson RP, van Heel DA, Tye-Din JA, Jewell DP, Hill AV. *Antagonists and non-toxic variants of the dominant wheat gliadin T cell epitope in coeliac disease*. Gut. 2006; 55(4): 485-91.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.064550>
PMid:16299041 PMCID:PMC1856168
104. Croese J, Giacomini P, Navarro S, Clouston A, McCann L, Dougall A et al. *Experimental hookworm infection and gluten microchallenge promote tolerance in celiac disease*. J Allergy Clin Immunol. 2014.
PMid:25248819
105. Tennyson CA, Lewis SK, Green PH. *New and developing therapies for celiac disease*. Therap Adv Gastroenterol. 2009; 2(5): 303-9.
<http://dx.doi.org/10.1177/1756283X09342759>
PMid:21180558 PMCID:PMC3002532
106. Motta JP, Bermudez-Humaran LG, Deraison C, Martin L, Rolland C, Rousset P et al. *Food-grade bacteria expressing elafin protect against inflammation and restore colon homeostasis*. Sci Transl Med. 2012; 4(158): 158ra44.
<http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3004212>
PMid:23115353
107. Galipeau HJ, Wiepjes M, Motta JP, Schulz JD, Jury J, Natividad JM et al. *Novel Role of the Serine Protease Inhibitor Elafin in Gluten-Related Disorders*. Am J Gastroenterol. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2014.48>
PMid:24710505

CAPÍTULO 7

NUEVAS TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.

Fernando Fernández-Bañares¹, Carme Farré², Anna Carrasco¹, Meritxell Mariné¹, María Esteve¹

¹Departamento de Gastroenterología, Hospital Universitari Mútua Terrassa, Universidad de Barcelona. CIBERehd, Terrassa, Barcelona, España.

²Departamento de Bioquímica, Hospital Universitari Sant Joan de Déu, Universidad de Barcelona, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España.

ffbanares@mutuaterrassa.es farre@hsjdbcn.org acarrasco@mutuaterrassa.es
mmarine@mutuaterrassa.cat mariaesteve@mutuaterrassa.es

Cómo citar este capítulo:

Fernández-Bañares F, Farré C, Carrasco A, Mariné M, Esteve M. *Nuevas Técnicas para el Diagnóstico de la Enfermedad Celíaca*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las nuevas técnicas para el diagnóstico de la EC podrían ser de ayuda en, al menos, tres situaciones clínicas relativamente frecuentes. 1) Individuos HLA-DQ2/8+ que siguen una dieta sin gluten auto-prescrita. 2) Pacientes con atrofia vellositaria seronegativa y 3) Pacientes HLA-DQ2/8+ con enteritis linfocítica y serología negativa o positiva (a menudo con títulos bajos/limítrofes que incrementan el riesgo de falsos positivos).

El recuento de LIEs $\gamma\delta+$, realizado mediante inmunohistoquímica o citometría de flujo podría ayudar a identificar pacientes con EC cuando la serología y los datos clínicos no son concluyentes, o bien cuando el diagnóstico histológico es equívoco. La detección de anticuerpos frente a la transglutaminasa tisular subepitelial parece ser muy sensible y específica al diagnosticar EC en pacientes con forma potencial o atrofia vellositaria seronegativa. La presencia de estos autoanticuerpos refuerza el diagnóstico de EC en casos limítrofes. Las pruebas EmA o anti-tTG2 en medio de cultivo de muestras de biopsia intestinal en pacientes con serología negativa que presentan síntomas que sugieren EC y HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8+, parecen ser una buena opción para confirmar el diagnóstico de EC. También podrían ser útiles en casos sospechosos que presentan datos histológicos y de laboratorio entre los que exista conflicto. Los análisis de liberación de citoquinas en sangre completa (ELISPOT) parecen ser sensibles y específicos para la detección de células T reactivas al gluten en la EC. Son necesarios más estudios clínicos sobre la utilidad de estas pruebas en pacientes con diagnóstico de EC incierto. La prueba del tetrámero podría ser de ayuda para confirmar el diagnóstico de EC después de una breve prueba de provocación con gluten de 3 días de duración. No obstante, los resultados parecen ser comparables con la prueba ELISPOT; por este motivo y considerando que la prueba de tetrámero es difícil en términos técnicos, no debe esperarse un uso generalizado de la prueba.

Palabras clave

Enfermedad celíaca, enfermedad “celíaca-lite”, enfermedad celíaca potencial, células $\gamma\delta+$, anticuerpos anti-transglutaminasa tisular subepitelial, tTG2 en cultivo de biopsia intestinal, prueba de ELISPOT, prueba de tetrámero.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía provocada por una reacción inmune activada por gluten de la dieta, una proteína presente en el trigo, cebada, centeno y algunas variedades de avena, que se manifiesta en individuos genéticamente predispuestos. Desde que, en 1954, John Paulley describiera por primera vez la lesión morfológica, el diagnóstico de la EC se basó en la demostración de la característica lesión dependiente del gluten en el intestino delgado. Este concepto básico general aún es válido. No obstante, en las últimas décadas el descubrimiento de métodos diagnósticos precisos (serológicos y genéticos) mediante técnicas de cribado de población en masa, o la evaluación de grupos de riesgo, ha permitido la identificación de gran cantidad de pacientes con formas silentes o pauci-sintomáticas. Ello ha permitido llegar a la conclusión, de que la EC es una enfermedad común, de que su espectro de manifestaciones es muy amplio y de que no siempre existe una correlación entre la severidad de la lesión histológica y la intensidad de las manifestaciones clínicas. A este respecto, ha habido un cambio importante en los criterios diagnósticos para la EC. La aceptación gradual de que la forma de enteropatía histológicamente leve (lesiones tipo Marsh I, también llamada enteritis linfocítica, enteropatía linfocítica o duodenosis linfocítica) también forma parte del espectro de la EC y debe ser tratada como tal cuando provoca síntomas o signos clínicamente relevantes¹.

Los autoanticuerpos de clase IgA frente a la transglutaminasa tisular (anti-tTG2) son los marcadores serológicos de elección para la detección de la EC, recomendados por la ESPGHAN. Los anti-tTG2 equivalen a los clásicos anticuerpos anti-endomisio del tipo IgA (EmA). Tras la identificación de la transglutaminasa con el autoantígeno en sí, se determinan los anti-tTG2 mediante una prueba inmune automatizada que supera los problemas técnicos de la inmunofluorescencia indirecta, utilizada para la determinación de los EmA. Esta última sigue siendo una técnica manual, subjetiva y cualitativa. Recientemente, se evaluaron las recomendaciones sobre cómo, cuándo y en quien llevar a cabo la prueba anti-tTG2 sérica².

Es bien sabido que la serología celíaca puede ser negativa en las formas más leves de EC. En este contexto, la prueba de provocación con gluten se ha llevado a cabo con el fin de determinar si la lesión histológica empeora, o bien, si los anticuerpos se vuelven positivos, lo que conduciría a un diagnóstico de EC^{3,4}. No obstante, ello requiere de la realización de endoscopias repetidas antes y después de la provocación con gluten lo que junto con la recaída sintomática, a menudo resultan intolerable para los pacientes, lo que impide llegar a un diagnóstico definitivo.

Además se hace evidente la yuxtaposición existente entre pacientes con sensibilidad al gluten no celíaca y enfermedad celíaca con lesión Marsh tipo I. Su diagnóstico diferencial es muy difícil y, además, a menudo los clínicos se ven enfrentados al reto de encontrar pacientes que escogen la opción de vivir sin gluten, aun sin un correcto diagnóstico previo de EC. Ello es particularmente relevante ya que tanto la serología como la histología intestinal se normalizan en pacientes que siguen una dieta sin gluten. Bajo estas circunstancias, el genotipado de HLA es de utilidad, ya que la EC es muy improbable que aparezca en pacientes HLA-DQ2/8 negativos, pero presentar un

HLA-DQ2/8 positivo tampoco es suficiente para el diagnóstico, ya que un 30-40% de la población sana también es positiva.

De este modo, las nuevas herramientas para el diagnóstico de la EC podrían ser de ayuda, en al menos, tres situaciones clínicas: 1) Individuos HLA-DQ2/8+ que siguen una dieta sin gluten auto-prescrita. 2) Pacientes con atrofia vellositaria seronegativa y 3) Pacientes HLA-DQ2/8+ con enteritis linfocítica y serología celíaca negativa o positiva, (a menudo con títulos bajos/limítrofes, que incrementan el riesgo de falsos positivos). También sería interesante considerar su utilización para valorar la reactividad al gluten en casos de EC latente o potencial así como en familiares en primer grado que presentan un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

2. ¿Cuándo Falla la Serología Celíaca en el Diagnóstico de la Enfermedad Celíaca?

Es sabido que la serología celíaca a menudo es negativa en las formas más leves de la EC en al menos un 30% de los pacientes con atrofia vellositaria parcial y en hasta un 80% de aquéllos que presentan lesiones tipo 1 de Marsh⁵. Ya que el daño histológico es mayor en su presentación clínica en niños que en adultos⁶, la EC seronegativa es más frecuente en pacientes adultos.

Los estudios prospectivos han demostrado que la precisión diagnóstica de la serología no es tan elevada como se describió previamente, ya que existe al menos, un 10-20% de pacientes con EC seronegativa^{7,8}. Compartimos la opinión de Catassi y Fasano, que afirmaron: “Es probable que la EC seronegativa esté siendo subestimada, debido a la tendencia a efectuar biopsias de intestino delgado solamente en pacientes con marcadores séricos positivos para la EC (la así denominada “profecía que se cumple a sí misma”)⁹.”

A pesar de que existen otras etiologías para la presencia de atrofia vellositaria, es importante tener en cuenta que la EC sigue siendo la causa más frecuente de atrofia vellositaria en pacientes con serología de EC negativa¹⁰. Finalmente, no deberíamos interpretar como negativos los resultados obtenidos de pacientes con deficiencia de IgA, en niños menores de dos años, en pacientes bajo tratamiento inmunosupresor, o en pacientes que han estado siguiendo una dieta baja en gluten o sin gluten, ya que unas pocas semanas sin gluten pueden generar un resultado serológico negativo.

Se han descrito resultados anti-tTG falsamente positivos en pacientes adultos con enfermedades autoinmunes¹¹, enfermedad coronaria aguda¹², cirrosis biliar primaria¹³, psoriasis¹⁴, reservorios ileales con inflamación crónica¹⁵ y en niños con infecciones comunes¹⁶. Los títulos bajos, o valores limítrofes, se asocian con mayor frecuencia a falsos positivos.

3. Utilidad de la Determinación de los Linfocitos $\gamma\delta$ + Intraepiteliales

Se considera que la determinación de los linfocitos intraepiteliales (LIE) TCR $\gamma\delta$ es útil en casos de EC dudosos, o difíciles¹⁷. En pacientes con EC, estas células T $\gamma\delta$ + están incrementadas en todas

las etapas de la enfermedad, tanto en la EC sin tratamiento, como cuando se sigue una dieta sin gluten¹⁷. También se ha observado que aumentan tanto en la EC potencial como en la latente^{18,19}. El aumento en los LIEs $\gamma\delta$ no es totalmente específico de la EC ya que se ha hallado ocasionalmente en otros trastornos, como la intolerancia a la leche de vaca, alergias alimenticias, criptosporidiosis, Síndrome de Sjögren y deficiencia de IgA¹⁷. No obstante, en estos trastornos el aumento en los LIE $\gamma\delta$ tiende a ser leve y transitorio. Se ha dicho que la EC es la única enfermedad en la que los LIE $\gamma\delta$ experimentan un aumento sistemático, permanente e intenso^{17,20-22}.

La evaluación de la densidad de los LIEs $\gamma\delta$ se lleva a cabo por lo general utilizando técnicas de inmunohistoquímica. Vale la pena indicar que Järvinen y cols. describieron que las células T $\gamma\delta+$ presentaron un valor predictivo positivo del 95% y un valor predictivo negativo del 85% para la detección de EC²³. También se ha detectado un aumento de este tipo de células, en la mayoría de los pacientes con enteropatía leve de EC²⁴. La identificación y el recuento de las células T $\gamma\delta+$, habitualmente se lleva a cabo en biopsias sometidas a congelación rápida y criosección, lo que ha limitado su uso casi exclusivamente para fines de investigación y rara vez ha permitido adoptar esta técnica en la práctica clínica de rutina. Se ha descrito, recientemente, un nuevo anticuerpo anti-TCR γ , apto para muestras insertadas en parafina, fijadas con formalina y se ha demostrado su capacidad para realizar el recuento de células T $\gamma\delta+$ junto con células CD3 en pacientes con enteritis linfocítica²⁵.

Se ha sugerido estudiar el linfograma de las subpoblaciones de LIEs mediante citometría de flujo, como un cribado inicial para la EC. Se ha definido un patrón de LIEs típico de la EC mediante esta técnica, consistente en un incremento en los LIE $\gamma\delta+$ y una disminución en los LIEs CD3- (revisado por León F)¹⁷. La concomitante reducción en LIEs CD3- aporta mayor especificidad para el diagnóstico de la EC²⁶. Se ha realizado una descripción de esta población de LIEs CD3- demostrando un fenotipo CD7+ CD103+ CD45+^{18,26,27}.

Comparada con la inmunohistoquímica, la citometría de flujo es una poderosa herramienta analítica para el estudio sobre los LIEs. Permite el análisis de una mayor cantidad de células y proporciona un registro computarizado de los recuentos de poblaciones celulares. Proporciona resultados semicuantitativos rápidos, sensibles, reproducibles y objetivos. Previamente, se ha descrito un incremento en las CD3+TCR $\gamma\delta+$ y una reducción en los LIE CD3- como un patrón de flujo citométrico característico de la EC con atrofia^{17,18,28}. Un estudio reciente evaluó la utilidad de esta técnica para diagnosticar la enteritis linfocítica secundaria a EC. En este estudio se evaluó a 205 pacientes a los que se les realizó biopsia duodenal por sospecha clínica de EC y HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 positivo. A cincuenta pacientes se les diagnosticó atrofia vellositaria, a 70 enteritis linfocítica y 85 presentaban histología normal. Se obtuvieron biopsias duodenales para evaluar el linfograma intraepitelial mediante citometría de flujo. Se definió el patrón de citometría de flujo de EC completo cuando existe un incremento en los TCR $\gamma\delta+$ y una reducción en las CD3-; y el patrón citométrico de EC incompleto cuando se detecta un incremento aislado en los TCR $\gamma\delta+$. También se evaluaron los depósitos subepiteliales de IgA anti-TG2. La sensibilidad de los depósitos intestinales anti-TG2 y de los patrones citométricos completo e incompleto para el diagnóstico

de la EC (Marsh 1+3) fue de 92%, 85% y 97% respectivamente; solamente el patrón citométrico completo tuvo una especificidad del 100%. Tomando estas definiciones y la respuesta a la dieta sin gluten, analizamos pacientes HLA-DQ2/8+ con enteritis linfocítica y serología negativa, para confirmar o descartar EC. El patrón citométrico de la EC demostró un mejor rendimiento diagnóstico que los depósitos intestinales anti-TG2 para detectar la EC en la biopsia diagnóstica inicial de estos pacientes. Esta metodología permitió establecer el diagnóstico de EC, en más del doble de pacientes diagnosticados de enteritis linfocítica basándose exclusivamente en resultados serológicos.

En conclusión, el recuento de LIEs $\gamma\delta+$ evaluado, ya sea por inmunohistoquímica o citometría de flujo, podría ayudar a identificar pacientes con EC, cuando la serología y los datos clínicos no son concluyentes, o cuando el diagnóstico histológico es equívoco.

4. Utilidad Diagnóstica de la Detección de los Depósitos Subepiteliales de Transglutaminasa tisular IgA.

Se ha demostrado que la producción de autoanticuerpos para la EC tiene lugar localmente en la mucosa del intestino delgado y que éstos posteriormente circulan hacia el torrente sanguíneo. No obstante, aparte de ser detectables en el torrente sanguíneo, estos autoanticuerpos permanecen en el lugar donde han sido producidos. Es posible detectar subepitelialmente, en la EC sin tratar, depósitos de tTG IgA en la mucosa intestinal y cerca de los vasos sanguíneos en la lámina propia³⁰. Interesantemente, estos depósitos pueden ser detectados en pacientes con EmA positiva y sin atrofia vellositaria^{24, 30-32} e incluso en pacientes con serología negativa y lesiones de Marsh tipo 1-3³³⁻³⁵. En un estudio reciente en pacientes con EC sin tratar, se demostró que el 100% de 261 pacientes con atrofia vellositaria presentaban depósitos subepiteliales de tTG IgA (9% presentaban EmA sérica negativa), 90% presentaban intensidad de moderada a fuerte. En contraste, 18% de los controles presentaron depósitos de menor intensidad. Después de una dieta sin gluten, hubo una disminución gradual de la intensidad de estos depósitos, los cuales siguieron siendo positivos a largo plazo en el 56% de los pacientes. La sensibilidad y especificidad de estos depósitos para el diagnóstico de la EC, fue del 100% y 82%. No obstante, la sensibilidad y especificidad de la serología, fueron del 91% y 100%, respectivamente³⁵. En un estudio en niños positivos para EmA o tTG y genética positiva (HLA-DQ2 o DQ8) sin atrofia vellositaria, se detectaron depósitos de tTG IgA en el 85% de 39 pacientes. De forma similar, un estudio en otro grupo de niños con serología negativa y lesiones Marsh tipo I con incremento de LIEs TCR $\gamma\delta+$, permitió la detección de depósitos tTG IgA en el 66% de los 18 pacientes. Se detectaron depósitos en 9% de 34 niños con mucosa intestinal normal y ausencia de marcadores de sensibilidad al gluten³⁴. Otro estudio reciente detectó depósitos tTG IgA en 12 de 20 (60%) pacientes adultos con lesiones Marsh tipo I, a quienes se les diagnosticó EC tomando como referencia la regla “4 de 5” de Catassi y Fasano⁹; cuatro de estos pacientes positivos eran seronegativos²⁹.

En conclusión, la detección de anticuerpos de transglutaminasa tisular subepitelial parece ser muy sensible y específica para el diagnóstico de la EC en pacientes con EC potencial o atrofia vellosi-

taria seronegativa. La presencia de estos autoanticuerpos refuerza el diagnóstico de EC en casos limítrofes.

5. Pruebas Anti-tTG2 y EmA en el Medio de Cultivo de Muestras de Biopsia

La prueba en medio de cultivo de muestras de biopsia para los anticuerpos antiendomiso (EmA) o anti-tTG2, puede ser de utilidad para determinar si las lesiones infiltrativas/hiperplásicas (Marsh 1-2), o con atrofia vellositaria parcial (Marsh 3a), a menudo asociadas con serología negativa, corresponden a una EC^{8,36,37}. En un estudio³⁷ reciente, se halló un 98% de sensibilidad, un 100% de especificidad y un 98% de precisión diagnóstica para los EmA y anti-tTG analizados en el medio de cultivo. Estos análisis fueron positivos en 24 de 29 pacientes seronegativos con EC (77% con atrofia vellositaria parcial y 23% con enteritis linfocítica). En otro estudio realizado por el mismo grupo⁸, el análisis de los EmA en el medio de cultivo tuvo una mayor sensibilidad (98% frente al 80%) y especificidad (99% frente a un 95%) que el EmA sérico y/o anti-tTG. En dicho estudio, 32 adultos y 39 niños presentaron EC seronegativa (17% de 48 pacientes con EC).

Además en pacientes con lesiones tipo I de Marsh portadores de los haplotipos de riesgo HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8, el análisis combinado anti-tTG en suero y en el sobrenadante del cultivo de la biopsia, incrementó la sensibilidad del 19% al 30%, en comparación con la serología sola³⁸. Se llegó a la conclusión de que la detección de los anti-tTG en el sobrenadante de biopsias duodenales mejora la sensibilidad de la determinación serológica en pacientes con Marsh I, lo que tiene un claro valor diagnóstico y un importante impacto terapéutico.

La eficiencia diagnóstica de la prueba anti-tTG2 en el medio de cultivo de las biopsias parece ser similar, o probablemente superior, a la precisión diagnóstica de los depósitos de tTG IgA subepiteliales. No obstante, un estudio reciente que contrastó ambas técnicas sugiere que la medición de los anticuerpos secretados en los sobrenadantes de los cultivos es el mejor método para la detección de los anticuerpos anti-tTG2 intestinales³⁹.

En conclusión, la prueba de medición de los EmA o anti-tTG2 en el medio de cultivo de las muestras de biopsia intestinal, en pacientes con serología negativa y síntomas sugestivos de EC y HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8+ parece ser una buena opción para confirmar el diagnóstico de EC. También puede ser de utilidad en casos sospechosos en los que existan contradicciones entre los datos de laboratorio e histológicos.

6. ELISPOT IFN- γ

Las características histológicas del intestino delgado con EC probablemente se producen por un incremento en la respuesta inmune estimulada por linfocitos TH1. El gluten parece inducir una activación no proliferativa de las células T CD4+ de la lámina propia, especialmente las células

Th1-LIEs activadas secretoras de IFN-gamma⁴⁰. No obstante, la transcripción de IFN-gamma está inhibida un año después de introducir la dieta sin gluten⁴¹.

El 'Enzyme-Linked ImmunoSpot Assay' (ELISPOT) es una técnica mediante la cual es posible detectar marcadores inmunes como las citoquinas y la secreción de quimocinas a nivel de células individuales, ya que las citoquinas segregadas son capturadas y acumuladas en los pocillos del ELISPOT⁴².

En niños con EC sin tratamiento se ha demostrado un aumento en la cantidad de células productoras de IFN-gamma detectadas mediante ELISPOT y, efectivamente, después de la provocación con gluten la cantidad de células productoras de IFN-gamma sigue siendo elevada⁴³.

También se ha demostrado que la prueba de provocación *in vivo* es un método simple y seguro, que permite analizar y cuantificar las células T específicas para la gliadina en sangre periférica, mediante ELISPOT⁴⁴. Esta técnica podría discriminar pacientes con EC entre aquellos que han adoptado una dieta sin gluten. Ninguna prueba para células T podría diferenciar entre pacientes con EC y controles previo a la provocación con gluten, pero posteriormente a su realización el ELISPOT IFN- γ alcanzó en pacientes con EC una sensibilidad del 85% y una especificidad de 100%⁴⁵.

En lugar de las semanas o meses necesarios para un diagnóstico basado en una histología anómala del intestino delgado, la movilización en el flujo sanguíneo de células T reactivas al gluten específicas para la EC requiere la provocación oral del gluten durante solo 3 días, lo cual proporciona una ventaja adicional sobre las pruebas diagnósticas que se efectúan actualmente en pacientes que ya siguen una dieta sin gluten. La provocación oral con gluten consiste en la toma de cuatro rebanadas diarias (4 x 50g) de pan blanco durante tres días⁴⁴. La sangre necesaria para las pruebas de liberación de citoquinas se extrae inmediatamente antes y en el día 6 después de iniciar la prueba de provocación, o en pacientes con EC sin tratamiento, previo al inicio de la dieta sin gluten.

En conclusión, las pruebas para liberación de citoquinas en sangre parecen ser sensibles y específicas para la detección de células T reactivas al gluten en EC. Son necesarios más estudios clínicos de cara a valorar la utilidad de estas pruebas en pacientes con un diagnóstico de EC incierto.

7. La prueba del Tetrámero de Gliadina HLA-DQ2

Recientemente, Brottevit y cols. evaluaron, para el diagnóstico de la EC en pacientes que siguen una dieta sin gluten, el potencial de una prueba basada en un sistema clasificador de células activado por fluorescencia (FACS) que utiliza tetrámeros de péptidos MHC de clase II capaces de detectar en sangre, células T específicas para los epítomos DQ2.5-glia- α 1a y DQ2.5-glia- α 12⁴⁶. Esta prueba de tetrámeros tuvo una sensibilidad del 85% y una especificidad de un 100%, para EC HLA-DQ2.5+⁴⁶. Recientemente, un estudio realizado en Estados Unidos ha replicado estos

resultados utilizando tetrámeros MHC ⁴⁷.

Esta prueba, así como la prueba ELISPOT, podrían ser útiles para diagnosticar EC en individuos que siguen una dieta sin gluten. Las pruebas disponibles, incluyendo la serología y los resultados de las biopsias intestinales, pueden resultar completamente normales en pacientes con EC que siguen una dieta sin gluten. A estas personas se les pide que reintroduzcan alimentos con gluten durante 2-4 semanas como una prueba de provocación, previo a la realización de las pertinentes pruebas diagnósticas. Esta práctica clínica es inaceptable para algunos pacientes por la aparición precoz de síntomas, no consiguiendo el diagnóstico definitivo. Por el contrario, una exposición al gluten por un corto plazo de tiempo es, en general, bien tolerada.

En conclusión, la prueba del tetrámero podría ser de utilidad para confirmar el diagnóstico de EC después de una breve provocación con gluten durante 3 días. No obstante, los resultados parecen comparables a la prueba ELISPOT; por este motivo, y considerando que la prueba del tetrámero es técnicamente difícil, muy laboriosa y que los reactivos de tetrámero tienen una estabilidad limitada, no puede esperarse el uso generalizado de la misma.

Referencias

1. Fernández Bañares F, Mariné M, Rosinach M, Carrasco A, Esteve M. *Type 1 Marsh Celiac Disease: Diagnosis and Response*. In Rodrigo L and Pena AS, editors. *Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity*. Barcelona, Spain: OmniaScience. 2014; 289-302.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.223>
2. Farré C. *The Role of Serology in Celiac Disease Screening, Diagnosis and Follow-up*. In Rodrigo L and Pena AS, editors. *Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity*. Barcelona, Spain: OmniaScience. 2014; 151-169.
<http://dx.doi.org/10.3926/oms.234>
3. Aziz I, Evans KE, Hopper AD, Smillie DM, Sanders DS. *A prospective study into the etiology of lymphocytic duodenosis*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 32: 1392-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04477.x>
PMid:21050242
4. Wahab PJ, Meijer JWR, Goerres MS, Mulder CJJ. *Coeliac disease: Changing views on gluten-sensitive enteropathy*. *Scand J Gastroenterol*. 2002; 37 Suppl 236: 60-5.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655202320621472>
5. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. *Sensitivity of anti-endomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice*. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94: 888-94.
http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.983_f.x
PMid:10201452
6. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J et al. *Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 2008; 103: 2360-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01977.x>
PMid:18702652
7. Hopper AD, Cross SS, Hurlstone DP, McAlindon ME, Lobo AJ, Hadjivassiliou M et al. *Pre-endoscopy serological testing for celiac disease: evaluation of a clinical decision tool*. *BMJ*. 2007; 334: 729-33.
<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39133.668681.BE>
PMid:17383983 PMCID:PMC1847864
8. Carroccio A, Iacono G, Di Prima L, Pirrone G, Cavataio F, Ambrosiano G et al. *Antiendomysium antibodies assay in the culture medium of intestinal mucosa: an accurate method for celiac disease diagnosis*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 23: 1018-23.
<http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e328349b8a5>
9. Catassi C, Fasano A. *Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms*. *Am J Med*. 2010; 123: 691-3.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.02.019>
PMid:20670718

10. DeGaetani M, Tennyson CA, Lebwohl B, Lewis SK, Abu Daya H, Arguelles-Grande C et al. *Villous atrophy and negative celiac serology: a diagnostic and therapeutic dilemma*. Am J Gastroenterol. 2013; 108: 647-53.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.45>
PMid:23644957
11. Sárdy M, Csikós M, Geisen C, Preisz K, Kornseé Z, Tomsits E et al. *Tissue transglutaminase ELISA positivity in autoimmune disease independent of gluten-sensitive disease*. Clin Chim Acta. 2007; 376: 126-35.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.006>
PMid:16987503
12. Di Tola M, Barillà F, Trappolini M, Palumbo HF, Gaudio C, Picarelli A. *Antitissue transglutaminase antibodies in acute coronary syndrome: an alert signal of myocardial tissue lesion?* J Intern Med. 2008; 263: 43-51.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01881.x>
PMid:18088251
13. Bizzaro N, Tampoa M, Villalta D, Platzgummer S, Liguori M, Tozzoli R et al. *Low specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with primary biliary cirrhosis*. J Clin Lab Anal. 2006; 20: 184-9.
<http://dx.doi.org/10.1002/jcla.20130>
PMid:16960894
14. Damasiewicz-Bodzek A, Wielkoszyński T. *Serologic markers of celiac disease in psoriatic patients*. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2008; 22: 1055-61.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2008.02713.x>
PMid:18384553
15. Lian L, Remzi FH, Kiran RP, Fazio VW, Shen B. *Clinical implication of falsepositive celiac serology in patients with ileal pouch*. Dis Colon Rectum. 2010; 53: 1446-51.
<http://dx.doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181eba46c>
PMid:20847628
16. Ferrara F, Quaglia S, Caputo I, Esposito C, Lepretti M, Pastore S et al. *Anti-transglutaminase antibodies in non-coeliac children suffering from infectious diseases*. Clin Exp Immunol. 2010; 159: 217-23.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04054.x>
PMid:19912255 PMCid:PMC2810390
17. Leon F. *Flow cytometry of intestinal intraepithelial lymphocytes in celiac disease*. J Immunol Meth. 2011; 363: 177-86.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2010.09.002>
PMid:20833175
18. Camarero C, Eiras P, Asensio A, Leon F, Olivares F, Escobar H et al. *Intraepithelial lymphocytes and celiac disease: permanent changes in CD3-/CD7- and T cell receptor gamma-delta subsets studied by flow cytometry*. Act Paediatr. 2000; 89: 285-90.
<http://dx.doi.org/10.1080/080352500750028410>

19. Arranz E, Ferguson A. *Intestinal antibody pattern of celiac disease: occurrence in patients with normal jejunal biopsy histology*. *Gastroenterology*. 1993; 104: 1263.
PMid:8482440
20. Kutlu T, Brousse N, Rambaud C, Le Deist F, Schmitz J et al. *Numbers of T cell receptor (TCR) alpha beta+ but not of TcR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet*. *Gut*. 1993; 34: 208-214.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.34.2.208>
PMid:8432475 PMCID:PMC1373972
21. Savilahti E, Arato A, Verkasalo M. *Intestinal gamma/delta receptor-bearing T lymphocytes in celiac disease and inflammatory bowel diseases in children*. Constant increase in celiac disease. *Pediatr Res*. 1990; 28: 579-581.
<http://dx.doi.org/10.1203/00006450-199012000-00005>
PMid:2149449
22. Halstensen TS, Scott H, Brandtzaeg P. *Intraepithelial T cells of the TcR gamma/delta+ CD8- and V delta 1/J delta 1+ phenotypes are increased in coeliac disease*. *Scand J Immunol*. 1989; 30: 665-672.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.1989.tb02474.x>
PMid:2481336
23. Järvinen TT, Kaukinen K, Laurila K, Kyronpalo S, Rasmussen M, Maki M et al. *Intraepithelial lymphocytes in celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98: 1332-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2003.07456.x>
PMid:12818278
24. Salmi TT, Collin P, Reunala T, Mäki M, Kaukinen K. *Diagnostic methods beyond conventional histology in celiac disease diagnosis*. *Dig Liver Dis*. 2010; 42: 28-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2009.04.004>
PMid:19473894
25. Lonardi S, Villanacci V, Lorenzi L, Lanzini A, Lanzarotto F, Carabellese N et al. *Anti-TCR gamma antibody in celiac disease: the value of count on formalin-fixed paraffin-embedded biopsies*. *Virchows Arch*. 2013; 463: 409-13.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00428-013-1448-7>
PMid:23860877
26. Eiras P, Roldán E, Camarero C, Olivares F, Bootello A et al. *Flow cytometry description of a novel CD3-/CD7+ intraepithelial lymphocyte subset in human duodenal biopsies: potential diagnostic value in coeliac disease*. *Cytometry*. 1998; 34: 95-102.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19980415\)34:2<95::AID-CYTO6>3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19980415)34:2<95::AID-CYTO6>3.0.CO;2-B)
27. León F, Roldán E, Sanchez L, Camarero C, Bootello A, Roy G. *Human small-intestinal epithelium contains functional natural killer lymphocytes*. *Gastroenterology*. 2003; 125: 345-356.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00886-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00886-2)

28. Calleja S, Vivas S, Santiuste M, Arias L, Hernando M, Nistal E et al. *Dynamics of non-conventional intraepithelial lymphocytes-NK, NKT, and $\gamma\delta$ T-in celiac disease: relationship with age, diet, and histopathology*. Dig Dis Sci. 2011; 56: 2042-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-010-1534-5>
PMid:21221796
29. Fernández-Bañares F, Carrasco A, García-Puig R, Rosinach M, González C, Alsina M et al. *Intestinal intraepithelial lymphocyte cytometric pattern is more accurate than subepithelial deposits of anti-tissue transglutaminase IgA for the diagnosis of celiac disease in lymphocytic enteritis*. Plos One. 2014; 9: e101249.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101249>
PMid:25010214 PMCID:PMC4091865
30. Korponay-Szabó IR, Halttunen T, Szalai Z, Király R, Kovács JB, Fésüs L et al. *In vivo targeting of intestinal and extraintestinal transglutaminase 2 by celiac autoantibodies*. Gut. 2004; 53: 641-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.024836>
PMid:15082580 PMCID:PMC1774023
31. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LLE, Saavalainen P, Koskinen O et al. *Celiac disease without villous atrophy in children: A prospective study*. J Pediatr. 2010; 157: 373-80.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.02.070>
PMid:20400102
32. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabó IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H et al. *Endomysial antibody-negative celiac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits*. Gut. 2006; 55: 1746-53.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.071514>
PMid:16571636 PMCID:PMC1856451
33. Salmi TT, Collin P, Järvinen O, Haimila K, Partanen J, Laurila K et al. *Immunoglobulin A autoantibodies against transglutaminase 2 in the small intestinal mucosa predict forthcoming celiac disease*. Aliment Pharmacol Ther 2006; 24: 541-52.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02997.x>
PMid:16886921
34. Tosco A, Maglio M, Paparo F, Rapacciuolo L, Sannino A, Miele E et al. *Immunoglobulin A anti-tissue transglutaminase antibody deposits in the small intestinal mucosa of children with no villous atrophy*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008; 47: 293-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181677067>
PMid:18728524
35. Koskinen O, Collin P, Lindfors K, Laurila K, Mäki M, Kaukinen K. *Usefulness of small bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 2010; 44: 483-8.
PMid:19779364

36. Carroccio A, Iacono G, D'Amico D, Cavataio F, Teresi S, Caruso C et al. *Production of anti-endomysial antibodies in cultured duodenal mucosa: usefulness in celiac disease diagnosis*. Scand J Gastroenterol. 2002; 37: 32-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655202753387329>
PMid:11843032
37. Carroccio A, Di Prima L, Pirrone G, Scalici C, Florena AM, Gasparin M et al. *Anti-transglutaminase antibody assay of the culture medium of intestinal biopsy specimens can improve the accuracy of celiac diagnosis*. Clin Chem. 2006; 52: 1175-80.
<http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2005.061366>
PMid:16574764
38. Santaolalla R, Fernández-Bañares F, Rodríguez R, Alsina M, Rosinach M, Mariné M et al. *Diagnostic value of duodenal antitissue transglutaminase antibodies in gluten-sensitive enteropathy*. Aliment Pharmacol Ther. 2008; 27: 820-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03652.x>
PMid:18284655
39. Tosco A, Aitoro R, Auricchio R, Ponticelli D, Miele E, Paparo F et al. *Intestinal anti-tissue transglutaminase antibodies in potential coeliac disease*. Clin Exp Immunol. 2013; 171: 69-75.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2012.04673.x>
PMid:23199325 PMCID:PMC3530097
40. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KEA, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM et al. *Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon-gamma in patients with celiac disease*. Gastroenterology. 1998; 115: 551-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70134-9)
41. Lahdenperä A, Ludvigsson J, Fälth-Magnusson K, Högberg L, Vaarala O. *The effect of gluten-free diet on Th1-Th2-Th3-associated intestinal immune responses in celiac disease*. Scand J Gastroent. 2011; 46: 538-49.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2011.551888>
PMid:21288140
42. Faresjö M. *Enzyme Linked Immuno-Spot: a Useful Tool in the Search for Elusive Immune Markers in Common Pediatric Immunological Diseases*. Cells. 2012; 1: 141-52.
<http://dx.doi.org/10.3390/cells1020141>
PMid:24710420 PMCID:PMC3901087
43. Hansson T, Dannaeus A, Klareskog L. *Cytokine-producing cells in peripheral blood of children with coeliac disease secrete cytokines with a type 1 profile*. Clin Exp Immunol. 1999; 116: 246-50.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2249.1999.00882.x>
PMid:10337014 PMCID:PMC1905277

44. Anderson RP, van Heel DA, Tye-Din JA, Barnardo M, Salio M, Jewell DP et al. *T cells in peripheral blood after gluten challenge in coeliac disease*. Gut. 2005; 54: 1217-23.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2004.059998>
PMid:16099789 PMCID:PMC1774637
45. Ontiveros N, Tye-Din JA, Hardy MY, Anderson RP. *Ex-vivo whole blood secretion of interferon (IFN)- γ and IFN- γ -inducible protein-10 measured by enzyme-linked immunosorbent assay are as sensitive as IFN- γ enzyme-linked immunospot for the detection of gluten-reactive T cells in human leucocyte antigen (HLA)-DQ2.5+ -associated coeliac disease*. Clin Exp Immunol. 2013; 175: 305-15.
<http://dx.doi.org/10.1111/cei.12232>
PMid:24192268 PMCID:PMC3892421
46. Brottveit M, Raki M, Bergseng E, Fallang LE, Simonsen B, Løvik A et al. *Assessing possible celiac disease by an HLA-DQ2-gliadin tetramer test*. Am J Gastroenterol. 2011; 106: 1318–24.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.23>
PMid:21364548
47. Han A, Newell EW, Glanville J, Fernandez-Becker N, Khosla C, Chien YH et al. *Dietary gluten triggers concomitant activation of CD4+ and CD8+ alphabeta T cells and gammadelta T cells in celiac disease*. Proc Natl Acad Sci USA. 2013; 110: 13073-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1311861110>
PMid:23878218 PMCID:PMC3740842

CAPÍTULO 8

LA BIOPSIA INTESTINAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA: ¿ES AÚN EL PATRÓN ORO?

Juan P. Palazzo

Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio.
Sidney Kimmel Medical College en la Thomas Jefferson University.
Filadelfia, Estados Unidos

Juan.Palazzo@jefferson.edu

Cómo citar este capítulo:

Palazzo, JP. *La Biopsia Intestinal en el Diagnóstico de la Enfermedad Celíaca: ¿Es aún el Patrón Oro?* En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten.*

Resumen

La patología posee un papel crucial en el diagnóstico de la enfermedad celíaca (EC). La misión principal del patólogo es confirmar el diagnóstico de la EC, excluir otras enfermedades que comparten características morfológicas con EC y diagnosticar posibles complicaciones en pacientes con EC. Por lo tanto, la importancia de la biopsia de intestino delgado comprende la confirmación del diagnóstico, además de asegurar al clínico la exclusión de otras etiologías. Algunas de estas enfermedades, tales como la atrofia vellositaria y la linfocitosis intraepitelial, comparten muchas similitudes con la EC. Las biopsias del intestino delgado son útiles para establecer esta distinción.

Se recomienda enfáticamente el uso de informes de patología estandarizados que incluyan un sistema de clasificación apropiado, con el fin de facilitar la interpretación de la patología y la comunicación entre patólogos y clínicos. En niños, se podría prescindir de la biopsia del intestino delgado si existen hallazgos clínicos y de laboratorio que puedan confirmar el diagnóstico sin biopsia. Es importante recordar que los hallazgos anatómo-patológicos deben ser correlacionados con los datos clínicos, endoscópicos y serológicos en todos los pacientes con sospecha de EC.

Palabras clave

Enfermedad celíaca, patología, diagnóstico diferencial, atrofia vellositaria.

1. Introducción

Se sabe que la enfermedad celíaca afecta a personas de todas las edades con una presencia creciente tanto en individuos mayores como en niños. Esto ha llevado a sospechar que más individuos presentan enfermedad celíaca (EC) tal y como lo han hallado los patólogos en su práctica, en un número cada vez mayor de biopsias del intestino delgado. El diagnóstico de EC incluye características clínicas, endoscópicas, patológicas y de laboratorio¹⁻⁵. Durante los últimos años ha surgido la duda sobre la importancia de la biopsia intestinal y cuál es su papel en el diagnóstico de la EC^{2,6}. ¿Debería practicarse biopsia a todos los pacientes con sospecha de EC? Conviene recordar también que el procedimiento endoscópico para la toma de biopsias del intestino delgado no está exento de riesgos, y que puede ser costoso y prolongado.

El papel del patólogo en el estudio sobre pacientes con enfermedad celíaca es múltiple. Si la biopsia se hace inicialmente para confirmar el diagnóstico, el patólogo podría identificar los cambios habituales encontrados en la EC, tales como la atrofia vellositaria, linfocitosis intraepitelial (LIEs) e hiperplasia de criptas^{4,7,8}. Si la biopsia es normal, no puede excluirse la posibilidad de EC. Para aumentar las posibilidades de detectar rasgos anormales, se recomienda realizar biopsias múltiples del intestino delgado, incluyendo el bulbo duodenal. Cuando el paciente presenta el diagnóstico de EC y se le practican más biopsias, el patólogo puede evaluar la respuesta a la terapia y realizar un informe sobre los cambios observados en el intestino delgado, comparados con la biopsia inicial. La tercera situación es cuando el paciente tiene ya sea una presentación atípica o una sospecha de complicación de la EC^{4,9}. En estos casos, el patólogo tiene un papel crucial para confirmar el diagnóstico de EC excluyendo otras enfermedades que puedan presentar cambios similares a los de la EC o al diagnosticar una complicación de la EC como el linfoma intestinal, el adenocarcinoma o esprue colágeno.

Con las recomendaciones recientes, publicadas por la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPHGAN), se puede prescindir de la toma de biopsias del intestino delgado en niños y adolescentes siempre y cuando presenten síntomas clásicos de enfermedad celíaca tales como títulos elevados de anticuerpos (niveles de TTG-IgA >10 veces lo normal) y subtipado positivo de HLA-DQ2 o DQ8⁶

Se considera que estos pacientes cuentan con suficiente evidencia para apoyar el diagnóstico de EC sin confirmación histológica, de manera que pueden ser tratados sin realizar la misma⁶. Se requiere de datos adicionales que incluyan seguimiento y comparación de pacientes a quienes se les hayan practicado biopsias de intestino delgado para poder confirmar con seguridad las recomendaciones propuestas por ESPHGAN actualmente.

La mayoría de los autores están de acuerdo^{2,5} con que las biopsias del intestino Delgado deberían formar parte integral del análisis en adultos. Las biopsias frecuentes se recomiendan aun en pacientes con serología negativa, pero que presentan hallazgos clínicos con sospecha de EC². Un problema potencial que podría surgir si no se realiza una biopsia del intestino delgado en el

análisis inicial de la EC es que, con el fin de confirmar o excluir el diagnóstico de EC, no sería fácil interpretar biopsias de seguimiento efectuadas cuando exista falta de mejoría, dudas acerca del diagnóstico, o una complicación. La falta de mejoría en las características patológicas de la biopsia del intestino ha sido asociada con una progresión hacia un esprue refractario¹. Por lo tanto, la carencia de una biopsia basal del intestino delgado podría dificultar potencialmente la interpretación cuando el paciente ya está siguiendo un tratamiento adecuado que incluya una dieta sin gluten.

Un hallazgo microscópico temprano en la EC puede incluir solamente la presencia de linfocitos intraepiteliales (LIEs), con o sin evidencia de atrofia vellositaria^{7,8}. Ambos cambios no son específicos y otras enfermedades pueden presentar también estas características, solamente atrofia vellositaria o aumento de LIEs. Esta es una de las principales razones por las que algunos autores proponen que está justificado efectuar biopsias de intestino delgado en todo paciente con sospecha de EC, para confirmar el diagnóstico.

Los hallazgos clásicos de EC en las biopsias del intestino delgado incluyen: atrofia vellositaria que (puede ser, desde mínima hasta mucosa aplanada severa), aumento de LIEs e hiperplasia de criptas (Figura 1). La relación vellosidad/cripta es variable y oscila entre 1:1 y 3:1. Aparte de estos cambios, existe un mayor número de linfocitos intraepiteliales de más de 25 linfocitos por cada 100 enterocitos. En la enfermedad celíaca, los linfocitos se distribuyen típicamente a lo largo de la cubierta epitelial de las vellosidades. La presencia de un incremento en los linfocitos en la punta de las mismas es más frecuente en la EC que en otros procesos, pero no es un hallazgo específico^{7,8}. No se recomienda el uso de la inmunohistoquímica para la evaluación rutinaria de linfocitos intraepiteliales; no obstante, existen laboratorios de patología que han usado los marcadores en todas las biopsias del intestino delgado. Los marcadores de linfocitos T, CD3 y CD8 pueden ser de utilidad cuando existan dudas sobre el incremento en los linfocitos intraepiteliales y en casos en los que exista sospecha de esprue refractario (ER). En caso de usar tinciones inmunohistoquímicas, deben interpretarse con cuidado con el fin de diagnosticar el aumento de LIEs y poder concluir que el paciente presenta EC. El número de LIEs debe ascender a 30 por cada 100 enterocitos.

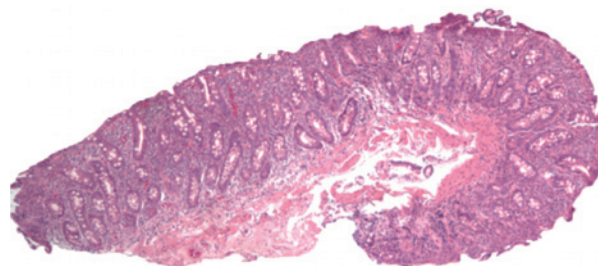


Figura 1. Mucosa del intestino delgado presentando una importante atrofia vellositaria en un paciente con enfermedad celíaca sin tratamiento.

Para estandarizar los informes de la interpretación de las biopsias de intestino delgado en pacientes con EC, se han propuesto dos sistemas de clasificación^{5,10}. Estas son la clasificación de Marsh Oberhuber modificada y la de Corazza^{5,10}. El sistema Marsh/Oberhuber toma en consideración el incremento en los linfocitos intraepiteliales, la hiperplasia de criptas y el grado de atrofia vellositaria. La clasificación de Marsh utiliza un sistema de cinco niveles, que van desde el tipo 0 (normal) al tipo 3c (en el cual los tres parámetros son anormales, con severa atrofia vellositaria). El sistema de Corazza/Villanacci es una versión simplificada, que consta solamente de tres categorías: Grado A, cuando presenta solamente un incremento en linfocitos intraepiteliales; Grado B1, con atrofia vellositaria parcial y Grado B2 con atrofia vellositaria total junto con la presencia de linfocitos intraepiteliales e hiperplasia de criptas. Actualmente, el sistema Marsh/Oberhuber es la clasificación más ampliamente utilizada. No obstante, el sistema de Corazza/Villanacci comprende solamente tres grupos, es más fácil de aplicar y permite reducir la variabilidad entre observadores al informar sobre la EC. Se recomienda el empleo de uno de estos sistemas con el fin de facilitar la interpretación de las biopsias y la comunicación entre el gastroenterólogo y el patólogo.

2. El Diagnóstico Diferencial de las Biopsias del Intestino Delgado

Además de confirmar el diagnóstico de EC, la importancia del examen microscópico del intestino delgado radica en poder identificar otros procesos similares a la EC que resultan difíciles de diferenciar clínicamente.

El manejo técnico de la biopsia para una correcta orientación del tejido es crucial para la interpretación precisa. Tanto cuando exista atrofia vellositaria o LIEs, o ambos, una biopsia que no haya sido correctamente orientada dificultará la interpretación de los cambios y podría conducir a un diagnóstico incorrecto. Una orientación adecuada evitará posibles artefactos y una incorrecta interpretación de las biopsias, como puede ocurrir en la EC. Ello debe ser resaltado al manipular biopsias del intestino delgado.

El hallazgo de atrofia vellositaria en las biopsias del intestino delgado no es específico y existen otros procesos que presentan vellosidades alteradas sin llegar a ser EC^{1,7,11,12}. Uno de los principales cometidos de los patólogos al interpretar biopsias del intestino delgado es el reconocimiento de la posibilidad de otros procesos y sus características microscópicas. No existe una única característica patológica de la biopsia de intestino delgado que se considere específica para el diagnóstico de EC.

Los trastornos de intestino delgado que pueden presentar atrofia vellositaria, excluyendo enfermedad celíaca, se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Causas no celíacas de atrofia vellositaria en el duodeno.

Esprúe tropical
Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado
Enteropatía autoinmune
Enteropatía asociada con fármacos
Enfermedad de Whipple
Esprue colágeno
Enfermedad de Crohn
Enteritis infecciosa (tuberculosis, giardiasis)
Enfermedad de injerto contra huésped
Malnutrición
Duodenitis péptica
Inmunodeficiencia variable común

Además presentar vellosidades alteradas, estas enfermedades pueden presentar aumento en los LIEs, lo que representa un mayor reto al realizar el diagnóstico diferencial con la EC.

La serología es negativa en todas estas enfermedades y antes, de diagnosticar una EC, deberían excluirse las entidades arriba mencionadas. Para el patólogo, la presencia de vellosidades anormales en pacientes que no presentan otras características de EC plantea un reto significativo y es necesario tener en cuenta la existencia de estas entidades similares. Se presenta, más adelante, una breve descripción de estos trastornos y sus hallazgos patológicos más relevantes.

La aparición de atrofia vellositaria se ha asociado con la toma de medicamentos tales como olmesartan, micofenolato mofetil, metotrexato y azatioprina^{11,13-16}. Para pacientes en los que se sospecha toxicidad medicamentosa, la suspensión de los fármacos conduce a una mejoría clínica y patológica. La Figura 2 ilustra un ejemplo de atrofia vellositaria y membrana basal engrosada, secundaria al uso de Olmersartán.

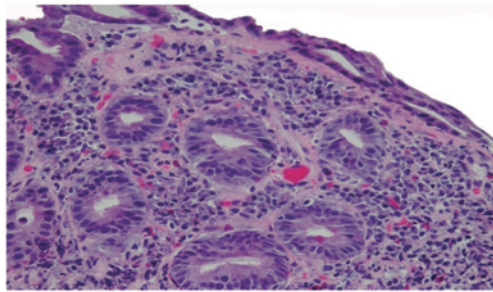


Figura 2: Mucosa del intestino delgado de un varón de 74 años de edad con náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarreas y pérdida de peso. El paciente tomaba Olmersartan. La atrofia vellositaria es importante y la membrana basal se encuentra engrosada.

La inmunodeficiencia variable común (CVID) presenta una mucosa del intestino delgado con células plasmáticas disminuidas o ausentes en la lámina propia y niveles séricos de inmunoglobulinas muy bajos.

El esprue colágeno se caracteriza microscópicamente por la presencia de una membrana basal difusamente engrosada y atrofia vellositaria.

El esprue colágeno puede ser visto como una enfermedad independiente sin relación con la EC, o como una complicación de la EC^{4,17}. El esprue tropical se detecta en pacientes con antecedentes de viajes recientes a zonas del trópico. Esta enfermedad responde al tratamiento con antibióticos.

El sobrecrecimiento bacteriano se presenta en pacientes con trastornos de la motilidad intestinal, o con alteraciones anatómicas del intestino delgado que facilitan la colonización de flora bacteriana gram negativa procedente del colon. Estos pacientes presentan una prueba de hidrógeno positiva en el aliento y responden al tratamiento con antibióticos. Las biopsias del intestino delgado puede presentar atrofia vellositaria, de grado leve a moderado (en hasta 25% de los pacientes) y menos frecuentemente, un aumento de los LIEs¹⁸.

Las biopsias del intestino delgado pueden presentar alteración de la arquitectura vellositaria e inflamación aguda de la lámina propia y las criptas. La EC puede presentarse con inflamación aguda de la mucosa en hasta un 50% de los casos y su presencia no debe excluir el diagnóstico de EC. No obstante, los abscesos en la cripta y las erosiones en la mucosa no son comunes en la EC⁷. Cuando la biopsia presenta inflamación aguda, debería excluirse la posibilidad de otras etiologías^{1,7}. La duodenitis péptica (lesión) es una trampa diagnóstica común y representa el daño en la mucosa del intestino delgado, más frecuentemente en el bulbo duodenal, (secundario al efecto de medicamentos), infección por el *Helicobacter* o al ácido gástrico. La lesión péptica presenta una inflamación

aguda en la lámina propia y metaplasia foveolar.

La afectación del duodeno por la enfermedad de Crohn también presenta inflamación aguda, abscesos en criptas y ocasionalmente granulomas, más frecuentes en el estómago que en el duodeno (Figura 3).

La enteropatía autoinmune puede afectar a niños y adultos. La biopsia intestinal presenta en los pacientes afectados una inflamación aguda, bajo la forma de criptitis aguda, células caliciformes y parietales ausentes y apoptosis con atrofia vellositaria¹⁹.

Las biopsias del intestino delgado que presentan solamente LIEs con arquitectura vellositaria preservada, son un hallazgo patológico frecuente en la práctica patológica diaria. Una minoría de estos pacientes tienen EC, ya que se estima que entre un 5 a un 15% de los pacientes con aumento en los LIEs presentan una enfermedad celíaca^{20,21}. Otras enfermedades que pueden estar asociadas con LIEs son las relacionadas con el consumo de medicamentos (fármacos anti inflamatorios), alergias alimenticias, infección por el *H. pylori*, gastritis crónica, diabetes, enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad mórbida y enfermedades autoinmunes²⁰⁻²².

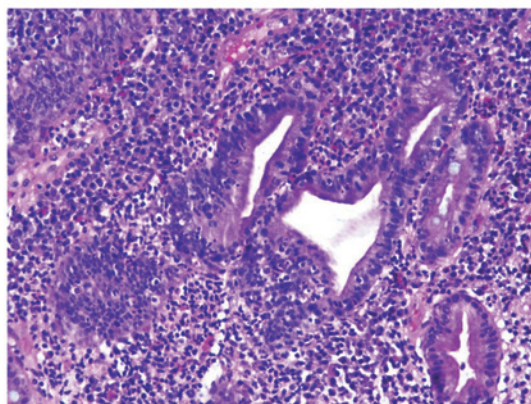


Figura 3. Biopsia del intestino delgado de un paciente con enfermedad de Crohn presentando inflamación aguda de la lámina propia y de las criptas.

Algunos pacientes pueden presentar biopsias, ya sea del estómago o del intestino grueso con aumento en los LIEs o engrosamiento de la membrana basal (gastritis colágena y colitis linfocítica), precediendo a la linfocitosis del intestino delgado²³. Si no existe una biopsia del intestino delgado previa para su análisis, debe alertarse al clínico ante la posibilidad de que se pueda tratar de una enfermedad celíaca en casos que presenten linfocitosis difusa a través del tracto gastrointestinal^{1,23}.

2.1. Esprue Refractario

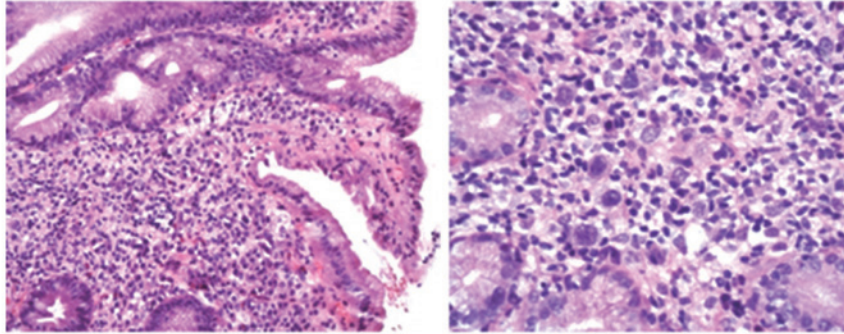
El papel del patólogo no se limita únicamente al diagnóstico inicial de la EC y al diagnóstico diferencial de otros trastornos, también incluye el análisis de pacientes con sospecha de esprue refractario (ER).

El esprue refractario (ER) es una complicación de la EC que se presenta en el 1-2% de los pacientes^{5,9,24}. Se debe sospechar este diagnóstico cuando persisten síntomas de malabsorción a pesar de seguir una dieta sin gluten. Es importante realizar el diagnóstico de ER, ya que la posibilidad de progresión hacia linfoma de células T y la mortalidad secundaria provocada por infecciones son considerablemente más elevadas en pacientes con ER tipo II. El fenotipo linfocítico de ER tipo I es similar al de la EC sin tratamiento²⁴.

El primer paso que debería tomar el patólogo cuando se le pide evaluar una biopsia procedente de un paciente con sospecha de ER es volver a examinar las biopsias previas del intestino delgado, para confirmar el diagnóstico de EC. Durante el proceso de revisión de las biopsias, el patólogo puede excluir otras enfermedades que presentan un aumento en los linfocitos intraepiteliales, o atrofia vellositaria, que pueda simular EC. Si se excluyen otras posibilidades diagnósticas pueden utilizarse tinciones inmunohistoquímicas para caracterizar la presencia de una población linfocítica clonal aberrante. CD3 y CD8 son marcadores de células T, que se analizan en material incluido en parafina. Si ambos marcadores son positivos, el diagnóstico diferencial incluye EC sin tratamiento o esprue refractario tipo I, asumiendo que el paciente tenga EC y que se hayan excluido otros procesos.

Debe considerarse la posibilidad de esprue refractario tipo II si la biopsia presenta un fenotipo anormal (carencia de tinción inmunohistoquímica CD8). El esprue refractario tipo II es una enfermedad más agresiva en la que un mayor número de casos progresan hacia yeyunitis ulcerativa y linfoma del intestino delgado (Figura 4).

La presencia de un fenotipo linfocítico anormal es un factor predictivo, pero no necesariamente, una condición previa para desarrollar un linfoma²⁴. La detección mediante técnicas moleculares de reorganización de genes del receptor gamma de células T puede ser de utilidad para confirmar el diagnóstico de linfoma del intestino delgado. El análisis molecular puede revelar una expansión de linfocitos T monoclonales en la mucosa del intestino delgado.



Linfoma de célula T del intestino delgado en un paciente con enfermedad celíaca de larga duración. Obsérvense los linfocitos atípicos expandiendo la lámina propia e infiltrando las criptas.

3. Conclusión

La patología de las biopsias del intestino delgado tiene un papel crucial en el diagnóstico de la enfermedad celíaca y en la interpretación de las biopsias para confirmar o excluir la EC.

El espectro de hallazgos en las biopsias de pacientes con sospecha de EC se ha ampliado y el diagnóstico puede ser sutil, con cambios histopatológicos mínimos. Para confirmar el diagnóstico de EC, las características patológicas deberían correlacionarse con hallazgos clínicos, endoscópicos y serológicos, así como con haplotipos HLA.

La biopsia del intestino delgado debe considerarse como un componente importante antes de diagnosticar a paciente en los que se sospeche EC. Es importante recordar que otros procesos intestinales pueden compartir características patológicas similares con la enfermedad celíaca. El clínico decidirá en cada caso individual la conveniencia de realizar o no la toma de biopsias del intestino delgado, para confirmar o excluir la posibilidad de enfermedad celíaca.

Referencias

1. Walker MM, Murray JA. *An update in the diagnosis of coeliac disease*. *Histopathology*. 2011; 59: 166-179. PMID:21054494
2. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. *ACG clinical guidelines: Diagnosis and management of Celiac Disease*. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108(5): 656-676.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.79>
PMid:23609613 PMCID:PMC3706994
3. Fasano A, Catassi C. *Celiac Disease*. *N Engl J Med*. 2012; 367(25): 2419-2426.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp1113994>
PMid:23252527
4. Owens SR, Greenson JK. *The pathology of malabsorption: current concepts*. *Histopathology*. 2007; 50: 64-82.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2559.2006.02547.x>
PMid:17204022
5. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M et al. *Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification*. *BMC Med*. 2012; 10: 13.
<http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-10-13>
PMid:22313950 PMCID:PMC3292448
6. Husby S, Koletzki S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R et al. *The ESPGHAN working group on celiac disease diagnosis, on behalf of the ESPGHAN gastroenterology committee: European Society of pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease*. *JPGN*. 2012; 54: 136-160.
PMid:22197856
7. Brown IS, Smith J, Rosty C. *Gastrointestinal pathology in celiac disease*. A case series of 150 consecutive newly diagnosed patients. *Am J Clin Pathol*. 2012; 138(1): 42-49.
<http://dx.doi.org/10.1309/AJCPE89ZPVJTSPWL>
PMid:22706856
8. Goldstein NS, Underhill J. *Morphologic features suggestive of gluten sensitivity in architecturally normal duodenal biopsy specimens*. *Am J Clin Pathol*. 2001; 116(1): 63-71.
<http://dx.doi.org/10.1309/5PRJ-CM0U-6KLD-6KCM>
PMid:11447753
9. Volta U, Villanacci V. *Celiac disease: diagnostic criteria in progress*. *Cellular & Molecular Immunology*. 2011; 8(2): 96-102.
<http://dx.doi.org/10.1038/cmi.2010.64>
PMid:21278763 PMCID:PMC4003134

10. Corazza GR, Villanacci V. *Coeliac disease*. J Clin Pathol. 2005; 58(6): 573-574.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2004.023978>
PMid:15917404 PMCID:PMC1770677

11. DeGaetani M, Tennyson CA, Lebowhl B, Lewis SK, Daya HA, Arguelles-Grande C et al. *Villous atrophy and negative celiac serology: a diagnostic and therapeutic dilemma*. Am J Gastroenterol. 2013; 108(5): 647-653.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.45>
PMid:23644957

12. Pallav K, Leffler DA, Tariq S, Kabbani T, Hansen J, Peer A et al. *Noncoeliac enteropathy: the differential diagnosis of villous atrophy in contemporary clinical practice*. Aliment Pharmacol Ther. 2012; 35(3): 380-390.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04938.x>
PMid:22145590

13. Rubio-Tapia A, Herman ML, Ludvigsson JF, Kelly DG, Mangan TF, Wu TT et al. *Severe spruelike enteropathy associated with olmesartan*. Mayo Clin Proc. 2012; 87(8), 732-738.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.06.003>
PMid:22728033 PMCID:PMC3538487

14. Kamar N, Faure P, Dupuis E, Cointault O, Joseph-Hein K, Durand D et al. *Villous atrophy induced by mycophenolate mofetil in renal –transplant patients*. Transpl Int. 2004; 17(8): 463-467.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-2277.2004.tb00471.x>
PMid:15322747

15. Bosca MM, Anon R, Mayordomo E, Villagrasa R, Balza N, Amoros C et al. *Methotrexate induced sprue-like syndrome*. World J Gastroenterol. 2008; 14(45): 7009-7011.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.7009>
PMid:19058340 PMCID:PMC2773868

16. Ziegler TR, Fernandez-Estivariz C, Gu LH, Fried MW, Leader LM. *Severe villus atrophy and chronic malabsorption induced by azathioprine*. Gastroenterology. 2003; 124(7): 1950-1957.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00405-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00405-0)

17. Vakiani E, Arguelles-Grande C, Mansukhani MM, Lewis SK, Rotterdam H, Green PH et al. *Collagenous sprue is not always associated with dismal outcomes: a clinicopathological study of 19 patients*. Mod Pathol. 2010; 23: 12-26.
<http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2009.151>
PMid:19855376

18. Lappinga PJ, Abraham SC, Murray JA, Vetter EA, Patel R, Wu TT. *Small intestinal bacterial overgrowth. Histopathologic features and clinical correlates in an underrecognized entity*. Arch Pathol Lab Med. 2010; 134(2): 264-270.
PMid:20121616

19. Singhi AD, Goyal A, Davison JM, Regueiro MD, Roche RL, Ranganathan S. *Pediatric autoimmune enteropathy: an entity frequently associated with immunodeficiency disorders*. Mod Pathol. 2014; 27: 543-553. <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2013.150>
PMid:24051695
20. Brown I, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Lauwers GY. *Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increase diagnostic problem with a wide differential diagnosis*. Arch Pathol Lab Med. 2006; 130: 1020-1025.
PMid:16831028
21. Vande Voort JL, Murray JA, Lahr BD, Van Dyke CT, Kroning CM, Moore SB, Wu TT. *Lymphocytic duodenitis and the spectrum of celiac disease*. Am J Gastroenterol. 2009; 104(1): 142-148. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2008.7>
PMid:19098862 PMCID:PMC2608723
22. Memeo L, Jhang J, Hibshoosh H, Green PH, Rotterdam H, Bhagat G. *Duodenal intraepithelial lymphocytosis with normal villous architecture: common occurrence in H. Pylori gastritis*. Mod Pathol. 2005; 18(8): 1134-1144. <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.3800404>
PMid:15803187
23. Feeley KM, Heneghan MA, Stevens FM, McCarthy CF. *Lymphocytic gastritis and coeliac disease: evidence of a positive association*. J Clin Pathol. 1998; 51: 207-210. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.51.3.207>
PMid:9659261 PMCID:PMC500640
24. Malamut G, Afchain P, Verkarre V, Lecomte T, Amiot A, Damotte D et al. *Presentation and long-term follow-up of refractory celiac disease: comparison of type I with type II*. Gastroenterology. 2009; 136: 81-90. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.09.069>
PMid:19014942

CAPÍTULO 9

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS: DIFERENCIAS ENTRE NIÑOS, ADOLESCENTES Y ADULTOS.

María Luisa Mearin¹, Miguel Montoro-Huguet², Isabel Polanco³, Carmen Ribes-Köninckx⁴, Santos Santolaria⁵

¹Jefe de Unidad Gastroenterología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Centro Médico de la Universidad Leiden (LUMC). Leiden, Países Bajos.

²Departamento de Medicina. Universidad de Zaragoza. Jefe de la Unidad Gastroenterología y Hepatología. Hospital San Jorge. Huesca, España.

³Facultad de Medicina. Universidad Autónoma. Jefe de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid, España.

⁴Jefe de Gastroenterología Pediátrica. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España.

⁵Unidad de Gastroenterología. Hospital San Jorge Huesca, España.

L.Mearin@LUMC.nl maimontoro@gmail.com ipolanco@telefonica.net
ribes_car@gva.es ssantolariap@gmail.com

Cómo citar este capítulo:

Mearin ML, Montoro-Huguet M, Polanco I, Ribes-Köninckx C, Santolaria, S. *Manifestaciones Clínicas de la Enfermedad Celíaca y Criterios Diagnósticos: Diferencias entre Niños, Adolescentes y Adultos*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Originalmente, la enfermedad celíaca (EC) fue considerada como un trastorno fundamentalmente pediátrico, caracterizado por la presencia de malabsorción y esteatorrea. Posteriormente, se reconoció que la EC puede afectar también a los adultos de cualquier edad. Actualmente, en algunos centros, la mayoría de los diagnósticos de EC se realizan en adultos de 30 a 50 años de edad. A lo largo de las últimas 2 décadas se ha descrito, tanto en niños como en adultos, un descenso global en la prevalencia de las presentaciones diarreicas, acompañadas de un incremento en las manifestaciones “no clásicas” de la enfermedad. En los niños, la presentación clínica se ve afectada principalmente por la edad: Niños menores de 3 años frecuentemente presentan diarrea, distensión abdominal y retraso en el desarrollo; mientras que niños mayores y adolescentes presentan otros síntomas gastrointestinales (dolor abdominal recurrente, estreñimiento) o síntomas extraintestinales. En los adultos, las principales formas de presentación son la diarrea, a pesar de que ésta ocurre en menos del 50% de los pacientes, así como síntomas gastrointestinales no específicos, que pueden confundirse con la dispepsia funcional, el síndrome del intestino irritable o la diarrea funcional. No son infrecuentes los síntomas extraintestinales, como la anemia ferropénica, osteoporosis, dermatitis herpetiforme, estomatitis aftosa recurrente, hipertransaminasemia o manifestaciones neuropsiquiátricas. Con el fin de mejorar el reconocimiento y diagnóstico de la EC, se han publicado varias guías de práctica clínica, tanto sobre niños como sobre adultos. En general, estas guías recomiendan la realización de pruebas serológicas para EC en pacientes con síntomas o trastornos asociados con EC. La confirmación del diagnóstico de EC debería basarse en una combinación de los hallazgos procedentes de la presentación clínica, pruebas serológicas, biopsias duodenales, genotipado HLA-DQ2/DQ8 y respuesta a la dieta sin gluten.

Sin embargo, las biopsias duodenales se podrían evitar en pacientes sintomáticos, HLA-DQ2 y/o -DQ8 positivo, con anticuerpos anti-transglutaminasa 10 veces superiores al límite normal y anticuerpos anti-endomisio positivos.

Palabras clave

Enfermedad celíaca, diarrea, síntomas gastrointestinales, síntomas extraintestinales, anticuerpos anti-transglutaminasa, HLA-DQ2/8, biopsias duodenales, dieta sin gluten.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es un trastorno sistémico de naturaleza autoinmune, el cual se presenta en individuos genéticamente susceptibles, ocasionado por el gluten y prolaminas relacionadas, caracterizado por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos de la EC, haplotipos HLA-DQ2 o HLA-DQ8 y enteropatía¹. En individuos genéticamente predispuestos, la EC se desencadena mediante ingesta de gluten a través de las proteínas de almacenamiento del trigo (gliadina), centeno (secalina) y cebada (hordeína). La EC es una enfermedad crónica que afecta a varios órganos, en la que el daño de la mucosa del intestino delgado puede conducir a la malabsorción de nutrientes. El tratamiento de la EC consistente en seguimiento permanente de una dieta sin gluten, fue descubierto por vez primera por el pediatra holandés Willem-Karel Dicke (1905-1962)².

La genética, inmunología y los factores ambientales son factores importantes en el desarrollo de la EC. La enfermedad tiene un fuerte componente genético y sus principales determinantes son los genes de clase II, HLA-DQ2 y -DQ8³. La EC es primariamente un trastorno de tipo inmune, mediado por células T, que afecta la mucosa intestinal de individuos genéticamente predispuestos. Las células T CD4+ reconocen péptidos de gluten selectivamente en el contexto de moléculas HLA-DQ2 o DQ8⁴. La enzima transglutaminasa 2 (TG2) deamida los péptidos de gluten cargados positivamente, fortaleciendo su enlace con las moléculas HLA-DQ2 y DQ8. Tanto las células T CD4+ específicas para el gluten, como los linfocitos T intraepiteliales citotóxicos, juegan un papel importante en el desarrollo de la EC, definido por la presencia de anticuerpos anti-TG2 y atrofia vellositaria. El factor ambiental más importante en relación con el desarrollo de la EC es el gluten, pero también se han implicado otros factores, tales como infecciones, disbiosis y exposición a fármacos^{5,6}.

La EC es una enfermedad común que frecuentemente está infradiagnosticada, en parte debido a la heterogeneidad de su presentación clínica y por sus síntomas variables⁷. Su prevalencia media es de un 1-3% en la población europea, tanto en adultos, como en niños⁸⁻¹¹. Dado que la EC puede ser tratada eficazmente mediante una dieta sin gluten (DSG), es importante identificar a las personas enfermas no diagnosticadas, para proporcionarles un tratamiento individual eficaz. Para mejorar el reconocimiento de la EC e incrementar la cantidad de personas a quienes se les a diagnosticado con este trastorno, durante los últimos años se han publicado un número importante de guías de práctica clínica para mejorar el diagnóstico clínico. Además, las recomendaciones de los Consensos de Oslo y Londres buscaron un acuerdo sobre la definición de los términos relacionados con la EC y/o la sensibilidad al gluten, y de, esta manera, mejorar la comunicación entre investigadores, clínicos y pacientes (Tabla 1)^{16,17}.

Tabla 1. Clasificación de las principales modalidades de presentación de la Enfermedad Celíaca de acuerdo con las definiciones de la Reunión de Consenso Oslo ¹⁷ y con la guía ESPGHAN¹.

Consenso de OSLO	Guía ESPGHAN
<p>EC Asintomática Ausencia de síntomas en respuesta a preguntas directas durante el diagnóstico inicial. Estos pacientes son a menudo diagnosticados mediante análisis de poblaciones inscritas en programas de cribado.</p>	<p>EC Silente Presencia positiva de anticuerpos específicos para EC, HLA y hallazgos en biopsias de intestino delgado compatibles con EC sin suficientes síntomas ni signos que justifiquen sospecha clínica de EC.</p>
<p>EC Clásica Presencia de signos y síntomas de malabsorción con diarrea, esteatorrea, pérdida de peso o retraso en el crecimiento.</p>	<p>Síntomas y signos gastrointestinales Debido a que los síntomas atípicos pueden ser considerablemente más frecuentes que los síntomas clásicos, el grupo de trabajo de la ESPGHAN decidió usar la siguiente nomenclatura: síntomas y signos gastrointestinales (por ejemplo, diarrea crónica)</p>
<p>EC no clásica No presenta signos o síntomas de malabsorción. Los pacientes con enfermedad monosintomática (aparte de la diarrea o la esteatorrea) suelen tener EC no clásica</p>	<p>Síntomas y signos extraintestinales Anemia, neuropatía, osteoporosis, incremento en el riesgo de fracturas</p>
<p>EC subclínica Enfermedad bajo el umbral de la detección clínica, sin signos ni síntomas suficientes para activar las pruebas de EC en la práctica rutinaria.</p>	<p>No utilizada. Ver “Silente”</p>
<p>EC sintomática Caracterizada por la presencia de síntomas gastrointestinales y/o extraintestinales clínicamente evidentes, atribuibles a la ingesta de gluten</p>	<p>Ver síntomas gastrointestinales y extraintestinales (arriba)</p>
<p>EC potencial Se relaciona con personas que presentan una mucosa intestinal normal, que tienen un mayor riesgo de desarrollar EC como lo indica una serología positiva</p>	<p>Presencia de anticuerpos específicos para EC y HLA compatible sin alteraciones histológicas en biopsias duodenales. El paciente puede presentar o carecer de síntomas o signos y posteriormente, puede desarrollar o carecer de enteropatía dependiente del gluten</p>
<p>No utilizada</p>	<p>EC latente Presencia de HLA compatible, sin enteropatía, en un paciente que ha presentado enteropatía dependiente del gluten en algún momento de su vida. El paciente podría presentar síntomas y podría presentar anticuerpos específicos para EC.</p>
<p>EC Refractaria Síntomas y signos de malabsorción persistentes o recurrentes con atrofia vellositaria, a pesar de seguir una DSG estricta, durante más de 12 meses.</p>	

Autoinmunidad de EC Relativo a incremento en anti-TG2 o EMA en, por lo menos, dos ocasiones cuando el estado de la biopsia es desconocido. Si la biopsia es positiva se trata de EC; si la biopsia es negativa se trata de EC potencial	
Riesgo genético de EC Familiares de pacientes con EC con resultados positivos para HLA-DQ2/DQ8	
Sensibilidad al gluten no celiaca Relativo a una o más de una variedad de manifestaciones inmunológicas, morfológicas o sintomáticas que son precipitados mediante la ingesta de gluten en personas en quienes se haya excluido EC.	
Ataxia por gluten Ataxia esporádica idiopática y anticuerpos antigliadina séricos positivos, aun en ausencia de enteropatía duodenal	
Dermatitis herpetiforme (DH) Manifestación cutánea de enteropatía de mediación inmune del intestino delgado, precipitada por exposición al gluten de la dieta. Se caracteriza por la presencia de pápulas pruriginosas y vesículas en la piel, especialmente en los codos, glúteos y rodillas, así como depósitos de IgA en las pápulas dérmicas. La DH responde a la DSG	
Términos a ser evitados EC típica, EC atípica, EC silente, EC manifiesta, EC latente	EC típica, EC atípica, EC clásica, EC no clásica

2. Manifestaciones Clínicas

Originalmente la EC fue considerada como un trastorno exclusivamente pediátrico, caracterizado por la presencia de diarrea crónica junto con malabsorción y esteatorrea. Posteriormente se reconoció que la EC puede afectar también a los adultos de cualquier edad. Actualmente, en algunos centros, el mayor número de diagnósticos de EC se lleva a cabo en adultos de 30 a 50 años de edad¹⁸. La mayoría de los niños y adultos diagnosticados con EC antes de 1980 presentaban diarrea. Con la introducción de las pruebas diagnósticas serológicas en la década de 1980, se pudo confirmar el amplio espectro de manifestaciones clínicas de la EC. En las últimas dos décadas, se ha descrito, tanto en niños como adultos, un descenso global en las formas de presentación como diarrea, junto con un aumento en las formas de presentación “no clásicas” de la enfermedad^{7,19,20}. La Tabla 2 resume los signos y síntomas clínicos, así como los tipos de presentación y enfermedades asociadas con la EC, tanto en niños como en adultos.

Tabla 2. Signos, síntomas y trastornos asociados que deberían, de acuerdo con las guías NICE, ayudar a considerar enfermedad celíaca en niños y adultos¹³.

Signos y Síntomas
· Diarrea crónica o intermitente
· Síntomas gastrointestinales persistentes o sin explicación, incluyendo náuseas y vómitos
· Dolor o distensión abdominal recurrente
· Retraso en el crecimiento o estatura baja
· Cansancio prolongado (cansancio constante)
· Pérdida de peso rápida o inesperada
· Anemia por deficiencia de hierro sin explicación, otras anemias no específicas
· Densidad mineral ósea reducida precoz
· Niveles de aminotransferasas elevados cuando no se detecta otra etiología
· Ulceras aftosas orales o defectos del esmalte dental
Trastornos
· Dermatitis herpetiforme
· Síndrome del intestino irritable
· Enfermedad tiroidea autoinmune
· Diabetes mellitus tipo 1
· Procesos hepáticos autoinmunes
· Ataxia cerebelosa
· Neuropatía periférica
· Síndromes de Down, Williams y Turner
· Familiares de primer grado (padres, hermanos o hijos) diagnosticados de EC
Otros signos, síntomas y trastornos que deberían sugerir la realización pruebas serológicas
· Otros trastornos gastrointestinales:
• Estreñimiento persistente o sin causa aparente
• Colitis microscópica
• Gastritis linfocítica
· Manifestaciones neuropsiquiátricas:
• Depresión o trastorno bipolar, irritabilidad, distimia
• Dolor de cabeza, Migrañas
• Epilepsia
· Ginecológicas:
• Amenorrea
• Abortos recurrentes
• Infertilidad sin causa aparente

· Enfermedad inmunológica/autoinmune:
• Deficiencia de IgA
• Nefropatía tipo IgA
• Enfermedad de Addison
• Trombocitopenia, Púrpura crónica
• Miocarditis autoinmune
• Sarcoidosis
• Síndrome de Sjögren
• Artritis reumatoide
• Lupus eritematoso sistémico
· Malignidad:
• Linfoma
• Adenocarcinoma del intestino delgado

2.1. Niños

En los niños la EC muestra una presentación clínica variada y está fundamentalmente relacionada con la edad de la presentación. En niños menores de 3 años es frecuente la presentación “clásica” caracterizada por diarrea, distensión abdominal y retraso en el crecimiento, mientras que niños mayores y adolescentes tienen mayor probabilidad de presentar otros síntomas gastrointestinales como dolor abdominal recurrente, vómitos o estreñimiento. No son infrecuentes los síntomas extraintestinales como artritis, síntomas neurológicos y anemia, así como tampoco lo son los casos asintomáticos²¹. Un estudio canadiense²⁰ evaluó la incidencia y presentación clínica de la EC en pacientes menores de 18 años y contrastó los resultados de acuerdo con el momento del diagnóstico, antes (grupo previo) o después (grupo posterior) de la introducción de las pruebas serológicas. La frecuencia de presentación como EC clásica disminuyó del 67% (grupo previo) a 19% (grupo posterior). La frecuencia de lesiones Marsh 3c disminuyó desde un 64% (grupo previo) hasta un 44% (grupo posterior). En el grupo previo predominó la EC clásica (67%) en niños jóvenes (<3 años), mientras que las presentaciones gastrointestinales atípicas y silentes predominaron en niños mayores. Los síntomas, signos y enfermedades asociadas que condujeron a la realización de la biopsia intestinal se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Edad y síntomas, signos o indicaciones que condujeron a la biopsia intestinal para el diagnóstico de la EC en niños, de acuerdo con el momento del diagnóstico antes (grupo previo) o después (grupo posterior) de la introducción de las pruebas serológicas²⁰.

	Grupo previo (n=36) (%)	Grupo posterior (n=199)(%)	P
Edad al momento del diagnóstico, mediana (95% IC)	2 (2-4)	9 (8-10)	<0.01
Presentación clásica	24 (67)	39 (19)	<0.01
Síntomas gastrointestinales	7 (19)	76 (38)	0.048
Dolor abdominal, otros síntomas	5 (14)	34 (17)	
Solo dolor abdominal	0	18 (9)	
Endoscopia por otros motivos	0	8 (4)	
Diarrea crónica	1 (2.7)	7 (3.5)	
Estreñimiento	0	5 (2.5)	
Vómitos	1 (2.7)	2 (1)	
Alergia alimenticia	0	1 (0.5)	
Distensión abdominal	0	1 (0.5)	
Síntomas extraintestinales	5 (14)	29 (15)	0.9
Retraso del crecimiento	2 (5.5)	13 (6.5)	
Deficiencia de hierro, con o sin anemia	2 (5.5)	6 (3)	
Baja estatura	0	6 (3)	
Dermatitis herpetiforme	0	2 (1)	
Niveles elevados de transaminasas	0	1 (0.5)	
Defectos del esmalte dentario	0	1 (0.5)	
Hipoalbuminemia	1 (2.7)	0	
Silente		55 (28)	<0.01
Historial familiar	0	35 (17.6)	
Diabetes mellitus Tipo 1	0	14 (7)	
Trisomía 21	0	5 (2.5)	
Hipotiroidismo	0	1 (0.5)	

Un estudio reciente realizado en los Países Bajos reveló que la EC estaba más frecuentemente representada en una cohorte de niños con estreñimiento crónico que cumplían los criterios de Roma III para el diagnóstico del síndrome de intestino irritable (SII)²². Actualmente, se identifican con una mayor frecuencia a niños y adolescentes con sobrepeso y obesos con EC. Un estudio

norteamericano sobre niños que presentaban EC, concluyó que cerca del 19% de los pacientes presentaban un índice de masa corporal elevado (12.6% con sobrepeso, 6% obesidad), 74.5% presentaron un índice de masa corporal normal²³. Los trastornos asociados con la EC, dejando a un lado la diabetes mellitus tipo 1, son la enfermedad hepática autoinmune (13.5%), el síndrome de Williams (9.5%), el síndrome de Turner (6.5%), el síndrome de Down (5.5%), la nefropatía de la inmunoglobulina A (IgA) (4%), la deficiencia de IgA (3%), la enfermedad tiroidea autoinmune (3%) y la artritis crónica juvenil (2.5%) (Tabla 2)¹.

En los últimos años varios estudios han sugerido un papel protector para la lactancia materna y/o el momento de la introducción del gluten y la cantidad del mismo en el desarrollo posterior de EC en niños²⁴. Particularmente, datos de la epidemia sueca de EC sintomática de mediados de la década de los 80 sugieren que la lactancia prolongada durante la introducción de alimentos con gluten se asocia con un riesgo menor de desarrollar EC durante la infancia²⁵. No obstante, dos estudios recientes sobre intervención dietética multicéntricos, aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo, han concluido que tanto la introducción retrasada del gluten como la lactancia materna no modificaron el riesgo de desarrollo de EC en niños en riesgo de padecerla^{26,27}.

2.2. Adultos

En los adultos la edad media de presentación es de 44 años (rango 1-81 años), con un claro predominio femenino (3:1), lo que también ha sido confirmado en niños de corta edad. Aproximadamente un 15-25% de los casos se diagnostican en personas mayores de 60 años¹⁸. En algunos casos, se descubre un historial de retraso en el crecimiento u otros síntomas que sugieren que la EC estaba presente en la infancia. La presentación clásica de la enfermedad con malabsorción, diarrea, pérdida de peso y distensión abdominal es menos habitual que en los niños¹⁹. La principal forma de presentación es la diarrea, a pesar de que está presente en menos de 50% de los pacientes, y síntomas gastrointestinales no específicos, que presentan un alto grado de superposición con la dispepsia funcional (DF), el síndrome del intestino irritable (SII) o la diarrea funcional^{28,29}.

La dispepsia es un síntoma común en pacientes con EC, que puede estar presente en un 40-60% de los casos, al momento del diagnóstico^{30,31}. La prevalencia de EC entre pacientes con dispepsia funcional también se halla aumentada. Un meta-análisis y revisión sistemática de la literatura, revela una mayor frecuencia de serología celíaca positiva (7.9% frente a un 3.9%) así como de EC diagnosticada mediante biopsia duodenal (3.2% frente a 1.3%) en pacientes con dispepsia contrastados con la población de control, aunque dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas³². Si se considera todo el espectro de lesiones histológicas provocadas por la EC, incluyendo formas leves de enteropatía, esta prevalencia podría ser mayor. En un estudio retrospectivo realizado en España, en pacientes con dispepsia tipo dismotilidad (estrés postprandial) y ausencia de lesiones estructurales en la gastroscopia, hasta un 19.7% de los pacientes presentaron algún grado de enteropatía en las biopsias duodenales y síntomas dependientes del gluten³³.

La EC puede presentar frecuentemente síntomas que también son característicos del SII, inclu-

yendo dolor abdominal (77%), distensión (73%), diarrea (52%), estreñimiento (7%) y/o patrón de evacuación intestinal alternante (24%)^{31,34}. Ello significa que el SII a menudo constituye el diagnóstico inicial en muchos pacientes antes del descubrimiento de la EC, varios años más tarde. Un análisis sistemático y meta-análisis de 2.278 pacientes con criterios diagnósticos para SII demostró, en dichos pacientes, una mayor prevalencia de anticuerpos anti-gliadina tipo IgA (AGA) (4%; IC 95% : 1.7-7.2), anticuerpos antiendomiso (EMA) o anticuerpos anti-TG2 (1.6%; IC 95% : 0.7-3) así como una EC demostrada mediante biopsia duodenal (4.1%; IC 95%: 1.9-7)³⁵. Un estudio prospectivo realizado en España en pacientes con diarrea crónica acuosa y criterios de Roma II para diarrea funcional, o diagnóstico de diarrea-SII, confirmó que un 16.1% de dichos pacientes presentaba enteropatía y diarrea sensible al gluten³⁶.

La presencia de síntomas relacionados con una enfermedad por reflujo gastroesofágico (sr-ERGE) refractarios al tratamiento con fármacos antisecretores debería instar a considerar la EC en el diagnóstico diferencial. Un estudio argentino que evaluó sr-ERGE al diagnosticar la EC en pacientes adultos, observó una puntuación media de síntomas de reflujo significativamente más elevada, que en controles sanos. En términos basales un 30.1% de los pacientes con EC presentaron síntomas moderados o severos de ERGE, en comparación con el 5.7% de los controles³⁷. Un estudio sobre casos y controles en pacientes con EC y ERGE asociado confirmó que la dieta sin gluten mejoró los síntomas y fue una estrategia útil en la prevención de las recidivas³⁸.

La prevalencia de manifestaciones extraintestinales es muy elevada entre pacientes adultos, especialmente si se efectúa una búsqueda específica. La anemia, causada principalmente por deficiencia de hierro, osteoporosis, dermatitis herpetiforme, estomatitis aftosa recurrente, hipertransaminasemia, así como una serie de trastornos neuropsiquiátricos, pueden ser una forma de presentación común de EC en adultos (tabla 2)^{13,39}.

Finalmente, el cribado serológico en grupos de alto riesgo, especialmente en familiares de pacientes con EC, ha incrementado la detección de la enfermedad, tanto en niños como en adultos, algunos de los cuales son asintomáticos o presentan síntomas leves e inespecíficos²¹.

3. Criterios Diagnósticos

3.1. Niños

Los criterios para el diagnóstico de la EC en niños, fueron establecidos en primer lugar, por la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en el año 1969⁴⁰. La así denominada “regla de las 3 biopsias” recomendaba efectuar al menos tres biopsias del intestino delgado. La primera, al haber una sospecha clínica y mientras el niño consumía una dieta con gluten, la segunda después de un período de adherencia a la dieta sin gluten, y la tercera tras la reintroducción del gluten, después de efectuar una provocación con gluten. La presencia de lesiones histológicas características en la primera biopsia conducía a una sospecha de EC, pero el diag-

nóstico se confirmaba después de verificar una recuperación histológica en la segunda biopsia y una recaída tras la provocación con gluten en la tercera biopsia. Este protocolo diagnóstico tan estricto tenía el objetivo de demostrar que la intolerancia al gluten era una situación permanente y para descartar, especialmente en niños, la existencia de una intolerancia transitoria al gluten asociada con otros trastornos⁴⁰.

Después de 20 años de experiencia con una amplia experiencia en niños, se demostró que en el 95% de los casos, probablemente podía evitarse la tercera biopsia después de la provocación con gluten⁴¹. En consecuencia los criterios diagnósticos fueron modificados en 1990 y la prueba de provocación fue restringido a niños que en el momento de la biopsia eran menores de 2 años, para excluir otras causas de enteropatía, o cuando el diagnóstico inicial fuese incierto. Este último criterio incluye diversas circunstancias especiales, tales como exclusión de gluten previo a una biopsia, carencia de biopsia, o la existencia de lesiones no características para EC en el momento del diagnóstico⁴². Además, estos nuevos criterios podían depender por vez primera, de un marcador de la enfermedad, como la determinación de anticuerpos antigliadina (AGA), que recientemente, se había comprobado estaban asociados con EC activa⁴³⁻⁴⁵. Debido a ello se consideró que la presencia sérica de los AGA al inicio de la enfermedad, seguida por la desaparición del anticuerpo al retirar el gluten, proporcionaba un soporte adicional para el diagnóstico⁴². No obstante, el posterior desarrollo de los anticuerpos antiendomiso (EMA) a finales de la década de 1980⁴⁵⁻⁴⁸ seguida, en la década de 1990, por el reconocimiento de la TG2 como el autoantígeno de la EC, representaron una verdadera revolución en el campo del diagnóstico de EC⁴⁹. Se confirmó que tanto los EMA, como la anti-TG2, reconocen el mismo autoantígeno y que en términos generales, presentan una sensibilidad y especificidad en torno al 95%, para el diagnóstico de EC. Más recientemente, una nueva prueba serológica para anticuerpos contra péptidos de gliadina deamidados (DGP)⁵² ha demostrado mayor sensibilidad y especificidad que los AGA convencionales, reemplazando así a estos últimos, con fines diagnósticos.

Aunque las series pediátricas son más cortas en contraste con las de adultos, se ha comunicado la existencia de una correlación entre los hallazgos en las biopsias duodenales y los niveles de anti-TG2 en pacientes pediátricos con EC, cuyos niveles más elevados están asociados con atrofia vellositaria⁵³⁻⁵⁵. Por lo tanto, recientemente se ha sugerido que niveles muy elevados de anticuerpos anti-TG2 podrían ser considerados suficientes para diagnosticar una EC en niños, evitando así la necesidad de realizar biopsias duodenales para el diagnóstico⁵³.

Además, la fuerte asociación de la EC con los marcadores genéticos HLA-DQ2 y -DQ8 que solos, o en combinación, llegan a alcanzar una sensibilidad del 96%, implica que un resultado negativo para HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8, hace poco probable el diagnóstico de EC⁵⁶⁻⁵⁸.

Se ha demostrado también una elevada tasa de recaída en niños menores de dos años con EMA positivos y atrofia vellositaria en el momento del diagnóstico, lo que sustenta la idea de que las biopsias de rutina podrían no ser necesarias en estos casos⁵⁹.

No es sorprendente, por tanto, que una encuesta reciente realizada entre miembros de la ESPGHAN revelara que alrededor del 90% de los participantes solicitaran una revisión y modificación de los criterios diagnósticos de 1990; 44% deseaban omitir la primera biopsia bajo circunstancias específicas. La mayoría declaró que no debería requerirse una primera biopsia para casos sintomáticos con anti-TG2 o EMA IgA elevada y genotipo HLA-DQ2/DQ8 positivo. Adicionalmente, alrededor de la mitad de los participantes consideraron que no debería ser mandatorio para todos los niños diagnosticados la primera biopsia antes de los 2 años de edad⁶⁰.

De ese modo, un grupo dentro de ESPGHAN, usando una estrategia basada en la evidencia, llevó a cabo una revisión de los avances científicos y técnicos que resultó en un informe detallado sobre la evidencia de los resultados de las pruebas de anticuerpos en la EC. Ello sirvió como base para las nuevas recomendaciones recién publicadas sobre el diagnóstico de la EC¹. Dicho grupo de trabajo desarrolló una nueva y más amplia definición de la EC como un trastorno sistémico con diferentes grados de lesiones en la mucosa duodenal no restringido a la presencia de atrofia vellositaria. Por lo tanto, el diagnóstico de la EC no puede depender de un solo parámetro, sino de una combinación de síntomas clínicos, anticuerpos específicos para la EC, histología y genética¹. En resumen las nuevas guías especifican que la biopsia duodenal puede no ser obligatoria para poder realizar el diagnóstico de EC en pacientes HLA-DQ2 y/o -DQ8 (+) sintomáticos, con anti-TG2 muy elevada, que supera en más de 10 veces el límite superior de la normalidad y EMAs positivos. En lo referente a la biopsia tras provocación con gluten, establecen que ya no es necesaria en todos los niños diagnosticados antes de los 2 años de edad, pero sí en los casos dudosos. Estas guías han sido validadas por un estudio retrospectivo publicado recientemente⁶² y por otro estudio multicéntrico internacional prospectivo actualmente en progreso (PROCEDE, www.procede2011.jimdo.com).

3.1.1. ¿En quiénes debe descartarse una EC?

De acuerdo con las nuevas directrices de la ESPGHAN de 2012 para el diagnóstico de la EC en niños y adolescentes, se debería descartar la enfermedad a todos los niños que presentan el cuadro clínico clásico; es decir, síndrome de malabsorción con diarrea crónica, pérdida de peso, distensión abdominal y anorexia, así como a todos aquellos niños con síntomas gastrointestinales y extraintestinales del espectro de la EC (la mayoría de los que también se describen en adultos) (Tabla 4). El retraso en el desarrollo, baja estatura y retraso puberal son características específicas de la EC para en la edad pediátrica y, por lo tanto, también debería descartarse la enfermedad. Los individuos asintomáticos pertenecientes a los grupos de alto riesgo, en especial aquellos con un familiar de primer grado con EC confirmada, también deberían ser analizados en busca de EC (Tabla 4)¹.

Tabla 4. Personas que deberían ser analizadas en busca de EC de acuerdo con las nuevas guías de ESPGHAN para el diagnóstico de EC en niños y adolescentes¹

Niños y adolescentes con síntomas y signos no explicados de:
· Diarrea crónica o intermitente
· Retraso en el desarrollo, pérdida de peso, crecimiento retrasado
· Pubertad retrasada, amenorrea
· Anemia por deficiencia de hierro
· Náuseas o vómitos
· Dolor abdominal crónico, o distensión
· Estreñimiento crónico
· Fatiga crónica, estomatitis aftosa recurrente (úlceras bucales)
· Erupciones cutáneas similares a la Dermatitis herpetiforme
· Fracturas con trauma/osteopenia/osteoporosis
· Pruebas hepáticas alteradas
Niños y adolescentes asintomáticos con riesgo de EC incrementado
· Diabetes mellitus tipo 1 (T1DM)
· Síndrome de Down
· Enfermedad tiroidea autoinmune
· Síndrome de Turner
· Síndrome de Williams
· Deficiencia selectiva de inmunoglobulina A (IgA)
· Enfermedad hepática autoinmune
· Familiares de primer grado con EC

3.1.2. ¿Qué pruebas diagnosticas realizar para descartar una EC?

La estrategia inicial preferente para poder realizar un diagnóstico de EC, es mediante la detección sérica de los anticuerpos específicos para la EC, los EMA mediante inmunofluorescencia o los anti-TG2 mediante técnicas de enzimoimmunoensayo (ELISA) o radioimmunoensayo¹. Las técnicas de inmunofluorescencia para la detección de EMA están sujetas a variabilidad interobservador. A pesar de estas limitaciones, la especificidad de los EMA es del 98% a 100% en laboratorios expertos^{51,63}.

La eficiencia de una prueba de anticuerpos particular depende de las características de los pacientes (edad, predisposición genética, deficiencia de IgA) de la probabilidad previa a las pruebas, la prueba comercial utilizada y, finalmente, también es relevante la experiencia del laboratorio⁵¹.

En niños, no obstante, las pruebas serológicas presentan una eficiencia mucho mayor que en los adultos, debido en parte a que las lesiones histológicas más importantes son más frecuentes en los niños. En 2012 las recomendaciones de la ESPGHAN indican que, en ausencia de anticuerpos específicos para la EC (anti-TG2 y EMA), el diagnóstico de EC resulta improbable¹.

De acuerdo con el informe de la ESPGHAN sobre la evidencia serológica⁶¹, los EMA presentan los mejores índices de probabilidad positivos y negativos, seguidos por los anti-TG2. Además, los resultados de los EMA fueron más homogéneos que los obtenidos mediante otras pruebas para anticuerpos de la EC y presentaron un elevado odds ratio de diagnóstico (OR = 553.6). Por lo tanto, la presencia de una EC es más probable si la prueba de los EMA es positiva. La positividad de los EMA también se relaciona con el posterior desarrollo de atrofia vellositaria en los pocos casos descritos que inicialmente presentaron una arquitectura normal del intestino delgado^{64,65}.

Las elevadas concentraciones séricas de los anti-TG2 predicen más eficientemente la presencia de atrofia vellositaria que los valores bajos o limítrofes^{54,55,66}. Estos estudios sugieren que los niveles de los anticuerpos anti-TG2 pueden ser definidos como aquellos que superan 10 veces el límite superior de la normalidad, dependiendo del punto de corte de cada prueba (pruebas de anticuerpos dependientes de la concentración, basadas en curvas de calibración)^{55,66,67}.

Los anticuerpos anti-péptidos deamidados de la gliadina (anti-DGP) fueron muy eficientes y mucho mejores que los anticuerpos frente a la gliadina nativa; no obstante, su eficiencia es inferior al compararlos con los anti-TG2 o EMA^{55,61}. Su papel en el diagnóstico de niños menores de 2 a 3 años necesita de más evaluaciones.

La detección de los anticuerpos anti-TG2, también puede realizarse mediante punción cutánea en el dedo, utilizando kits de prueba rápida (prueba POC)^{68,69}. Aunque esta técnica puede alcanzar un elevado nivel de precisión para el diagnóstico de la EC (sensibilidad conjunta de 96.4%, especificidad conjunta de 97.7%)⁶¹, su eficiencia necesita ser confirmada no solo en poblaciones de alta prevalencia como sugieren estudios publicados actualmente, sino también en poblaciones menos seleccionadas y/o cuando sean efectuados por personal médico sin entrenamiento. Recientemente, ha surgido la disponibilidad de POC basados en anti-DGP y aunque solo se dispone de unos pocos estudios, su eficacia diagnóstica parece ser similar a los anteriores (observación personal).

3.1.3. Confirmación Diagnóstica

En los últimos años se ha cuestionado el papel clave de la histología en el diagnóstico de la EC^{53,55,63,65}. Una de las razones más importantes es que los hallazgos histológicos no son específicos para la EC, especialmente en el caso de lesiones de bajo grado; estas pueden hallarse en otras entidades tales como en la hipersensibilidad a la leche de vaca, a la proteína de soja, diarrea intratable, infestación con *Giardia lamblia*, inmunodeficiencias, esprue tropical y sobrecrecimiento bacteriano (Tabla 5). Otro problema frecuente es que las lesiones pueden estar irregularmente distribuidas⁷⁰, pueden aparecer solamente en el bulbo duodenal⁷¹, pero la más importante preocu-

pación es que la interpretación depende de la preparación de las muestras de la mucosa y en que puede existir una elevada variabilidad inter-observador⁷².

No obstante, la evidencia actual conduce a la recomendación de que se puede evitar la evaluación histológica en situaciones especiales como en pacientes sintomáticos que presentan niveles de anti-TG2 IgA elevados 10 veces sobre su valor normal, verificados mediante positividad de los EMA con positividad para el heterodímero HLA-DQ2 y/o -DQ8. En todas las demás circunstancias, la evaluación histológica es obligatoria un diagnóstico definitivo¹. Esto se debe principalmente a que los niveles elevados de anti-TG2 tienen una mejor correlación con la severidad de la lesión que los valores bajos; niveles limítrofes o bajos pueden ser encontrados en las enfermedades autoinmunes y no se correlacionan con la lesión histológica^{55,67,73}.

Tabla 5. Otras causas de Enteropatía

Atrofia vellositaria	Enteropatía linfocítica
· Esprue tropical	· Infección por <i>H. pylori</i>
· Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado	· Sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado
· Enteropatía autoinmune	· Fármacos (AINEs)
· Esprue hipogammaglobulinémico	· Intolerancia a proteínas no-glutémicas (e.g., leche de vaca, huevos)
· Enteropatía asociada con fármacos (Olmersartan)	· Enteritis infecciosa (Giardasis)
· Enfermedad de Whipple	· Inmunodeficiencia comun variable
· Esprue colágeno	· Enteritis eosinofílica
· Enfermedad de Crohn	· Enfermedad de Crohn
· Enteritis eosinofílica	
· Linfoma intestinal	
· Tuberculosis intestinal	
· Enteritis infecciosa (Giardasis)	
· Enfermedad injerto frente a huésped	
· Malnutrición	
· Enteropatía por el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	

Las características de la enteropatía del intestino delgado en la EC tienen una intensidad variable. El espectro de hallazgos histológicos oscila entre la infiltración linfocítica del epitelio (Marsh 1) hasta la atrofia vellositaria (Marsh 3)⁷⁴. La descripción de las lesiones de acuerdo con la clasificación de Marsh-Oberhuber se presenta en la Tabla 6^{75,76}. Las lesiones Marsh 2-3 se consideran compatibles con la EC¹. No puede establecerse de forma concluyente el diagnóstico de EC si la

histología es normal (Marsh 0) o si solamente se observa un aumento del recuento de linfocitos intra-epiteliales, (LIEs) (Marsh 1). Se deben realizar más análisis de la mucosa duodenal, especialmente análisis inmunohistoquímicos para identificar la presencia de linfocitos $\gamma\delta$, una proporción $\gamma\delta/CD3$ elevadas⁷⁷ o la presencia de depósitos subepiteliales de anti-TG2 IgA^{78,79}. Estos depósitos parecen ser específicos de la EC y son útiles para predecir la evolución hacia patrones histológicos más graves⁸⁰. El recuento de LIEs en la punta de las vellosidades también aumenta la especificidad para el diagnóstico de la EC⁸¹.

Tabla 6. Clasificaciones Histológicas utilizadas para la EC⁸⁸

Marsh modificado (Oberhuber)		Criterio histológico		Corazza
	LIEs incrementados*	Hiperplasia de criptas	Atrofia vellositaria	
Tipo 0	No	No	No	Ninguna
Tipo 1	Si	No	No	Grado A
Tipo 2	Si	Si	No	
Tipo 3a	Si	Si	Si (parcial)	Grado B1
Tipo 3b	Si	Si	Si (subtotal)	
Tipo 3c	Si	Si	Si (total)	Grado B2

*LIEs: Linfocitos intraepiteliales por 100 enterocitos; >40 para Marsh modificado; >25 para Corazza.

3.1.4. Eficacia del genotipado HLA-DQ2/DQ8 en la EC

Las pruebas para el genotipado HLA-DQ2 y -DQ8 son muy útiles, ya que la presencia de EC es improbable si ambos haplotipos son negativos^{1,57,58}. Su principal utilidad es descartar los pacientes con bajo riesgo de EC, por lo que tienen especial interés para seleccionar personas asintomáticas con trastornos asociados con EC, o pertenecientes a grupos de alto riesgo para el seguimiento posterior con pruebas para anticuerpos específicos de la EC¹. En la práctica clínica debe recordarse la importancia del tipado HLA en hermanos o hijos de pacientes con EC, ya que establece mejor los grupos de riesgo y en quienes podrían recomendarse la realización de pruebas periódicas, en busca de marcadores de EC, especialmente en el rango de edades pediátricas.

Adicionalmente, las pruebas HLA deberían efectuarse cuando el diagnóstico de la EC sea dudoso; por ejemplo, en pacientes con anticuerpos específicos para la EC negativos y lesión histológica leve. En niños con fuerte sospecha clínica de EC y anticuerpos específicos elevados, se recomienda el genotipado HLA-DQ2/DQ8 para reforzar el diagnóstico si no se va a efectuar biopsia duodenal¹.

3.1.5. Situaciones Especiales.

En sujetos con deficiencia selectiva de IgA humoral, deberían medirse los anticuerpos correspondientes de la clase IgG específicos para EC, preferentemente anti-TG2 IgG, pero alternativamente, EMA IgG, anti-DGP IgG o kits mezclados para anticuerpos IgA e IgG1⁴⁸. Es, por lo tanto, importante excluir la deficiencia IgA midiendo los niveles séricos totales de IgA al mismo tiempo, considerando que la deficiencia de IgA es más predominante en la EC, que en población general.

En niños, especialmente pequeños, que presentan un síndrome de malabsorción importante y malnutrición, se podría haber iniciado excepcionalmente una DSG mientras se espera los resultados de las pruebas HLA y EMA¹. Si estos resultados no permiten un diagnóstico definitivo, la realización de pruebas adicionales como la búsqueda de depósitos anti-TG2 IgA en la mucosa podrían ser de utilidad. Debido a la persistencia de los depósitos anti-TG2 durante los meses posteriores al inicio de una DSG, es una prueba de alta especificidad en cualquier momento en el que el paciente se someta a restricciones dietéticas antes de que se haya alcanzado un diagnóstico definitivo^{79,80}. Los pacientes con procesos autoinmunes asociados pueden presentar un resultado falso positivo para los anti-TG2 o resultados fluctuantes, por lo general en niveles bajos^{65,73}; no obstante, en la diabetes tipo 1, especialmente en las etapas iniciales de la enfermedad, es posible detectar niveles más elevados de EMA y anti-TG2, que disminuyen a niveles normales durante el seguimiento.

3.1.6. La Estrategia Diagnóstica de la Enfermedad Celíaca en la Práctica Clínica

Las nuevas guías de ESPGHAN para el 2012, incluyen 2 algoritmos prácticos para el diagnóstico de la EC, uno para aplicación en casos sintomáticos (Figura 1) y otro para individuos asintomáticos, pertenecientes a grupos de alto riesgo (Figura 2). Ninguno de ellos fue diseñado para cribado masivo, o para positividad de anticuerpos para la EC detectados casualmente¹. Debe recordarse que la evaluación inicial debe efectuarse mientras el niño está siguiendo una dieta que contiene gluten, previamente a la recomendación de restricciones dietéticas.

Se recomienda, en niños y adolescentes con signos y síntomas no explicados que sugieren EC, iniciar la estrategia diagnóstica mediante la determinación de los anti-TG2 IgA, junto con la IgA sérica total, con el fin de descartar deficiencia de IgA (Figura 1).

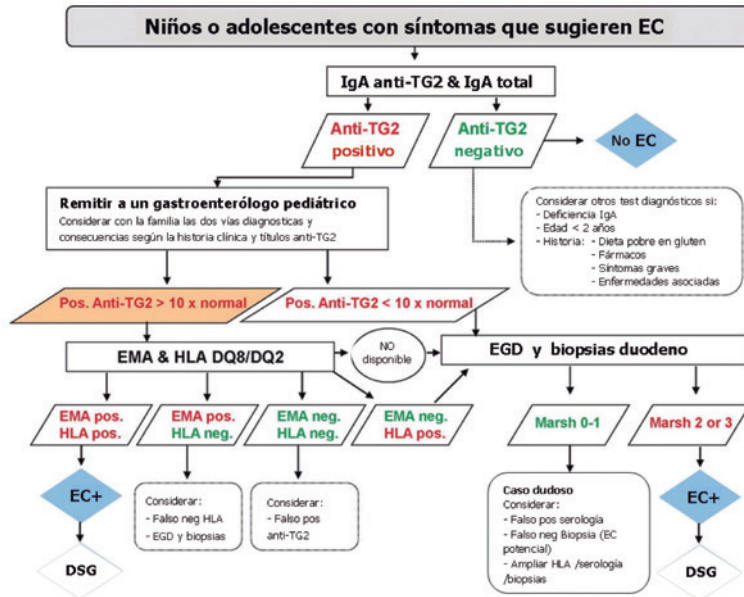


Figura 1. Algoritmo diagnóstico para niños o adolescentes con síntomas que sugieren EC. EC: enfermedad celíaca; EMA: anticuerpos de endomysio; SG: seguimiento; DSG: dieta sin gluten; GE: gastroenterólogo; HLA: antígeno leucocitario humano; IgA: inmunoglobulina A; IgG: inmunoglobulina G; EGD: esofagogastroduodenoscopia; TG2: transglutaminasa tipo 2. Adaptado con permiso de Lipincott Williams y Wilkins/Wolters Kluwer Health: *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, Husby S et al, *Guías de ESPGHAN para el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca*¹, 2012.

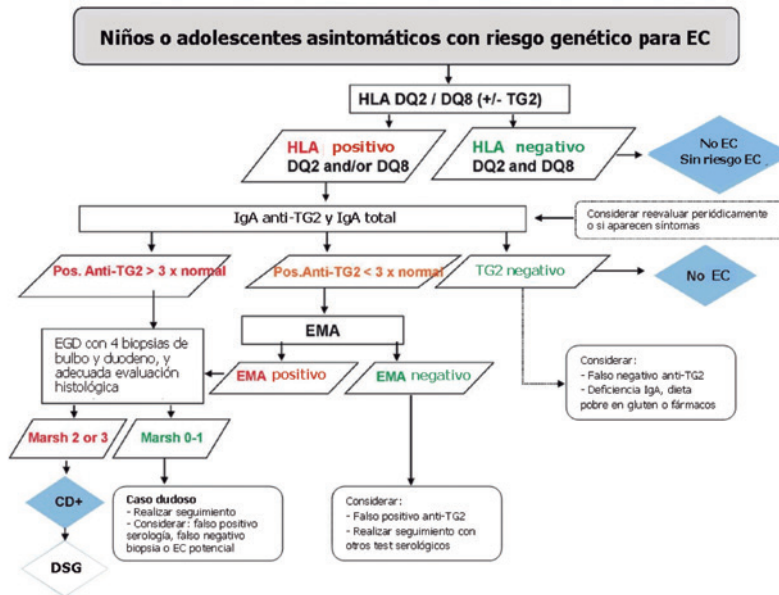


Figura 2. Algoritmo diagnóstico para niños y adolescentes asintomáticos con riesgo genético para EC (familiares en 1er grado u otros grupos de alto riesgo). Ver Fig. 1 para definiciones. Adaptado con permiso de Lippincott Williams y Wilkins/Wolters Kluwer Health: *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, Husby S et al, *Guías de ESPGHAN para el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca*¹, 2012.

En pacientes con niveles normales de IgA, si los anti-TG2 IgA son negativos, la EC es improbable. Varias situaciones tales como una baja ingesta de gluten, ciertos fármacos (inmunosupresores), edad (niños menores de 2 años) pueden producir un impacto sobre los resultados de los anticuerpos y deberían ser considerados. Si los síntomas y la sospecha persisten, una endoscopia con biopsias duodenales puede ser necesaria, independientemente de los resultados de los anticuerpos. Por tanto, parece razonable que en esta etapa, un gastroenterólogo pediátrico debería participar en la toma de decisiones.

En el caso de niveles anti-TG2 IgA mayores de 10 veces sus valores normales el gastroenterólogo pediátrico debería considerar y discutir con los padres la opción de omitir las biopsias y llevar a cabo investigaciones adicionales; ello significa que debería realizarse un genotipado HLA y determinación de EMA en una segunda muestra de sangre (diferente). Si se detectan anticuerpos EMA y un genotipado HLA-DQ2 o -DQ8 entonces se confirma el diagnóstico de EC y debería recomendarse DSG. El seguimiento es obligado para evaluar la mejoría sintomática y la disminución de los niveles de anticuerpos; pero no se requiere una posterior toma de biopsias. Si cualquiera, o ambos son negativos, debe considerarse un falso positivo de los anti-TG2 o bien un falso negativo del genotipado HLA o los EMA. En esta situación, para establecer un diagnóstico definitivo, es necesario realizar un seguimiento clínico, incluyendo la repetición de pruebas y biopsias duode-

nales (Figura 1).

Omitir la biopsia es una opción, pero no es obligatorio, por lo que puede preferirse su realización para confirmar el diagnóstico, a pesar de presentar unos anti-TG2 muy elevados. Es muy recomendable si no existe disponibilidad de determinación de EMAs o genotipado HLA-DQ2 y -DQ8.

Si los pacientes presentan **anticuerpos anti-TG2 positivos con niveles menores a 10 veces sus valores normales**, es obligada la toma de biopsias duodenales y la evaluación histológica de la mucosa, para confirmar el diagnóstico de EC debido a que los anti-TG2 positivos a títulos bajos, pueden estar relacionados con otros trastornos como enfermedades autoinmunes, infecciones, tumores o daño tisular y no necesariamente predicen atrofia vellositaria.

En **niños o adolescentes totalmente asintomáticos**, que están siendo investigados por pertenecer a grupos de alto riesgo, debería aplicarse el segundo algoritmo (Figura 2). Dentro de este grupo, el genotipado HLA como primer paso, es probablemente asequible en términos de costos, ya que los individuos HLA-DQ2 y -DQ8 negativos pueden ser excluidos de los estudios de seguimiento debido al riesgo mínimo de desarrollar EC. Si no es posible efectuar el genotipado HLA, el procedimiento de cribado se podría iniciar con pruebas de anticuerpos específicos para la EC.

En individuos HLA-DQ2 o -DQ8 positivos deberían efectuarse pruebas serológicas de anti-TG2 IgA e IgA sérica total, o las pruebas IgG correspondientes en casos de deficiencia de IgA (Figura 2). Si los anti-TG2 resultan negativos, las pruebas serológicas deberían repetirse en intervalos regulares, ya que la enfermedad puede desarrollarse más tarde en la vida. No existe evidencia sobre la frecuencia con la que deberían efectuarse dichas pruebas. Ya que las personas que pertenecen a este grupo a menudo presentan resultados anti-TG2 falsos positivos, en caso de detectar unos anti-TG2 elevados, deberían ser diagnosticados siempre después de efectuar biopsias duodenales. Es necesaria una confirmación histológica para el diagnóstico de la EC dada la necesidad de una adherencia, de por vida, a una estricta dieta sin gluten⁷³. Debe considerarse un resultado falso positivo, si los niveles de anti-TG2 son positivos pero bajos, inferiores a 3 veces sus valores normales. Debe recomendarse un seguimiento prolongado mientras que, en ausencia de signos o síntomas, se siga una dieta normal que contenga gluten. En estos casos, la determinación de EMA pueden ser de utilidad para tratar de distinguir entre anti-TG2 falso- y verdadero-positivo. Si los EMAs son positivos, aumenta la probabilidad de EC y el paciente debería ser referido para realización de biopsias duodenales. Si los EMAs son negativos, se recomienda únicamente realizar seguimiento y pruebas repetidas.

El grupo de trabajo también propuso un sistema de puntuación simple (Tabla 7) con el fin de simplificar el diagnóstico en casos obvios. Este permite el diagnóstico de la EC, aun en casos sin biopsias duodenales al inicio, así como también permite evitar un sobrediagnóstico en pacientes que presentan solamente rasgos no específicos¹.

Otro sistema de puntuación propuesto por Catassi y cols. (Tabla 8) es discutido en la sección 3.2.9.;

en contraste con el anterior, se necesita una evaluación histológica en todos los casos⁸².

3.2. Adultos

A pesar de la evidencia de un aumento en las tasas de diagnóstico, la EC sigue siendo una enfermedad infradiagnosticada en adultos. Se ha estimado que por lo menos un 75% de los casos permanecen sin diagnosticar⁸³. Además, a menudo existe un retraso en el diagnóstico, con una media de entre 5 y 11 años entre el comienzo de los síntomas y el momento del diagnóstico^{18,84}. Estos datos pueden ser explicados por varios hechos:

1. La presentación clásica de la enfermedad no es frecuente en los adultos. La principal forma de presentación consiste en diarrea y síntomas gastrointestinales inespecíficos que se solapan en gran medida con la dispepsia funcional, el síndrome de intestino irritable (SII) o la diarrea funcional²⁸.

Tabla 7. Puntaje diagnóstico¹. La puntuación se realiza econ base en 4 ítems: Síntomas, Anticuerpos, HLA y resultados de la biopsia, cada uno de los cuales contribuye una vez. Para realizar el diagnóstico, se requiere una suma de 4 puntos.

	Puntos
Síntomas	
Síndrome de malabsorción	2
Otros síntomas compatibles con la EC o DM-1, o ser familiar de primer grado	1
Asintomático	0
Anticuerpos séricos*	
Positividad de los EMA y/o positividad elevada (>10 ULN) para anti-TG2	2
Baja positividad para anticuerpos anti-TG2 o positividad anti-DGP aislada	1
No se efectuó serología	0
Serología efectuada con negatividad en todos* los anticuerpos específicos para la EC	-1
HLA	
Presencia de heterodímeros completos HLA-DQ2 (en cis o en trans) o HLA-DQ8	1
No se efectuó HLA o presencia de la mitad de DQ2 (solamente HLA-DQB1*0202)	0
HLA no DQ2 o DQ8	-1
Histología	
Marsh 3b o 3c (atrofia vellositaria subtotal, atrofia total)	2
Marsh 2 o 3a (razón altura vellositaria/profundidad de cripta moderadamente reducida) o Marsh 0-1 con anticuerpos TG2 intestinales	1
Marsh 0-1 o ausencia de biopsia	0

*Hace referencia a anticuerpos EMA clase IgG, anti-TG2 y DGP en caso de deficiencia de IgA.

Comentarios y Explicaciones para su Uso

*Los ítems de la biopsia fueron escalonados considerando la puntuación de Villanacci y utilidad clínica de los resultados. Suponemos que resultados Marsh 0 y 1 sin más información, podrían ser no específicos. La demostración de anticuerpos ligados con TG2 tisular en el intestino delgado aporta información para el diagnóstico (cuando esté disponible). Es posible diagnosticar EC, aún sin esta posibilidad. No es necesario contar con una facilidad para pruebas de EMAs; pero es una clara ventaja.

*Algunos resultados que hacen el diagnóstico de EC improbable resultan en puntos negativos.

*La suma de 4 puntos puede obtenerse de resultado registrados en diferentes momentos durante el seguimiento, si puede suponerse que sean dependientes del gluten. Por ejemplo, un niño que presenta atrofia vellositaria antes de la introducción del gluten y biopsia normal a la edad de 6 años mientras consume gluten, normalmente recibirá un 0 en la biopsia.

Tabla 8. Criterios diagnósticos para Enfermedad Celíaca de acuerdo con Catassi y cols.⁸².

Notas: Una historia familiar de enfermedad celíaca aporta evidencia adicional al diagnóstico. En pacientes sin síntomas, particularmente en niños jóvenes, es aconsejable confirmar la positividad de los anticuerpos en 2 o más muestras de sangre, tomadas por lo menos con tres meses de separación; en casos seleccionados podría ser necesario, para confirmar el diagnóstico, realizar una prueba de provocación con gluten, después de al menos 2 años.

Por lo menos 4 de 5, o 3 de 4 si no ha efectuado genotipado HLA	
1	Síntomas típicos de enfermedad celíaca ¹
2	Positividad para autoanticuerpos séricos clase IgA de enfermedad celíaca con títulos elevados ²
3	Genotipos HLA DQ2 o DQ8 ³
4	Enteropatía celíaca en biopsia del intestino delgado ⁴
5	Respuesta a la dieta sin gluten ⁵

¹La diarrea crónica, retraso en el crecimiento (niños), pérdida de peso (adultos) o anemia por deficiencia de hierro, son ejemplos de síntomas típicos.

²Anti-TG y EMA clase IgA en sujetos con niveles normales de IgA o anti-TG y EMA clase IgG en sujetos con deficiencia de IgA. El hallazgo de anti-péptidos de gliadina deamidados clase IgG, añade evidencia al diagnóstico.

³Positividad del HLA-DQ2 incluye sujetos con solo la mitad de heterodímero (HLA-DQB1*02).

⁴Incluyendo lesiones Marsh-Oberhuber 3, lesiones Marsh Oberhuber 1-2 asociadas con serología positiva a títulos bajos/altos, o lesiones Marsh-Oberhuber 1-3 asociadas con depósitos IgA subepiteliales.

⁵Histológica en pacientes con enfermedad celíaca seronegativa o deficiencia IgA asociada.

2. Algunos antecedentes, tales como retraso del crecimiento en la infancia, anemia por deficiencia de hierro, densidad mineral ósea reducida prematura, aftas orales recurrentes, le-

siones dermatológicas o infertilidad, pueden ser observadas a menudo. Las preguntas de los gastroenterólogos se han enfocado exclusivamente sobre síntomas gastrointestinales, olvidando que la EC es un trastorno con expresión multisistémica.

3. Actualmente la búsqueda activa de casos (pruebas serológicas para EC en pacientes con síntomas o condiciones cercanamente asociadas con EC) es la estrategia preferida para incrementar la detección de EC. No obstante, muchos adultos con EC presentan formas leves de enteropatía (Marsh 1, 2 y 3a) en las que un resultado positivo de serología específica para EC podría ser menor del 30%^{85,86}. En consecuencia, aunque la búsqueda activa de casos podría incrementar la detección de EC entre pacientes con síntomas; esta estrategia podría resultar insuficiente para detectar todos los adultos con EC¹⁰.

Con el fin de mejorar el reconocimiento y el diagnóstico de la EC, se han publicado varias guías de práctica clínica¹²⁻¹⁵. En general, estas guías recomiendan comenzar el diagnóstico con pruebas serológicas para EC en pacientes con síntomas o trastornos asociados con EC (Tabla 2). La confirmación del diagnóstico de EC debería basarse en una combinación de hallazgos procedentes del escenario clínico, anticuerpos específicos para EC, biopsias duodenales, genotipado HLA-DQ2/DQ8 y la respuesta a una DSG. A continuación, se ofrece un resumen de las recomendaciones específicas de estas guías para mejorar el diagnóstico de EC.

3.2.1. ¿Cuándo Realizar Pruebas para el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca?

No existe consenso sobre qué síntomas, alteraciones de laboratorio y/o enfermedades asociadas, requieren evaluación para EC. La frecuencia de EC en escenarios clínicos comunes oscila entre lo modestamente elevado, como el síndrome de intestino irritable, y lo sustancialmente elevado, como la anemia por deficiencia de hierro. Las guías clínicas^{13,14} recomiendan realizar pruebas serológicas en pacientes con situaciones en las que EC se presenta con mayor frecuencia que en la población en general y/o para quienes una DSG podría ser beneficiosa (Tabla 2).

1. Pacientes con síntomas, signos o evidencia de laboratorio que sugiera malabsorción, tales como diarrea crónica con pérdida de peso, esteatorrea, dolor abdominal postprandial y distensión abdominal.
2. Pacientes con síntomas gastrointestinales de causa no aclarada, incluyendo dispepsia, náuseas y vómitos o dolor abdominal recurrente.
3. Pacientes con síntomas extraintestinales, como anemia por deficiencia de hierro de causa no aclarada u otra anemia no especificada, densidad mineral ósea reducida prematura, niveles elevados de aminotransferasa sérica cuando no exista otra etiología, o úlceras aftosas orales recurrentes.
4. Pacientes con cualquiera de los siguientes trastornos: Dermatitis herpetiforme, síndrome del intestino irritable, enfermedad tiroidea autoinmune, diabetes mellitus tipo 1, neuropatía periférica, retraso del crecimiento, dientes decolorados o pérdida de esmalte sincrónica al desarrollo, síndromes de Down y Turner. Deben considerarse pruebas serológicas para las demás condiciones asociadas.

5. Pacientes con un familiar en primer grado (padres, hermanos o hijos) con diagnóstico de EC confirmado, especialmente si presenta posibles signos o síntomas o evidencia de laboratorio de EC.

3.2.2. ¿Cómo realizar el Diagnóstico de Enfermedad Celíaca?

Al igual que en los niños, las pruebas serológicas para anticuerpos específicos para EC son la estrategia inicial preferida para detectar EC en adultos. Las pruebas basadas en TG2 (EMA y anti-TG2) son las más precisas. La sensibilidad y especificidad de la anti-TG2 IgA para EC sin tratamiento es de alrededor del 95%, pero su sensibilidad es menor en caso de lesiones histológicas leves (sin atrofia vellositaria)^{85,86}. Mientras más elevados son los títulos de anticuerpos mayor es la probabilidad de obtener un resultado verdadero positivo. Existen diferencias reconocidas en la eficiencia de estas pruebas, entre los diversos kits comerciales; pero en general, existe una elevada consistencia en la sensibilidad y especificidad de la prueba⁸⁷. No se recomiendan determinar los anticuerpos dirigidos contra la gliadina nativa para la detección de la EC¹⁴.

La deficiencia de IgA es más frecuente en la EC que en la población general. En pacientes en los que exista una elevada prevalencia de EC previa a las pruebas, debería considerarse la medición de los niveles de IgA, especialmente si la prueba de serología celíaca basada en IgA resulta negativa. Una estrategia consiste en medir la IgA total al iniciar las pruebas para determinar si los niveles de IgA son suficientes y de no ser así, se incorporan pruebas basadas en IgG en la cascada de pruebas serológicas (DGP IgG y/o anti-TG2 IgG)¹⁴.

Los anticuerpos dirigidos contra los péptidos de gliadina deamidada, así como la TG2 autoantígena, dependen de la ingesta de gluten. La reducción o el cese de la ingesta de gluten en la dieta se acompaña de una reducción de los niveles de los anticuerpos asociados con la EC a concentraciones normales. Por lo tanto, todas las pruebas serológicas deberían efectuarse en pacientes que consumen una dieta que contiene gluten. El combinar varias pruebas para la EC en sustitución de anti-TG2 IgA podría incrementar marginalmente la sensibilidad para la EC, pero reduce la especificidad y por lo tanto, no se recomienda para poblaciones de bajo riesgo¹⁴.

Si existe una alta sospecha de EC, deberían efectuarse biopsias intestinales, aun cuando el resultado de la serología celíaca resulte negativo (Figura 3).

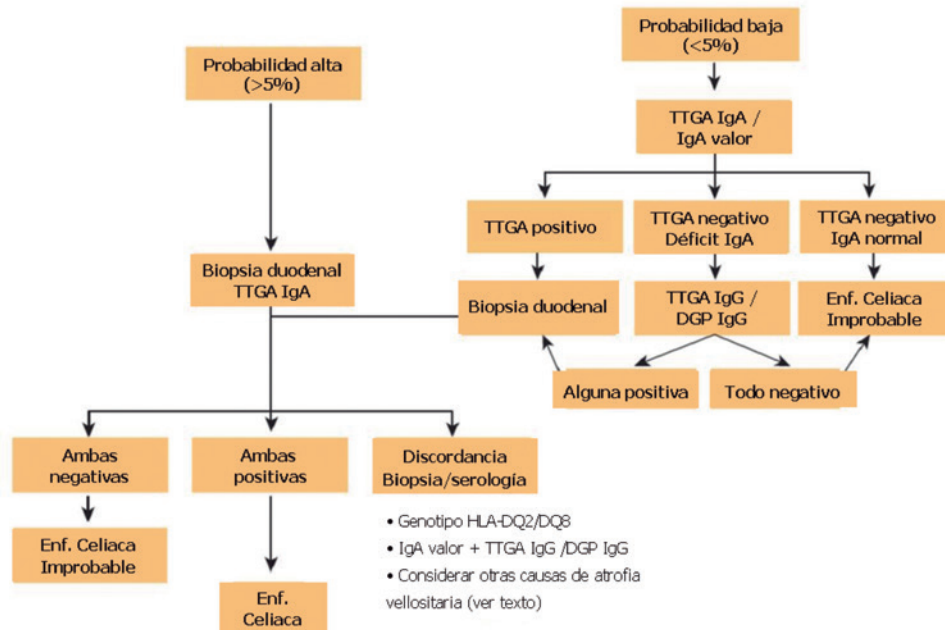


Figura 3. Algoritmo de pruebas diagnósticas para enfermedad celíaca de acuerdo con la Guía Clínica del American Journal of Gastroenterology¹⁴. DGP: péptido de gliadina deamidado; HLA: antígeno leucocitario humano; Ig: inmunoglobulina; TTGA: anticuerpo de transglutaminasa tisular. Reproducido con permiso de Macmillan Publishers Ltd.: American Journal of Gastroenterology, Rubio-Tapia A y cols, ACG Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease, 2013.

3.2.3. Pruebas de confirmación de Enfermedad Celíaca

La confirmación del diagnóstico de EC debería basarse en una combinación de hallazgos procedentes del historial médico, examen físico, serología y el análisis histológico de las biopsias de duodeno tomadas durante una endoscopia digestiva alta¹⁴. La endoscopia digestiva alta con biopsias del duodeno es un componente esencial en la evaluación diagnóstica de personas con sospecha de EC y es necesaria para confirmar el diagnóstico. Los cambios histológicos asociados con la enfermedad pueden clasificarse de acuerdo con las escalas Marsh, Marsh modificada (Oberhuber) o la escala de Corazza, más reciente y simplificada (Tabla 6)⁸⁸. Una serología específica para EC positiva, en pacientes con atrofia vellositaria, confirma el diagnóstico de EC. No obstante, una serología específica para EC negativa en pacientes con enteropatía no excluye por completo el diag-

nóstico de EC, aunque lo hace menos probable. La respuesta histológica a la DSG y el genotipado HLA podrían ayudar a descartar o confirmar el diagnóstico de EC, en pacientes con anticuerpos negativos¹⁴.

Las alteraciones histológicas asociadas con la EC pueden estar distribuidas irregularmente, por lo que se recomienda efectuar múltiples biopsias duodenales (una o dos biopsias del bulbo y por lo menos cuatro biopsias del duodeno distal) para confirmar el diagnóstico de EC^{89,90}. La infiltración linfocítica del epitelio intestinal, en ausencia de atrofia vellositaria, no es específica para la EC y deberían considerarse otras posibles causas (Tabla 5)^{91,92}.

El diagnóstico podría confirmarse cuando exista concordancia entre los resultados serológicos y los hallazgos histológicos y cuando los síntomas desaparezcan con una DSG. No obstante, existen otras situaciones en las que es posible establecer un diagnóstico de EC aun cuando el resultado de la serología específica para EC sea negativo⁸².

3.2.4. Papel del Genotipado HLA-DQ2/DQ8 en la Enfermedad Celíaca

Los heterodímeros HLA-DQ2/DQ8 se hallan presentes en casi todos los pacientes con EC. Un resultado negativo para ambos heterodímeros HLA-DQ2 hace que el diagnóstico de EC sea muy improbable. Entre los pacientes que no portan estos heterodímeros, la mayoría codificaba la mitad del heterodímero HLA-DQ2. Debido a que el HLA-DQ2 está presente en aproximadamente 25-30% de la población caucásica el genotipado HLA-DQ no debería efectuarse rutinariamente en el diagnóstico inicial de EC debido a que su valor predictivo es muy bajo¹⁴.

Las pruebas para HLA-DQ2/DQ8 resultan útiles para excluir EC en situaciones clínicas seleccionadas¹⁴. Ejemplos de algunas de estas situaciones clínicas son: 1) Hallazgos histológicos equívocos del intestino delgado (Marsh 1 o 2) en pacientes seronegativos⁹³; 2) Evaluación de pacientes que siguen una DSG en los que no se hayan efectuado pruebas para EC antes de la DSG⁹⁴; 3) Pacientes con serología e histología específica para EC discrepantes⁹⁵; 4) Pacientes con sospecha de EC refractaria, cuyo diagnóstico original de EC quedó en duda; 5) Cribado para EC en grupos de riesgo, tales como personas con síndrome de Down⁹⁶. La utilidad de las pruebas HLA en otros grupos de riesgo (tales como diabéticos tipo I, o miembros de la familia) es más limitado, debido a que una elevada proporción de dichos sujetos porta alguno de los heterodímeros HLA-DQ2/DQ8.

3.2.5. Pacientes con Enteropatía y Serología Específica para EC Negativa

Estos pacientes, especialmente en la población adulta, son un grupo de especial relevancia. De hecho, se ha subestimado la verdadera prevalencia de EC en esta población porque, tanto en programas de cribado (poblacional, o en grupos de alto riesgo) como en personas sintomáticas, la biopsia intestinal se indica solo cuando el resultado de la serología es positivo. No obstante, existe evidencia de que la sensibilidad de la serología es más baja entre adultos con lesiones histológicas

leves (sin atrofia vellositaria; Marsh-Oberhuber 1 y 2)^{85,86}.

La presencia de lesiones histológicas leves representa un “área gris” de difícil interpretación. Los datos actuales sugieren que los pacientes con duodenosis linfocítica (>25 LIEs por 100 células epiteliales) pueden presentar síntomas gastrointestinales y extraintestinales, tales como osteopenia o anemia, tan frecuentemente como los pacientes con atrofia vellositaria^{97,98}. No obstante, debería recalcar que la duodenosis linfocítica es frecuente en la población general (prevalencia 5.4%)⁹⁹ y que existen otros trastornos aparte de la EC, entre los cuales es posible encontrar la duodenosis linfocítica. Ejemplos de estos incluyen la infección por *H. pylori*, diversos medicamentos (por ejemplo, fármacos anti inflamatorios no esteroideos), sobrecrecimiento bacteriano de intestino delgado, intolerancia a proteínas alimentarias o trastornos autoinmunes^{91,92}. La serología celíaca es positiva solamente en un 10-30% de los pacientes con duodenosis linfocítica secundaria a EC. En consecuencia, el diagnóstico de EC en dichos pacientes no es fácil y requiere de las siguientes condiciones⁹³. Primero, es necesario excluir otras etiologías posibles tales como la infección por *H. pylori*, medicamentos y sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado. Segundo, probar la presencia del heterodímero HLA-DQ2 o -DQ8. Finalmente, demostrar una respuesta clínica e histológica inequívoca a una dieta sin gluten. La caracterización del subgrupo de LIEs $\gamma\delta+$ mediante análisis inmunohistoquímico o citometría de flujo, así como la presencia de depósitos subepiteliales de anti-TG2 IgA en la mucosa, parecen ser específicos para la EC^{100,101}. No obstante, estas técnicas son complejas, requieren biopsias congeladas o frescas sin fijar, y no están disponibles para su utilización en la práctica clínica habitual.

3.2.6. Serología Específica para EC Positiva y Ausencia de Enteropatía

Los resultados anti-TG2 falsos positivos son poco frecuentes, pero pueden existir, normalmente a de títulos bajos (típicamente menos del doble del límite superior de lo normal). La repetición de la prueba utilizando una prueba basada en TG2 humana como antígeno de captura podría resolver la discrepancia. La biopsia duodenal debería ser analizada por un patólogo familiarizado con la EC para buscar pequeñas alteraciones

Si estos dos pasos no logran reconciliar los resultados, el paciente puede seguir una dieta normal y después de 6 a 12 semanas, repetir la endoscopia con toma de biopsias adicionales múltiples del bulbo y del duodeno distal. Los pacientes con pruebas serológicas positivas y lesiones histológicas leves, pueden responder a la DSG¹⁰². El genotipado HLA-DQ2/DQ8 puede ser útil para el diagnóstico de EC en pacientes con positividad para serología específica para la enfermedad celíaca e histología duodenal normal⁹⁵.

3.2.7. Diagnóstico en Pacientes que Siguen una Dieta sin Gluten

Mientras que las pruebas diagnósticas estándar (serología específica y biopsia intestinal) tienen

un alto valor predictivo positivo para el diagnóstico de EC, no se debería depender de ellas para excluir una EC en aquellos pacientes que ya siguen una DSG. Las características serológicas e histológicas específicas de la EC no se normalizan inmediatamente al iniciar la DSG, aunque algunos pacientes podrían volver rápidamente a la normalidad al iniciar la DSG. Por lo tanto, los hallazgos serológicos e histológicos normales siguiendo la dieta sin gluten no pueden usarse para excluir definitivamente una EC¹⁴.

El genotipado HLA-DQ2/DQ8 no está influenciado por la dieta y puede ser usado para evaluar la probabilidad de EC en pacientes que sigan una dieta normal o una DSG. Las pruebas HLA-DQ2/DQ8 podrían realizarse también para excluir la EC antes de la realización de una endoscopia digestiva alta con toma biopsias dado que un resultado negativo haría innecesario cualquier análisis posterior¹⁴.

La prueba de la provocación con gluten sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico de la EC en pacientes positivos para HLA-DQ2 y/o -DQ8 que presenten un resultado normal de la serología o histología una vez han iniciado la DSG. Debe advertirse que aquellos pacientes que presentan síntomas severos tras la ingesta de gluten no son candidatos adecuados para realizar una prueba de provocación. A pesar de que se recomienda realizar la prueba de provocación con una dieta con al menos 10 g. de gluten diarios durante 6-8 semanas, no existe evidencia sobre la eficacia diagnóstica de esta estrategia, ni tampoco sobre la dosis óptima o la duración de la prueba¹⁰³.

A pesar de las desventajas de no poder confirmar o excluir un diagnóstico de EC, algunos pacientes optarán por seguir la DSG sin pasar por la prueba de provocación con gluten. Estos pacientes deberían ser manejados de manera similar a aquellos con EC confirmada¹⁴.

3.2.8. Diferenciación de la Enfermedad Celíaca de la Sensibilidad al Gluten No Celíaca

La EC debería diferenciarse de la sensibilidad al gluten no celíaca para identificar el riesgo de estados de deficiencia nutricional, complicaciones de EC, riesgo de EC y trastornos asociados en miembros familiares y para informar del grado y duración de la adherencia a la DSG. Los síntomas o la respuesta de los mismos a la DSG por sí mismos no deberían ser utilizados para diagnosticar una EC, ya que a menudo existe una superposición entre ambos trastornos. Solo puede considerarse un diagnóstico de sensibilidad al gluten no celíaca después de que se haya excluido la EC mediante pruebas apropiadas¹⁴. Pruebas objetivas como la serología específica para EC, el examen histológico del intestino delgado, ambas obtenidas mientras el paciente consume una dieta rica en gluten, y el genotipado HLA-DQ2/DQ8 (para descartar EC, en caso de negatividad) son necesarias para diferenciar entre ambos trastornos¹⁰⁴.

3.2.9. Estrategia Diagnóstica para la Enfermedad Celíaca en la Práctica Clínica

La estrategia diagnóstica para un paciente adulto con sospecha de EC es compleja, dada la diver-

sidad de posibles escenarios clínicos. La figura 3 muestra el algoritmo de pruebas diagnósticas propuesto por la guía clínica de la ACG¹⁴. La serología específica para EC (anti-TG2, EMA o anti-DGP) debería ser la prueba diagnóstica inicial, la cual llevaría a cabo en pacientes que presenten signos, síntomas y/o condiciones asociadas con EC.

Cuando los títulos de anti-TG2 IgA son más de 10 veces superiores a sus valores normales podría evitarse la realización de una biopsia intestinal ya que la probabilidad de detectar atrofia vellositaria es bastante elevada. Hills y cols.⁶⁷ demostraron en adultos que niveles de anti-TG2 IgA >30U/ml (>10 UNL), usando el kit de prueba Celikey, tenían un valor predictivo positivo del 100%. Antes de tomar esta decisión, es prudente investigar y confirmar la presencia de EMA (efectuando la extracción en un momento diferente de la primera vez) y buscar los heterodímeros HLA-DQ2/DQ8, ya que un resultado positivo refuerza el diagnóstico. Por el contrario, deberían efectuarse múltiples biopsias duodenales cuando los niveles de anti-TG2 IgA sean menores de 10 UNL, incluyendo una o dos biopsias del bulbo (ya sea en las posiciones de las 9 o 12) y por lo menos cuatro biopsias del duodeno post-bulbar (2 biopsias del bulbo y 4 biopsias de la segunda porción duodenal). Si los resultados histológicos revelan enteropatía, debería iniciarse una DSG.

Se necesitarán más estudios cuando las pruebas serológicas sean negativas y exista una elevada sospecha clínica de EC. En este caso, los pacientes deberían someterse a una endoscopia digestiva alta con toma de biopsias duodenales para confirmar el diagnóstico de EC, ya que la sensibilidad de la serología específica para EC es menor entre adultos con lesiones no atróficas. El genotipado HLA-DQ2/DQ8 podría ser de utilidad al evaluar la probabilidad de EC en estos pacientes y sería aconsejable efectuar biopsia intestinal solamente en pacientes HLA-DQ2 o -DQ8 positivos. En pacientes con enteropatía y pruebas serológicas negativas, el genotipado HLA-DQ2/DQ8 podría ser de utilidad para confirmar o excluir un diagnóstico de EC, ya que los resultados negativos para ambos tipos HLA-DQ hacen muy improbable el diagnóstico⁹³.

Debería considerarse que en cualquier caso, las pruebas serológicas o genéticas o los resultados de biopsia duodenal no son patognomónicos. Esto significa que, en ciertos casos, es extremadamente difícil confirmar o descartar la enfermedad. La amplia variabilidad de los hallazgos relacionados con la EC, sugiere que es difícil simplificar el proceso diagnóstico en algoritmos rígidos que no siempre cubren la totalidad del espectro de las situaciones clínicas. Ocasionalmente puede ser preferible aplicar reglas simples que, en manos de un gastroenterólogo experimentado, pueden ser igualmente eficaces. En este sentido, Catassi y Fasano⁸² propusieron un sistema de 5 puntos que incorpora 1) Síntomas de la EC; 2) Serologías positivas para EC a títulos elevados; 3) Presencia del haplotipo HLA-DQ2 o -DQ8; 4) Hallazgos histopatológicos característicos y 5) Respuesta serológica o histológica a la DSG. La presencia de 4 de estos 5 criterios (o de 3 de 4 si no se efectúa el análisis HLA-DQ2/DQ8) cumplirían con los criterios diagnósticos para la EC, de acuerdo con este sistema propuesto, que aún no ha sido validado prospectivamente (Tabla 8).

Referencias

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 136-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
PMid:22197856
2. Dicke WK. *Treatment of celiac disease*. Ned Tijdschr Geneesk. 1951; 95: 124-30.
PMid:14806692
3. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L et al. *HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease*. Hum Immunol. 2003; 64: 469-77.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00027-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00027-2)
4. Petersen J, Montserrat V, Mujico JR, Loh KL, Beringer DX, van Lummel M et al. *T-cell receptor recognition of HLA-DQ2-gliadin complexes associated with celiac disease*. Nat Struct Mol Biol. 2014; 21: 480-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/nsmb.2817>
PMid:24777060
5. 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: 530-6.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2013.775666>
PMid:23534388
6. Lebowhl B, Ludvigsson JF, Green PH. *The unfolding story of celiac disease risk factors*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2014; 12: 632-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.10.031>
PMid:24211288 PMCID:PMC3960307
7. Steens RF, Csizmadia CG, George EK, Ninaber MK, Hira Sing RA, Mearin ML. *A national prospective study on childhood celiac disease in the Netherlands 1993- 2000: an increasing recognition and a changing clinical picture*. J Pediatr. 2005; 147: 239-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2005.04.013>
PMid:16126057
8. Csizmadia CG, Mearin ML, von Blomberg BM, Brand R, Verloove-Vanhorick SP. *An iceberg of childhood coeliac disease in the Netherlands*. Lancet. 1999; 353: 813-4.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)00243-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)00243-3)
9. Schweizer JJ, von Blomberg BM, Bueno-de Mesquita HB, Mearin ML. *Coeliac disease in The Netherlands*. Scand J Gastroenterol. 2004; 39: 359-64.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520310008503>
PMid:15125468

10. Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe SE et al. *Detection of Celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America*. *Am J Gastroenterol*. 2007; 102: 1454-60. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01173.x>
PMid:17355413
11. Ivarsson A, Myleus A, Norstrom F, van der Pals M, Rosen A, Hogberg L et al. *Prevalence of childhood celiac disease and changes in infant feeding*. *Pediatrics*. 2013; 131: e687-94. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2012-1015>
PMid:23420914
12. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. *American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease*. *Gastroenterology*. 2006; 131: 1981-2002. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.004>
PMid:17087937
13. National Institute for Health and Clinical Excellence. *Coeliac disease: recognition and assessment of coeliac disease*. London: National Institute for Health and Clinical Excellence. 2009. www.nice.org.uk/CG86
14. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. *ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease*. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108: 656-76. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.79>
PMid:23609613 PMCID:PMC3706994
15. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ et al. *Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology*. *Gut*. 2014; 63: 1210-28. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306578>
PMid:24917550 PMCID:PMC4112432
16. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M et al. *Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification*. *BMC Med*. 2012; 10: 13. <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-10-13>
PMid:22313950 PMCID:PMC3292448
17. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH et al. *The Oslo definitions for coeliac disease and related terms*. *Gut*. 2013; 62: 43-52. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301346>
PMid:22345659 PMCID:PMC3440559
18. Sanders DS, Hurlstone DP, Stokes RO, Rashid F, Milford-Ward A, Hadjivassiliou M et al. *Changing face of adult coeliac disease: experience of a single university hospital in South Yorkshire*. *Postgrad Med J*. 2002; 78: 31-3. <http://dx.doi.org/10.1136/pmj.78.915.31>
PMid:11796869 PMCID:PMC1742229

19. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2008; 103: 2360-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01977.x>
PMid:18702652
20. McGowan KE, Castiglione DA, Butzner JD. *The Changing Face of Childhood Celiac Disease in North America: Impact of Serological Testing*. *Pediatrics*. 2009; 124: 1572-1578. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-2373>
PMid:19948628
21. Reilly NR, Fasano A, Green PH. *Presentation of celiac disease*. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2012; 22: 613-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.giec.2012.07.008>
PMid:23083982
22. Pelleboer RA, Janssen RL, Deckers-Kocken JM, Wouters E, Nissen AC, Bolz WE et al. *Celiac disease is overrepresented in patients with constipation*. *J Pediatr (Rio J)*. 2012; 88: 173-6. <http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2155>
23. Reilly NR, Aguilar K, Hassid BG, Cheng J, Defelice AR, Kazlow P et al. *Celiac disease in normal-weight and overweight children: clinical features and growth outcomes following a gluten-free diet*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013; 53: 528- 31.
24. Schaart MW, Mearin ML. *Early nutrition: prevention of celiac disease?* *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 59 Suppl 1: S18-20. <http://dx.doi.org/10.1097/01.mpg.0000450398.53650.f4>
PMid:24979195
25. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L et al. *Epidemic of coeliac disease in Swedish children*. *Acta Paediatr*. 2000; 89: 165-71. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2000.tb01210.x>
PMid:10709885
26. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, Castillejo G, Chmielewska A, Crespo Escobar P et al. *Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease*. *N Engl J Med*. 2014; 371: 1304-15. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1404172>
PMid:25271603
27. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, Pulvirenti A, Tonutti E, Amarri S et al. *Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children*. *N Engl J Med*. 2014; 371: 1295-303. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1400697>
PMid:25271602

28. Green PH. *The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population.* Gastroenterology. 2005; 128: S74-8.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.016>
PMid:15825130
29. M. Domínguez-Cajal S, Santolaria-Piedrafita I, Lera-Omiste B, Cuartero-Cuenca G, Pérez-Clavijo T, Guevara-López et al. *Patrones de presentación en una serie retrospectiva de pacientes con enfermedad celíaca según la nomenclatura aceptada en el consenso de Oslo, 2012.* El comienzo del proyecto aretaea. Gastroenterología y Hepatología. 2013; 36: 216.
30. Ciacci C, Cirillo M, Sollazzo R, Savino G, Sabbatini F, Mazzacca G. *Gender and clinical presentation in adult celiac disease.* Scand J Gastroenterol. 1995; 30: 1077- 81.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365529509101610>
PMid:8578167
31. Zipsper RD, Patel S, Yahya KZ, Baisch DW, Monarch E. *Presentations of adult celiac disease in a nation-wide patient support group.* Dig Dis Sci. 2003; 48: 761-4.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1022897028030>
PMid:12741468
32. Ford AC, Ching E, Moayyedi P. *Meta-analysis: yield of diagnostic tests for coeliac disease in dyspepsia.* Aliment Pharmacol Ther. 2009; 30: 28-36.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04008.x>
PMid:19416130
33. Santolaria S, Alcedo J, Cuartero B, Diez I, Abascal M, Garcia-Prats MD et al. *Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in patients with dysmotility-like dyspepsia.* Gastroenterol Hepatol. 2013; 36: 11-20.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.gastrohep.2012.07.011>
PMid:23103052
34. O'Leary C, Wieneke P, Buckley S, O'Regan P, Cronin CC, Quigley EM et al. *Celiac disease and irritable bowel-type symptoms.* Am J Gastroenterol. 2002; 97: 1463-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.05690.x>
PMid:12094866
35. Ford AC, Chey WD, Talley NJ, Malhotra A, Spiegel BMR, Moayyedi P. *Yield of Diagnostic Tests for Celiac Disease in Individuals With Symptoms Suggestive of Irritable Bowel Syndrome Systematic Review and Meta-analysis.* Archives of Internal Medicine. 2009; 169: 651-658.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinternmed.2009.22>
PMid:19364994
36. Fernandez-Bañares F, Esteve M, Salas A, Alsina M, Farre C, Gonzalez C et al. *Systematic evaluation of the causes of chronic watery diarrhea with functional characteristics.* Am J Gastroenterol. 2007; 102: 2520-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01438.x>
PMid:17680846

37. Nachman F, Vazquez H, Gonzalez A, Andrenacci P, Compagni L, Reyes H et al. *Gastroesophageal reflux symptoms in patients with celiac disease and the effects of a gluten-free diet*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2011; 9: 214-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2010.06.017>
PMid:20601132
38. Usai P, Manca R, Cuomo R, Lai MA, Russo L, Boi MF. *Effect of gluten-free diet on preventing recurrence of gastroesophageal reflux disease-related symptoms in adult celiac patients with nonerosive reflux disease*. J Gastroenterol Hepatol. 2008; 23: 1368-1372.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2008.05507.x>
PMid:18853995
39. Crowe SE. In the clinic. *Celiac disease*. Ann Intern Med. 2011; 154: ITC51-ITC5- 15; quiz ITC5-16.
40. Meeuwisse GW. *Diagnostic criteria in coeliac disease*. Acta Paediatr Scand 1970; 59: 461-463.
41. Guandalini S, Ventura A, Ansaldi N, Giunta AM, Greco L, Lazzari R et al. *Diagnosis of coeliac disease: time for a change?* Arch Dis Child. 1989; 64: 1320-4; discussion 1324-5.
<http://dx.doi.org/10.1136/adc.64.9.1320>
PMid:2817956 PMCID:PMC1792735
42. Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Revised criteria for diagnosis of coeliac disease*. Report. Arch Dis Child. 1990; 65: 909-11.
<http://dx.doi.org/10.1136/adc.65.8.909>
PMid:2205160 PMCID:PMC1792502
43. Koninckx CR, Giliams JP, Polanco I, Pena AS. *IgA antigliadin antibodies in celiac and inflammatory bowel disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1984; 3: 676-82.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-198411000-00006>
PMid:6502368
44. Troncone R, Ferguson A. *Anti-gliadin antibodies*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1991; 12: 150-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-199102000-00002>
PMid:2051264
45. Grodzinsky E, Jansson G, Skogh T, Stenhammar L, Falth-Magnusson K. *Anti- endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for coeliac disease in childhood: a clinical study to develop a practical routine*. Acta Paediatr. 1995; 84: 294-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1995.tb13631.x>
PMid:7780251
46. Rossi TM, Albini CH, Kumar V. *Incidence of celiac disease identified by the presence of serum endomysial antibodies in children with chronic diarrhea, short stature, or insulin-dependent diabetes mellitus*. J Pediatr. 1993; 123: 262-4.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)81699-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(05)81699-3)

47. de Lecea A, Ribes-Koninckx C, Polanco I, Calvete JF. *Serological screening (antigliadin and antiendomysium antibodies) for non-overt coeliac disease in children of short stature.* Acta Paediatr. Suppl 1996; 412: 54-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1996.tb14252.x>
PMid:8783760
48. Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Czinner A, Goracz G, Vamos A, Szabo T. *High prevalence of silent coeliac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1999; 28: 26-30.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-199901000-00008>
PMid:9890464
49. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO et al. *Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease.* Nat Med. 1997; 3: 797-801.
<http://dx.doi.org/10.1038/nm0797-797>
PMid:9212111
50. Troncone R, Maurano F, Rossi M, Micillo M, Greco L, Auricchio R et al. *IgA antibodies to tissue transglutaminase: An effective diagnostic test for coeliac disease.* J Pediatr. 1999; 134: 166-71.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(99\)70410-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(99)70410-5)
51. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C et al. *The diagnostic accuracy of serologic tests for coeliac disease: a systematic review.* Gastroenterology. 2005; 128: S38-46.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.028>
PMid:15825125
52. Prause C, Ritter M, Probst C, Daehnrich C, Schlumberger W, Komorowski L et al. *Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; 49: 52-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318195dae3>
PMid:19465869
53. Barker CC, Mitton C, Jevon G, Mock T. *Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose coeliac disease in select pediatric populations?* Pediatrics. 2005; 115: 1341-6.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2004-1392>
PMid:15867045
54. Donaldson MR, Book LS, Leiferman KM, Zone JJ, Neuhausen SL. *Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric coeliac disease.* J Clin Gastroenterol. 2008; 42: 256-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31802e70b1>

55. Dahlbom I, Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Szalai Z, Maki M, Hansson T. *Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010; 50: 140-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181a81384>
PMid:19841593
56. Mearin ML, Koninckx CR, Biemond I, Polanco I, Pena AS. *Influence of genetic factors on the serum levels of anti gliadin antibodies in celiac disease.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1984; 3: 373-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-198406000-00012>
PMid:6588183
57. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. *Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer.* J Exp Med. 1989; 169: 345-50.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.169.1.345>
PMid:2909659
58. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S et al. *HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease.* Tissue Antigens. 2004; 63: 562-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0001-2815.2004.00237.x>
PMid:15140032
59. Wolters VM, van de Nadort C, Gerritsen SA, Kneepkens CM, Ten Kate FJ, Gijsbers CF et al. *Is gluten challenge really necessary for the diagnosis of coeliac disease in children younger than age 2 years?* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; 48: 566-70.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31818c526b>
PMid:19367182
60. Ribes-Koninckx C, Mearin ML, Korponay-Szabo IR, Shamir R, Husby S, Ventura A et al. *Coeliac disease diagnosis: ESPGHAN 1990 criteria or need for a change? Results of a questionnaire.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011; 54: 15-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31822a00bb>
PMid:21716133
61. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S et al. *Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 229-41.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318216f2e5>
PMid:22266486
62. Klapp G, Masip E, Bolonio M, Donat E, Polo B, Ramos D et al. *Celiac disease: the new proposed ESPGHAN diagnostic criteria do work well in a selected population.* J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013; 56: 251-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318279887b>
PMid:23111763

63. Lewis NR, Scott BB. *Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests)*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24: 47-54.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02967.x>
PMid:16803602
64. Kaukinen K, Maki M, Partanen J, Sievanen H, Collin P. *Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for*. *Dig Dis Sci*. 2001; 46: 879-87.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1010729207320>
PMid:11330428
65. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LLE, Saavalainen P, Koskinen O et al. *Celiac Disease without Villous Atrophy in Children: A Prospective Study*. *Journal of Pediatrics*. 2010; 157: 373-U48.
66. Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S, Arias L, Fuentes D, Alvarez N et al. *Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present*. *World J Gastroenterol*. 2009; 15: 4775-80.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.4775>
PMid:19824110 PMCID:PMC2761554
67. Hill PG, Holmes GK. *Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27: 572-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03609.x>
PMid:18194500
68. Baviera LC, Aliaga ED, Ortigosa L, Litwin N, Pena-Quintana L, Mendez V et al. *Celiac disease screening by immunochromatographic visual assays: results of a multicenter study*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007; 45: 546-50.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31814794b9>
PMid:18030231
69. Korponay-Szabo IR, Szabados K, Pusztai J, Uhrin K, Ludmany E, Nemes E et al. *Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study*. *Bmj*. 2007; 335: 1244-7.
<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39405.472975.80>
PMid:18063612 PMCID:PMC2137074
70. Ravelli A, Villanacci V, Monfredini C, Martinazzi S, Grassi V, Manenti S. *How patchy is patchy villous atrophy?: distribution pattern of histological lesions in the duodenum of children with celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 2103-10.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.153>
PMid:20372112
71. Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, Nenna R, Luparia RPL, Barbera C et al. *Duodenal Bulb Biopsies in Celiac Disease: A Multicenter Study*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008; 47: 618-622.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181677d6e>
PMid:18979585

72. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, Milione M, Luinetti O, Vindigni C et al. *Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007; 5: 838-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2007.03.019>
PMid:17544877
73. Kaukinen K, Collin P, Maki M. *Latent coeliac disease or coeliac disease beyond villous atrophy?* Gut. 2007; 56: 1339-1340.
74. Weir DC, Glickman JN, Roiff T, Valim C, Leichtner AM. *Variability of histopathological changes in childhood celiac disease*. Am J Gastroenterol. 2010; 105: 207-12.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2009.557>
PMid:19809405
75. Marsh MN. *Grains of truth: evolutionary changes in small intestinal mucosa in response to environmental antigen challenge*. Gut. 1990; 31: 111-4.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.31.1.111>
PMid:2180789 PMCID:PMC1378351
76. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. *The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1999; 11: 1185-94.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199910000-00019>
PMid:10524652
77. Lio D, Bonanno CT, D'Anna C, De Luca S, Gervasi F, Cavataio F et al. *Gluten stimulation induces an in vitro expansion of peripheral blood T gamma delta cells from HLA-DQ2-positive subjects of families of patients with celiac disease*. Exp Clin Immunogenet. 1998; 15: 46-55.
<http://dx.doi.org/10.1159/000019052>
PMid:9619399
78. Koskinen O, Collin P, Korponay-Szabo I, Salmi T, Iltanen S, Haimila K et al. *Gluten-dependent small bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in overt and mild enteropathy coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008; 47: 436-42.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31817b6dec>
PMid:18852635
79. Koskinen O, Collin P, Lindfors K, Laurila K, Maki M, Kaukinen K. *Usefulness of small-bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 2010; 44: 483-8.
80. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H et al. *Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits*. Gut. 2006; 55: 1746-53.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.071514>
PMid:16571636 PMCID:PMC1856451

81. Jarvinen TT, Collin P, Rasmussen M, Kyronpalo S, Maki M, Partanen J et al. *Villous tip intraepithelial lymphocytes as markers of early-stage coeliac disease*. Scand J Gastroenterol. 2004; 39: 428-33.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520310008773>
PMid:15180179
82. Catassi C, Fasano A. *Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms*. Am J Med. 2010; 123: 691-3.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.02.019>
PMid:20670718
83. Katz KD, Rashtak S, Lahr BD, Melton LJ, 3rd, Krause PK, Maggi K et al. *Screening for celiac disease in a North American population: sequential serology and gastrointestinal symptoms*. Am J Gastroenterol. 2011; 106: 1333-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.21>
PMid:21364545 PMCID:PMC3130886
84. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, Goldstein SL, McMahon DJ, Absan H et al. *Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey*. Am J Gastroenterol. 2001; 96: 126-31.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03462.x>
PMid:11197241
85. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. *Sensitivity of anti-endomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice*. Am J Gastroenterol. 1999; 94: 888-94.
http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.983_f.x
PMid:10201452
86. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM. *Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease*. J Clin Gastroenterol. 2003; 36: 219-21.
<http://dx.doi.org/10.1097/00004836-200303000-00007>
PMid:12590232
87. Naiyer AJ, Hernandez L, Ciaccio EJ, Papdakis K, Manavalan JS, Bhagat G et al. *Comparison of Commercially Available Serologic Kits for the Detection of Celiac Disease*. J Clin Gastroenterol. 2009; 43: 225-232.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31816200e5>
PMid:18724250
88. Walker MM, Murray JA. *An update in the diagnosis of coeliac disease*. Histopathology. 2010; 59: 166-79.
89. Hopper AD, Cross SS, Sanders DS. *Patchy villous atrophy in adult patients with suspected gluten-sensitive enteropathy: is a multiple duodenal biopsy strategy appropriate?* Endoscopy. 2008; 40: 219-24.

90. Evans KE, Aziz I, Cross SS, Sahota GR, Hopper AD, Hadjivassiliou M et al. *A prospective study of duodenal bulb biopsy in newly diagnosed and established adult celiac disease*. Am J Gastroenterol. 2011; 106: 1837-742.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.171>
PMid:21606978
91. Santolaria S, Dominguez M, Alcedo J, Abascal M, Garcia-Prats MD, Marigil M et al. *Lymphocytic duodenitis: etiological study and clinical presentations*. Gastroenterol Hepatol. 2013.
92. Rosinach M, Esteve M, Gonzalez C, Temino R, Marine M, Monzon H et al. *Lymphocytic duodenitis: Aetiology and long-term response to specific treatment*. Dig Liver Dis. 2012; 44: 643-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.03.006>
PMid:22497904
93. Collin P, Wahab PJ, Murray JA. *Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease*. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005; 19: 341-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2005.01.005>
PMid:15925840
94. Green PH, Cellier C. *Celiac disease*. N Engl J Med. 2007; 357: 1731-43.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra071600>
PMid:17960014
95. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, Collin P. *HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease*. Am J Gastroenterol. 2002; 97: 695-99.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.05471.x>
PMid:11922565
96. Wouters J, Weijerman ME, van Furth AM, Schreurs MW, Crusius JB, von Blomberg BM et al. *Prospective human leukocyte antigen, endomysium immunoglobulin A antibodies, and transglutaminase antibodies testing for celiac disease in children with Down syndrome*. J Pediatr. 2009; 154: 239-42.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.08.007>
PMid:18822429
97. Esteve M, Rosinach M, Fernandez-Bañares F, Farre C, Salas A, Alsina M et al. *Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis*. Gut. 2006; 55: 1739-45.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.095299>
PMid:16709658 PMCID:PMC1856469
98. Zanini B, Caselani F, Magni A, Turini D, Ferraresi A, Lanzarotto F et al. *Celiac disease with mild enteropathy is not mild disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013; 11: 253-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.09.027>
PMid:23022697

99. Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, D'Amato M et al. *Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology and histopathology in a population-based study*. *Gastroenterology*. 2010; 139: 112-9.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2010.04.007>
PMid:20398668 PMCID:PMC2902605
100. Olivencia-Palomar P, Cano-Ruiz A, Martin-Scapa MA, Leon-Prieto F, Roy-Arino G, Redondo-Verge C. *Adult celiac disease and intraepithelial lymphocytes. New options for diagnosis?* *Gastroenterol Hepatol*. 2008; 31: 555-9.
101. Salmi TT, Collin P, Reunala T, Maki M, Kaukinen K. *Diagnostic methods beyond conventional histology in coeliac disease diagnosis*. *Dig Liver Dis*. 2010; 42: 28-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2009.04.004>
PMid:19473894
102. Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J et al. *Diagnosing Mild Enteropathy Celiac Disease: A Randomized, Controlled Clinical Study*. *Gastroenterology*. 2009; 136: 816-823.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.11.040>
PMid:19111551
103. Leffler D, Schuppan D, Pallav K, Najarian R, Goldsmith JD, Hansen J et al. *Kinetics of the histological, serological and symptomatic responses to gluten challenge in adults with coeliac disease*. *Gut*. 2013; 62: 996-1004.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302196>
PMid:22619366 PMCID:PMC3525791
104. Biesiekierski JR, Muir JG, Gibson PR. *Is Gluten a Cause of Gastrointestinal Symptoms in People Without Celiac Disease?* *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013.

CAPÍTULO 10

MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y TRASTORNOS ASOCIADOS.

Alfredo J. Lucendo¹, Luis Rodrigo², A. Salvador Peña³

¹Departamento de Gastroenterología, Hospital General de Tomelloso, Tomelloso, Ciudad Real, España.

²Profesor Emérito de Medicina, Departamento de Gastroenterología y Medicina, Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Universidad de Oviedo, España.

³Profesor Emérito, Laboratorio de Inmunogenética, Departamento de Microbiología y Control de Infecciones, Centro Médico *Vrije Universiteit* (Vumc), Ámsterdam, Holanda.

alucendo@vodafone.es lrodrigosaez@gmail.com pena.as@gmail.com

Cómo citar este capítulo:

Lucendo AJ, Rodrigo L, Peña AS. *Manifestaciones Extraintestinales de la Enfermedad Celíaca y Trastornos Asociados*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso que no afecta únicamente al tracto gastrointestinal ya que esta pertenece al grupo de enfermedades sistémicas autoinmunes. Está acompañada frecuentemente por una gran variedad de manifestaciones extra-digestivas. Más de la mitad de los pacientes con EC adulta presentan manifestaciones extra-intestinales adicionales. La mayoría mejoran al seguir una dieta sin gluten. Por lo tanto, es aconsejable tener un bajo umbral de sospecha para el diagnóstico.

Las manifestaciones extraintestinales más frecuentes son anemia por deficiencia de hierro, osteoporosis y dermatitis herpetiforme. Las causas de el inicio y la manifestación de las enfermedades asociadas son diversas. Algunas comparten un fundamento genético similar, como la diabetes mellitus tipo 1; otras comparten mecanismos patogénicos parecidos y otras son de naturaleza desconocida. El seguimiento de una dieta sin gluten mejora el desarrollo clínico general e influye favorablemente en la evolución de las enfermedades asociadas. En algunos casos, tales como la anemia por deficiencia de hierro, la dieta sin gluten cura las manifestaciones y en otros trastornos, como en el caso de la diabetes tipo 1, permite un mejor control de la enfermedad. En varias enfermedades asociadas, una adherencia a una dieta sin gluten puede ayudar a entretener su evolución, especialmente si se instaura en una etapa temprana de la EC.

Hemos descrito en este capítulo en primer lugar, las manifestaciones intra y extraintestinales de la enfermedad celíaca, tales como las manifestaciones orales, trastornos hematológicos y osteoporosis. En segundo lugar, se han descrito las enfermedades asociadas relacionadas con el gluten que poseen vínculos genéticos, tales como la dermatitis herpetiforme y ataxia por gluten. Finalmente, entre las enfermedades asociadas hemos revisado la diabetes mellitus tipo 1, las enfermedades tiroideas y diversos procesos tumorales.

Palabras clave

Enfermedad celíaca, manifestaciones extraintestinales, trastornos asociados, enfermedades relacionadas con el gluten, anemia, osteoporosis, tumores.

1. Introducción

La enfermedad celíaca es un proceso de naturaleza autoinmune que aparece en individuos genéticamente predispuestos en relación con la ingesta de gluten¹. Habitualmente afecta al tracto digestivo, y se manifiesta clásicamente mediante la presencia de diarrea, malabsorción y pérdida de peso. En décadas recientes sus variadas manifestaciones acompañadas por una serie de manifestaciones extraintestinales han sustituido la presentación clásica. Las manifestaciones extraintestinales más frecuentes son la anemia por deficiencia de hierro, la osteoporosis y la dermatitis herpetiforme². Estudios recientes han confirmado que las enfermedades autoinmunes son entre 3 y 10 veces más frecuentes en pacientes con enfermedad celíaca que en la población general^{3,4}.

Las más prevalentes son la diabetes mellitus tipo 1⁵⁻⁷, la enfermedad tiroidea autoinmune^{8,9}, el síndrome de Sjögren¹⁰, la enfermedad de Addison¹¹, la hepatitis autoinmune¹²⁻¹⁴, la enfermedad hepática colestática autoinmune¹⁵ y la colangitis biliar primaria¹⁶⁻¹⁸. Se han publicado algunos estudios sobre pacientes con artritis reumatoide y enfermedad celíaca y otros sobre pacientes con dermatitis herpetiforme. No obstante, no existe evidencia sobre una asociación sistemática. Interesantemente, desde el punto de vista genético, se incrementa significativamente el número de genes compartidos dentro de estas enfermedades^{19,20}. Un estudio sobre causas de mortalidad ha identificado una cantidad importante de pacientes que fallecieron con una enfermedad celíaca al mismo tiempo que presentaban una artritis reumatoide²¹. Estas observaciones sugieren que debería estudiarse sistemáticamente la asociación entre la artritis reumatoide y trastornos relacionados con el gluten.

Se han propuesto algunas hipótesis con el fin de explicar el incremento en la prevalencia de las enfermedades autoinmunes en pacientes con enfermedad celíaca. Una de las hipótesis plantea que una exposición más prolongada al gluten previa al diagnóstico podría ser un factor de riesgo para el desarrollo y la aparición de enfermedades relacionadas^{22,23}. No obstante, otros investigadores determinaron que la presencia de enfermedades autoinmunes en pacientes con un diagnóstico tardío de enfermedad celíaca no presenta correlación con la duración de la ingesta de gluten⁴.

Adicionalmente, la presencia de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 junto con diabetes mellitus tipo 1, enfermedad tiroidea autoinmune y/o enfermedad de Addison, plantea un posible vínculo genético. Aún queda por definir cuáles son los mecanismos inmunológicos involucrados en la aparición y desarrollo de otras enfermedades autoinmunes en pacientes con enfermedad celíaca. La asociación de enfermedad celíaca con los antígenos de clase HLA-II podría ayudar a comprender los mecanismos que vinculan la intolerancia de las proteínas alimenticias, con la autoinmunidad. Se ha sugerido que la enfermedad celíaca es un modelo para comprender la enfermedad autoinmune²⁴⁻²⁷. Como todo trastorno autoinmune, la enfermedad celíaca presenta una etiología multifactorial, así como la genética de una enfermedad compleja²⁸.

Desde la perspectiva inmunológica, existe, en la enfermedad celíaca, una sobre-expresión de la interleucina (IL)-15 en la mucosa del intestino delgado. Existe cierta evidencia sobre el hecho de

que, debido a la presencia de esta citoquina, las células T efectoras en el epitelio intestinal no son suprimidas por las células T reguladoras, lo que generaría una pérdida de tolerancia al gluten y una mayor presencia de anticuerpos como autoantígenos²⁹.

La deficiencia de vitamina D, es otro factor que también ha sido implicado en la patogénesis de la autoinmunidad en la enfermedad celíaca ya que se detecta frecuentemente en pacientes que presentan una enfermedad celíaca y en otros trastornos autoinmunes. La vitamina D es un inhibidor biológico importante de la hiperactividad inflamatoria aún en presencia de varios tumores malignos. Su papel fundamental aún no ha sido plenamente comprendido³⁰.

En este capítulo se hará un repaso de los siguientes trastornos médicos:

En primer lugar, las manifestaciones intra y extraintestinales de la enfermedad celíaca, tales como manifestaciones orales, algunos procesos hematológicos y la osteoporosis.

En segundo lugar, las enfermedades asociadas relacionadas con el gluten con vínculos genéticos, tales como la dermatitis herpetiforme y la ataxia por gluten.

En tercer lugar, algunas enfermedades asociadas tales como diabetes mellitus tipo 1, las enfermedades tiroideas y las tumorales.

En la literatura médica disponible se han hallado asociaciones casuales con otras enfermedades, aunque no se han publicado estudios sistemáticos apropiados y no serán descritas.

La sensibilidad al gluten no celíaca y la alergia al gluten han sido descritas en otros capítulos de este libro.

2. Manifestaciones Orales y Dentales de la Enfermedad Celíaca

La boca y los dientes son reconocidos como tejidos característicamente afectados por la enfermedad celíaca. De hecho, varios trastornos orales han sido relacionados con la enfermedad celíaca, incluyendo la erupción retrasada de los dientes, los defectos del esmalte, las úlceras orales aftosas recurrentes, el liquen oral plano, quilosis, glositis atrófica, glosodinia y el síndrome de Sjögren. También se ha descrito un patrón inflamatorio de las células T característico de la enfermedad celíaca en la mucosa oral de pacientes celíacos^{31,32}.

2.1. La Mucosa Oral de Pacientes Celíacos

Varios estudios han evaluado la presencia de cambios histopatológicos en la mucosa oral de pacientes celíacos^{33,34} en los que se ha demostrado repetidamente la presencia de una densa infiltración de linfocitos T, similar a la que se ha documentado para la mucosa del intestino delgado. Adicionalmente, una dieta sin gluten modificó las poblaciones de células T³⁵. Más allá del potencial de la mucosa oral como un tejido fácilmente accesible con el fin de simplificar el diagnóstico de enfermedad celíaca³⁶, la participación de la cavidad oral y la capacidad de producir anticuerpos anti-endomisio y anti-transglutaminasa³⁷ permite cribar para enfermedad celíaca mediante mues-

tras salivares³⁸.

2.2. Estomatitis Aftosa

La asociación entre las ulceraciones aftosas recurrentes y la enfermedad celíaca fue descrita hace unas cuatro décadas, después de documentar una proporción elevada de mucosas yeyunales atrofiadas, en pacientes con ulceraciones aftosas recurrentes³⁷. Todos los pacientes presentaron una remisión completa al seguir una dieta sin gluten y la ulceración aftosa no recurrió. La suspensión del gluten de la dieta también produjo una respuesta favorable en muchos pacientes sin atrofia vellositaria³⁹. Posteriores investigaciones fortalecieron la relación entre las aftas orales y la enfermedad celíaca sintomática y también en las formas subclínicas^{40,41}. La presencia de aftas recurrentes es reconocida actualmente como una de las enfermedades asociadas frecuentes típicas⁴² que afecta a un 20%-40% de los pacientes celíacos en algún momento de la vida. Se ha descrito en algunos estudios una asociación significativa entre presencia conjunta de úlceras aftosas orales y defectos del esmalte dentario en pacientes celíacos⁴³.

Las úlceras orales aftosas han sido reconocidas como un factor de riesgo para la enfermedad celíaca. Ello justifica el cribado para enfermedad celíaca en casos de úlceras aftosas recurrentes o problemáticas. Se recomienda una prueba serológica de cribado como método inicial. Debería considerarse la realización de biopsias intestinales incluso cuando la serología resulte negativa. Se han documentado respuestas favorables con la dieta sin gluten en pacientes que presentaron un incremento en linfocitos intraepiteliales en el epitelio del intestino delgado (estadío Marsh 1/Corazza A)⁴⁴. Se ha demostrado una mejoría en la estomatitis aftosa oral con la instauración de una dieta sin gluten⁴⁵.

2.3. Edad Dental retrasada en Niños Celíacos

La enfermedad celíaca durante la infancia puede resultar en la privación de varios factores nutricionales que son esenciales para promover el desarrollo corporal, así como la erupción dental. De hecho, el desarrollo dental parece estar retrasado o enlentecido en niños celíacos, en contraste con los sujetos sanos⁴⁶. También se ha descrito que la enfermedad celíaca influye en la mineralización de los dientes permanentes⁴⁷.

2.4. Defectos en el Esmalte

Los defectos en el esmalte dental son imperfecciones que aparecen en el esmalte, que es la superficie dura mineralizada de los dientes normalmente visible de los dientes, cubriendo la corona. El esmalte dental es la sustancia más dura del cuerpo humano y contiene el porcentaje más elevado de sales minerales alrededor de un 96% de su peso total, mientras que el resto está compuesto por agua y material orgánico. Los defectos en el esmalte dental, caracterizados principalmente por picaduras y ranuras y a veces por la pérdida total del esmalte, fueron descritos por primera vez en niños con enfermedad celíaca, por Aine en 1986⁴⁸. A partir de esta publicación, diversos trabajos

han motivado a la *North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (Sociedad Norte Americana para la Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica) a incluir la presencia de defectos específicos en el esmalte dental, como un factor de riesgo para la enfermedad celíaca⁴⁹.

Los defectos en el esmalte incluyen tanto la decoloración como cambios estructurales, como se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de Defectos Sistémicos y Cronológicos en el Esmalte. (Modificado de Aine en 1986⁴⁸).

Clasificación	Defecto en el Esmalte
Grado 0	Sin defectos.
Grado I	Defectos en el color del esmalte, consistentes en opacidades únicas o múltiples. amarillas o marrones (marcas) y pérdida del brillo normal del esmalte.
Grado II	Leves defectos estructurales consistentes en una superficie áspera con ranuras horizontales u oquedades poco profundas; puede haber opacidades leves y cambios de color. Parte de la superficie total del esmalte carece de brillo.
Grado III	Defectos estructurales obvios con aspereza y profundos surcos horizontales en parte de, o en la totalidad de la superficie del esmalte. Puede haber variaciones en su anchura o grandes picaduras verticales; puede haber combinaciones de grandes opacidades de diferentes colores o decoloraciones lineales.
Grado IV	Defectos estructurales importantes. Cambios en la forma de los dientes. Las puntas son filosas y/o los borde de los incisivos son irregulares y ásperos. El adelgazamiento del material del esmalte se detecta con facilidad y puede estar muy decolorado.

No está claro cuál es el mecanismo preciso que genera estos defectos; puede haber participación de daños de tipo autoinmune como su origen primario⁵⁰. Las alteraciones nutricionales, especialmente la hipocalcemia, también parecen tener un papel importante⁵¹. Adicionalmente, se ha postulado que la estimulación inducida por gluten de los linfocitos naive en la cavidad oral podría ser también responsable³¹. Los análisis ultraestructurales han demostrado que la hipoplasia en el esmalte de los dientes temporales y permanentes en pacientes celíacos se halla muy desmineralizada, al igual que prismas de hidroxí-apatita que son más cortos, están distribuidos más irregularmente y presentan menos sustancia interprismática que la observada en la hipoplasia del esmalte no celíaca⁵².

Se ha encontrado repetidamente un prevalencia incrementada significativa de defectos en el esmalte en niños, adolescentes y en sujetos adultos con enfermedad celíaca^{43,53} así como en pacientes con dermatitis herpetiforme. No existe correlación entre el grado de defectos en el esmalte y el del daño en la mucosa observado en las muestras de biopsia del intestino delgado⁵³.

Finalmente, los defectos en el esmalte dental no son específicos para la enfermedad celíaca ya que han sido asociados con un consumo excesivo de fluoruro, exposición a las tetraciclinas o en sujetos con bulimia⁴³. En estas condiciones, los defectos en el esmalte dental no son tan severos como los que se encuentran en los pacientes celíacos^{54,55}.

2.5. Riesgo de Caries y Enfermedad Celíaca

Las caries dentales actualmente son una de las enfermedades más comunes, afectando a los dientes permanentes en aproximadamente un tercio de la población mundial⁵⁶. Consiste básicamente en la presencia de una infección bacteriana persistente de la placa dentaria; ácidos, lo que conduce a la desmineralización y destrucción de los tejidos duros de los dientes, incluyendo el esmalte, la dentina y el cemento.

A pesar de haber sido reconocida como la enfermedad de la infancia más común, se ha descrito un incremento significativo en la prevalencia de caries en sujetos con enfermedad celíaca en comparación con controles, en varios estudios observacionales³². Se determinó que la proporción de sujetos sin caries en el grupo control era 2 veces mayor que en el grupo de enfermedad celíaca, antes del inicio una dieta sin gluten⁵⁷.

2.6. Liquen Plano Oral

El liquen plano oral es una enfermedad de la piel y de las membranas mucosas que se asemeja al liquen vegetal. Presenta una variedad de lesiones, la más común, es un área bien definida de pápulas purpúreas de punta plana, con líneas blancas intercaladas, las cuales presentan una textura similar al encaje⁵⁸, acompañadas de prurito y malestar local. Aparecen posiblemente como resultado de un proceso autoinmune con un factor de comienzo inicial desconocido. El liquen plano en la boca puede persistir durante muchos años y es difícil de tratar; son frecuentes las recaídas⁵⁹. El liquen plano atrófico/erosivo se asocia con un leve riesgo de transformación maligna. No existe curación para el liquen plano, por lo que el tratamiento se centra exclusivamente en la obtención de un alivio sintomático.

A partir de la primera descripción de la asociación entre la enfermedad celíaca y el liquen plano oral en 1993⁶⁰, se ha comunicado una prevalencia incrementada de enfermedad celíaca en pacientes con liquen plano oral, generalmente utilizando técnicas de cribado serológico⁶¹. Algunos autores postulan que debería considerarse la realización de un cribado para la enfermedad celíaca, en pacientes con liquen plano oral, ya que la enfermedad celíaca sin tratamiento puede presentar muchas complicaciones y reducir la calidad de vida de forma importante.

2.7. Glositis Atrófica y otros Síntomas Relacionados con la Lengua

La glositis atrófica es un proceso inflamatorio de la mucosa de la lengua, caracterizado por una

aparición lisa y brillante con un fondo rojo, o rosa. Ello se debe a la atrofia de las papilas filiformes linguales la cual origina el desarrollo de lesiones similares a úlceras, de tipo circinado y eritematoso sobre el dorso y los bordes laterales de la lengua⁶². Varias enfermedades han sido relacionadas primariamente con la aparición de glositis atrófica, incluyendo irritaciones químicas, infecciones locales y sistémicas, tales como candidiasis, anemia perniciosa, malnutrición, sarcoidosis, síndrome de Sjögren, psoriasis⁶³ y enfermedad celíaca⁶⁴. La lengua fue el lugar más frecuentemente afectado en una serie de 128 pacientes con enfermedad celíaca que fueron examinados en busca de lesiones y síntomas de la mucosa oral; 29.6% de los pacientes presentaban dolor o una sensación de ardor y 8.6% tenían eritema o atrofia de la lengua³³. El reconocer esta asociación con la EC debería animar a los dentistas a jugar un papel más importante al analizarlo en busca de enfermedad celíaca para ampliar la posibilidad de un diagnóstico correcto y un tratamiento adecuado.

2.8. Síndrome de Sjögren

Es una enfermedad crónica autoinmune que se caracteriza por la inflamación y posterior atrofia de las glándulas exocrinas, específicamente las salivares y lacrimales, causada por una infiltración inflamatoria de tipo linfocítico⁶⁵. La asociación de la enfermedad celíaca con el síndrome de Sjögren primario, como con otros trastornos de mediación inmune, ha sido descrita ampliamente. En Hungría se determinó, en 111 pacientes con síndrome de Sjögren, que la enfermedad celíaca era significativamente más elevada que en la población europea sin síndrome de Sjögren (4.5: 100 vs. 4.5-5.5: 1,000)⁶⁶. Aun cuando se siga una dieta sin gluten no necesariamente resultará en su resolución, ya que ambos trastornos evolucionaron independientemente. Debe considerarse la evaluación de la enfermedad celíaca de forma rutinaria en pacientes con síndrome de Sjögren⁶⁷.

3. Manifestaciones Hematológicas de la Enfermedad Celíaca

Entre las manifestaciones hematológicas de la enfermedad celíaca, la anemia ferropénica sigue siendo la más común, pero también puede deberse a deficiencia de folatos y ocasionalmente de vitamina B12. La anemia puede ser el único signo de presentación de la EC. Otras manifestaciones hematológicas incluyen la trombocitosis y/o trombopenia, la leucopenia, los tromboembolismos, el presentar una mayor tendencia a sangrar, la deficiencia de inmunoglobulina (Ig)A, la disfunción del bazo y los linfomas⁶⁸. En un reciente estudio prospectivo de cohortes basado en población, llevado a cabo a nivel nacional en Suecia, se determinó que individuos con deficiencia de IgA, tenían más a menudo enfermedad celíaca (6.7% vs. 0.19% en controles) y diabetes tipo 1 (5.9% vs. 0.57%) lo que corresponde a un incremento de 35 veces en la tasa de prevalencia para la deficiencia de IgA y 10 veces para la diabetes tipo 1, en celíacos. Estos individuos con deficiencia de IgA tienen una prevalencia más elevada para presentar otros trastornos autoinmunes⁶⁹. Estos hallazgos deberían ser tomados en consideración en los programas de cribado para la detección de la enfermedad celíaca.

3.1. Anemia y Enfermedad Celíaca

La anemia sin otros indicios clínicos de malabsorción intestinal, es una de las manifestaciones extraintestinales más comunes de la enfermedad celíaca^{70,71}. A pesar de que la deficiencia de folato y vitamina B12 son complicaciones conocidas de la enfermedad celíaca, la deficiencia de hierro es el tipo de anemia nutricional más comunmente asociado con la enfermedad celíaca.

La enfermedad celíaca se diagnostica frecuentemente en pacientes referidos para evaluación por anemia por deficiencia de hierro, la cual se encuentra en una proporción variable entre el 1.8% al 14.6% de los pacientes⁷².

En un estudio llevado a cabo en 42 centros y realizado en Italia, con pacientes que presentaban enfermedad celíaca subclínica, la anemia por deficiencia de hierro parecía ser el síntoma extraintestinal más frecuente, tanto en niños, como en adultos⁷¹. Un rasgo característico de la anemia por deficiencia de hierro asociada con enfermedad celíaca es su carácter refractario al tratamiento sustitutivo con hierro oral⁷³.

Ya que la anemia es una característica común de presentación de la enfermedad celíaca, ¿cuáles son las probabilidades de detectar enfermedad celíaca en pacientes que presentan anemia por deficiencia de hierro? Esta pregunta es de particular importancia para hematólogos y médicos de asistencia primaria, a quienes a menudo se les consulta debido a presentar anemia por deficiencia de hierro como diagnóstico de sospecha inicial.

La tabla 2 muestra que la enfermedad celíaca en este grupo de pacientes se presenta entre un 4.8 y un 6%. La mayoría de los estudios incluyeron una predominio de mujeres premenopáusicas. La característica clínica más consistente en la serie de la Tabla 2 fue la completa refractariedad al tratamiento de hierro oral y la completa ausencia de un aumento en el hierro sérico dos horas después de la administración de una dosis oral de 100 mg de hierro en forma de tabletas de sulfato de hierro⁷⁴⁻⁷⁹.

Año y referencia	n	Serología	Biopsia	Enfermedad celíaca (%)
1995 ⁷⁴	200	+	+	5.0
1998 ⁷⁵	85	-	+	5.8
2001 ⁷⁶	71	-	+	5.6
2002 ⁷⁷	258	+	+	4.8
2005 ⁷⁸	150	+	+	5.3
2008 ⁷⁹	116	+	+	6.0

Tabla 2. Prevalencia de enfermedad celíaca en pacientes con anemia por deficiencia crónica de hierro n = número de pacientes incluido; (-) no se efectuó. Modificado de Hershko y Patz⁸⁰.

Un estudio prospectivo realizado en pacientes con anemia por deficiencia de hierro publicado en 2005⁷⁸ determinó una prevalencia de enfermedad celíaca del 5%. Estudios posteriores han confirmado que entre un 4-6% de los pacientes con anemia por deficiencia de hierro refractaria, de origen no aclarado, presentan una enfermedad celíaca. Se encuentra gastritis autoinmune entre un 20-27% de los pacientes, 50% de los cuales presentan además una infección por *H. pylori* activa asociada y se curan de ella de forma permanente, mediante su erradicación⁸¹.

La causa más obvia del origen de dicha anemia, es una disminución en la absorción intestinal del hierro y otros nutrientes, incluyendo los folatos y la ciano-cobalamina. La atrofia vellositaria de la mucosa intestinal es una causa importante de la disminución en la absorción de hierro, como se confirma por los hallazgos del hemograma que muestran una anemia microcítica e hipocrómica por deficiencia de hierro en la mayoría de los pacientes anémicos con enfermedad celíaca⁷⁹.

La absorción anómala de hierro también es sustentada por la incapacidad para incrementar el hierro sérico posterior a un suplemento de hierro oral y por su refractariedad al tratamiento de hierro oral. Otros factores podrían contribuir con causar anemia, que en muchos casos es de etiología multifactorial⁸².

Es dudoso que las hemorragias ocultas causadas por la enfermedad celíaca puedan producir anemia, ya que la evidencia que sustenta la pérdida de sangre fecal incrementada en enfermedad celíaca es muy escasa y discutible. A pesar de que el sangrado intestinal puede presentarse en algunos pacientes celíacos, no parece tener un papel significativo en el origen de la anemia⁸³.

Bergamaschi y cols.⁸⁴ analizaron la prevalencia de la anemia por trastornos crónicos en el diagnóstico diferencial en una serie de 150 pacientes anémicos con enfermedad celíaca en la presentación. Los autores determinaron que 45 pacientes presentaron anemia por deficiencia de hierro sin complicaciones y 2 presentaron deficiencia de vitamina B12 o folato. Los parámetros de hierro que identificaron anemia en la enfermedad crónica o anemia en combinación con deficiencia de hierro (6 pacientes) presentaron una prevalencia de 17% lo que permite concluir que la anemia por trastornos crónicos desempeña un papel significativo en enfermedad celíaca. Una dieta sin gluten resolvió los diferentes mecanismos que conducen a anemia en estos pacientes⁸⁴.

Desde una perspectiva práctica, en ausencia de marcadores de enfermedad crónica, tales como una elevación de los niveles séricos de la proteína C-reactiva (PCR), una velocidad de sedimentación aumentada, o niveles de fibrinógenos elevados, no puede excluirse la presencia de una enfermedad gastrointestinal inflamatoria crónica subyacente, enfermedad celíaca, enfermedad autoinmune crónica y/o gastritis por *H. pylori*. Los indicadores sensibles y precisos empleados por Bergamaschi y cols.⁸⁴ tales como la medida del cociente ferritina/transferrina, la medición de los niveles séricos de interferón gama (IFN- γ) y otros marcadores de inflamación crónica, podrían facilitar el diagnóstico diferencial y la identificación de un proceso inflamatorio subyacente, lo que podría explicar la causa de la anemia y servir de guía hacia un tratamiento efectivo.

4. Metabolismo Óseo y Densidad de Minerales Óseos en Enfermedad Celíaca

La asociación de enfermedad celíaca con trastornos óseos metabólicos ha sido conocida aún previo al origen y tratamiento de la enfermedad celíaca; la osteomalacia, una enfermedad caracterizada por baja densidad mineral ósea (BMD), deformidades marcadas y raquitismo, ha sido descrita frecuentemente en la literatura médica; esta enfermedad afecta de forma preferente a niños con enfermedad celíaca⁸⁵, esta enfermedad rara vez forma parte de la presentación clínica habitual de la enfermedad celíaca en ellos⁸⁶. El desarrollo y disponibilidad del estudio sobre la densidad mineral ósea como técnica no invasiva ha confirmado la existencia de una clara relación entre una baja densidad mineral ósea (DMO) y la enfermedad celíaca. La determinación de la DMO se utiliza rutinariamente para pacientes celíacos adultos desde 2005⁸⁷. Actualmente, la enfermedad ósea metabólica sigue siendo una complicación significativa y común de la enfermedad celíaca determinada en el momento del diagnóstico, tanto en niños como en adultos. La presencia de una baja DMO conduce a un deterioro en la calidad de vida⁸⁸, agravado por sus complicaciones como son las fracturas frecuentes. Actualmente, una baja DMO constituye el primer criterio diagnóstico para el diagnóstico de osteoporosis, una enfermedad metabólica esquelética definida por daños en la microarquitectura ósea, incremento en la fragilidad ósea y susceptibilidad a la aparición de fracturas. La OMS establece un diagnóstico de osteoporosis cuando los valores de masa ósea son inferiores en -2.5 a la desviación estándar (DE) de la masa ósea máxima (es decir, el valor máximo de DMO en un adulto) y osteopenia cuando dichos valores se hallan entre -1 SD y -2.5 SD (Tabla 3).

Tabla 3. Criterios diagnósticos de Densidad Mineral Ósea (DMO) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para mujeres caucasoides postmenopáusicas

Diagnóstico	Criterios de DMO (T-score)
Normal	BMD T > -1 DE
Osteopenia o baja densidad ósea	DMO T < -1 DE y > -2.5 DE
Osteoporosis	DMO T < -2.5 DE
Osteoporosis severa	DMO T < -2.5 DE + fractura

T-score: comparación con valor DMO en población de referencia promedio. DE: Desviación estándar. DMO: densidad mineral ósea

La osteoporosis severa se asocia con un aumento de fracturas por fragilidad presente o pasada. Una baja DMO que define osteoporosis en niños y adolescentes, se define por una DMO menor a 2 desviaciones estándar (DE) inferior al valor medio ajustado por edad (Z-score < -2 DE)⁸⁹. La osteoporosis es similar a la enfermedad celíaca en lo referido a falta de diagnóstico y por lo tanto, se determina una prevalencia menor que la esperada. Se ha formulado la hipótesis de que la enfermedad celíaca podría explicar parte de la considerable variedad encontrada en las prevalencias de osteoporosis idiopática⁹⁰. No obstante, a pesar de los muchos estudios que existen sobre el tema, queda aún por dilucidar plenamente una descripción de cómo la enfermedad celíaca (un trastorno

primariamente digestivo) puede afectar el metabolismo óseo.

4.1. Prevalencia de la Osteoporosis entre Pacientes con Enfermedad Celíaca

Se estima que en el momento del diagnóstico, un tercio de los pacientes pediátricos presentan osteoporosis, un tercio osteopenia y solo el tercio restante de pacientes con enfermedad celíaca, presentan una DMO normal⁹¹. A pesar del hecho de que más de la mitad de los niños con enfermedad celíaca presentan una baja DMO en el momento del diagnóstico⁹², una vez que se instituye la dieta sin gluten la mayoría de niños con enfermedad celíaca recuperan su curva de crecimiento de altura-peso y aceleran su tasa de mineralización ósea de modo que la mayoría alcanza su masa ósea máxima normal, para cuando haya finalizado el crecimiento óseo⁹³. El principal problema surge cuando se diagnostica la enfermedad celíaca durante la edad adulta, una vez que el crecimiento óseo se ha completado y se ha alcanzado la masa ósea máxima⁹⁴. La prevalencia de osteoporosis en pacientes adultos con enfermedad celíaca es el doble que la de la población no afectada, del mismo grupo de edad⁹⁵. La prevalencia promedio de baja DMO, entre pacientes celíacos adultos, en contraste con la población general, es de alrededor de un 40%. En algunas series de pacientes con enfermedad celíaca, esta prevalencia ascendió hasta el 75%⁹⁶. Esta baja DMO también afecta a pacientes que presentan dermatitis herpetiforme⁹⁷.

Se ha demostrado la presencia de baja DMO tanto en pacientes celíacos con síntomas clásicos⁹⁸, como en pacientes con manifestaciones subclínicas⁹⁹ e incluso entre pacientes con enfermedad celíaca asintomática^{100,101}. Por lo tanto, el tipo de síntomas relacionados con la enfermedad celíaca no ayuda a predecir la presencia o ausencia de una DMO baja y justifica los intentos de llegar a un diagnóstico preciso realizando los estudios apropiados.

Ya que la osteoporosis es una complicación común en la enfermedad celíaca resulta pertinente considerar la posibilidad de realizar un cribado, en busca de enfermedad celíaca, en pacientes con osteoporosis idiopática. A pesar de que no existe un consenso definitivo, el peso de la opinión está a favor de la realización de una estrategia de cribado, ya que la frecuencia de enfermedad celíaca es 10 veces mayor de lo esperado en pacientes con osteoporosis¹⁰². La frecuencia similar de enfermedad celíaca entre pacientes con diabetes mellitus tipo 1, justifica el cribado universal en esta enfermedad y con carácter anual. De hecho, el cribado para enfermedad celíaca mediante la determinación de anticuerpos específicos para EC, en pacientes con osteoporosis, ha conducido a un incremento en el diagnóstico de la EC que ha revelado una prevalencia entre 4¹⁰³ y 17¹⁰² veces más elevada en diversos estudios.

4.2. Etiología y Patogenia de la presencia de Baja DMO en la Enfermedad Celíaca

El origen de la osteoporosis en la enfermedad celíaca se ha asociado clásicamente con la presencia de malabsorción, causada por la atrofia vellositaria y una pobre absorción de calcio y vitamina D¹⁰⁴, así como con hiperparatiroidismo, aún en pacientes con niveles séricos normales de vitami-

na D¹⁰⁵. El bajo consumo de productos lácteos¹⁰⁶, junto con no alcanzar la masa ósea máxima teórica, el hallazgo de un grado más elevado de daño duodenal en muestras de biopsia¹⁰⁸ y un mayor retraso en el diagnóstico de enfermedad celíaca,¹⁰⁹ también han sido directamente relacionados con la presencia de una baja DMO encontrada en pacientes celíacos.

La deficiencia de vitamina D es común entre pacientes con enfermedad celíaca, aunque no existen cambios en la expresión de los receptores de vitamina D¹¹⁰ ni un mayor número de mutaciones de los genes receptores que interfieren con el metabolismo de esta vitamina¹¹¹. La ingesta restringida de lácteos podría aumentar la deficiencia de vitamina D; de hecho, la intolerancia a la lactosa no es muy frecuente en pacientes celíacos y se estima se sitúa en torno a un 10%, pero puede elevarse hasta un 50% en presencia de síntomas evidentes de malabsorción¹¹². No obstante, se debe tener en cuenta que la dieta solo proporciona de un 5-10% de las necesidades de vitamina D ya que el resto se obtiene mediante exposición a la luz solar. Los estudios llevados a cabo en pacientes celíacos no han podido establecer una asociación clara entre los niveles séricos de vitamina D y la presencia de alteraciones óseas, como se ha podido confirmar en algunos trabajos realizados en la enfermedad intestinal inflamatoria¹¹³.

Los déficits en otras vitaminas liposolubles (A, K y E) e hidrosolubles (C, B-12, ácido fólico y B-6) o minerales (tales como hierro, calcio, fósforo, cobre, zinc, boro y flúor), que son necesarios para el metabolismo óseo normal^{112,114}, pueden ser el resultado de la presencia de una malabsorción intestinal y contribuir al hallazgo de una DMO deficiente.

Los pacientes celíacos que siguen una dieta sin gluten frecuentemente presentan niveles séricos elevados de hormona paratiroidea (PTH)¹¹⁴. El hiperparatiroidismo puede explicar la mayor prevalencia de pérdida ósea en el esqueleto periférico en contraste con el esqueleto axial en enfermedad celíaca¹¹⁵.

El descenso de los niveles séricos tanto del factor de crecimiento similar a la Insulina 1 (IGF-1), también conocido como de la Somatomedina C, ¹¹⁶ constituyen un factor hormonal adicional, que aparece en pacientes con menor masa ósea. Este nivel reducido se asoció con menores niveles séricos de zinc¹¹⁷, que se normalizan posteriormente a la instauración de una dieta sin gluten.

La inflamación crónica origina cambios en el metabolismo óseo mediante la acción de varias citoquinas proinflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la IL-1 beta, la IL-6 o el interferón gamma. Las citoquinas relacionadas con el TNF incluyen el activador de receptores del factor nuclear kappa-B (RANK), su ligando (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG). El RANKL es segregado por los linfocitos T activados y es una molécula clave en la regulación del metabolismo óseo. El RANKL ha mostrado ser un factor de supervivencia, cuya función primaria es la activación de los osteoclastos, que son las células involucradas en la reabsorción ósea¹¹⁸.

Los niveles séricos de RANKL y OPG están elevados en los pacientes con enfermedad celíaca¹¹⁹. La relación OPG/RANKL está directamente asociada con un aumento de los niveles séricos de la IL-6 y de la masa ósea lumbar¹²⁰. Las mujeres adultas con enfermedad celíaca presentan un cociente OPG/RANKL significativamente inferior que los controles, a pesar de seguir una dieta sin

gluten; ello se correlaciona con una menor DMO lumbar¹²¹.

Finalmente, la etiología de la osteoporosis en la enfermedad celíaca es multifactorial y coincide por lo tanto, con otros factores compartidos con el resto de la población, tales como la historia familiar, la edad, la menopausia, el grado de actividad física, el consumo de tabaco, así como otros factores específicos, tales como la influencia genética, las deficiencias vitamínicas, los cambios hormonales y el proceso inflamatorio propiamente dicho.

Los años de exposición al gluten de la dieta antes del diagnóstico de enfermedad celíaca no parecen influir en el grado de la DMO de forma significativa, como tampoco parece hacerlo la presencia de menopausia precoz. Existen pocos datos sobre la influencia del género sobre la DMO, ya que la mayoría de los estudios, no presentan diferencias en este sentido. Otro factor asociado con la baja mineralización ósea es la existencia un bajo índice de masa corporal (IMC). Los pacientes con atrofia vellositaria persistente, a pesar de la correcta adherencia a la dieta sin gluten (enfermedad celíaca refractaria) son particularmente susceptibles a la presencia de osteoporosis, con una prevalencia del 58%, en contraste con un 22% encontrado en pacientes respondedores a una dieta sin gluten¹²².

4.3. Diagnóstico de Baja Densidad Mineral Ósea en la Enfermedad Celíaca

Todos los pacientes en quienes existe sospecha clínica de osteoporosis deberían someterse a un detallado estudio sobre su historial y un completo examen físico para tratar de identificar otros factores de riesgo y/o consecuencias asociadas. Se ha sugerido, que en el caso de la enfermedad celíaca, en la que todos los pacientes diagnosticados en su edad adulta deberían someterse periódicamente a estudios de determinación de su densidad ósea¹²³, ya que las radiografías convencionales no han resultado ser un método específico, ni sensible, para evaluar cambios en la masa ósea. No obstante, algunos estudios, en vista del bajo riesgo de fracturas óseas entre pacientes celíacos, han cuestionado la utilidad de los exámenes rutinarios de densidad ósea¹²⁴. Estudios recientes recomiendan realizar evaluaciones densitométricas en los pacientes celíacos diagnosticados en su edad adulta que presenten atrofia vellositaria en sus biopsias duodenales y/o resultados analíticos de laboratorio sugerentes de malnutrición o malabsorción, cualquiera que sean sus síntomas¹⁰⁸. El mayor beneficio de las exploraciones de densidad ósea consiste en determinar la existencia de osteoporosis y el grado de lesión, de modo que pueda indicarse un régimen de tratamiento. No obstante, ha surgido cierta controversia sobre el momento óptimo para efectuar el mejor momento de realizar determinaciones de la DMO en pacientes celíacos, ya sea en el momento del diagnóstico de enfermedad celíaca, o en un momento posterior a un período de seguimiento de la dieta sin gluten. Los niños celíacos presentan una gran recuperación ósea, posterior al inicio de una dieta sin gluten, de modo que no parece necesario realizar estudios posteriores hasta que haya finalizado su período de crecimiento.

4.4. Riesgo de Fracturas Óseas en pacientes con Enfermedad Celíaca

Debido al incremento en la prevalencia de osteoporosis, los pacientes celíacos presentan un elevado riesgo de padecer fracturas óseas, en contraste con la población no afectada de la misma edad y sexo. Hasta uno de cada cuatro pacientes adultos celíacos presentan antecedentes de fracturas^{125,126}, lo que conlleva un deterioro significativo en su calidad de vida.

Al igual que en otros aspectos de la relación entre la enfermedad celíaca y la osteoporosis, la cuantificación de los riesgos de fractura en diferentes estudios presenta resultados diferentes. Estas discrepancias se deben, a grandes rasgos, a la diferencia en la recogida de datos, procedentes principalmente del número de fracturas, cuestionarios o de ingresos hospitalarios por dicho motivo.

Es, por lo tanto, posible que la prevalencia de fracturas (vertebral, de caderas y en general) resulte subestimada en la población celíaca. Uno de los problemas comunes de los estudios de riesgo de fracturas es que carecen de una evaluación morfométrica apropiada de la columna vertebral, lo que infravalora el índice de fracturas en esa región¹²⁷ o no utilizar cuestionarios o métodos validados, tales como el índice FRAX® (*Fracture Risk Assessment Tool*, o “Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fracturas”) propuesto por la OMS¹²⁸⁻¹³⁰. Varios estudios han estimado la incidencia y prevalencia de fracturas óseas en pacientes celíacos¹³¹ (Tabla 4). Los resultados han sido resumidos en dos revisiones sistemáticas. La primera incluyó 20.955 pacientes celíacos, de los cuales 1.819 (8.7%) presentaron fracturas, frente a 96.777 controles con 5.955 de fracturas (6.1%), lo que representa una proporción de 1.43 mayor en los celíacos (intervalo de confianza (CI) del 95%, 1.15-1.78) con una heterogeneidad significativa entre los estudios¹³². La línea basal se asoció con un incremento del 30% (95% CI, a 4-50) en el riesgo de cualquier fractura y un incremento del 69% en el riesgo de fractura de cadera¹³⁶ (95% CI, 10-259).

Tabla 4. Estudios disponibles sobre los riesgos de fractura en pacientes adultos con Enfermedad Celíaca. Adaptado de Scott, 2000¹⁴².

Año y País	Celíacos (EC)	Diseño del estudio	Métodos diagnósticos	Fracturas	Riesgo de fractura
(Referencia)	Controles (C)				OR (95%CI)
2000	165EC-165C	Análisis retrospectivo transversal	Rayos X de energía dual	Columna Lumbar Periférica	3.5 (1.8-7.2)
Argentina ¹²⁷	Controles con síntomas digestivos		Densitometría		28 (0.7-11.5)
			Radiografías de columna vertebral		
2001	75 EC-75 C	Análisis retrospectivo transversal	Rayos X de energía dual	Cualquier ubicación	21% en EC vs. 3% en C
Reino Unido ¹³³	Controles emparejados por edad y género		Densitometría de columna lumbar y cuello femoral		

2002	1,021 EC-3,063 C	Registro de ingresos y altas de hospitales nacionales	Diagnósticos de fracturas en casos y controles en el mismo Registro Nacional	Cualquier	RRI 0.7 (0.45-1.09)
Dinamarca ¹³⁴	Controles apareados			Ubicación Rx lumbar distal Frac. de Colles	RRI 2.14 (0.70-6.57)
	Por edad y sexo			Cuello del fémur	RRI 2'00 (0.58-6.91)
					RRI 0.71 (0.27-1.89)
2003	244EC-161 C	Análisis de registros de población celiaca	Cuestionario de estilo de vida y salud general con preguntas específicas sobre historial de fracturas	Cualquier ubicación Antebrazo	1.05 (0.68-1.62)
Reino Unido ¹³⁵	Controles apareados por edad y sexo				1.21 (0.66-2.25)
2003	4,732 EC-23.620 C	Estudio sobre cohorte de población proveniente de base de datos	Registro codificado sobre fracturas en pacientes con EC y controles	Cualquier ubicación	HR 1.30 (1.16-1.46)
Reino Unido ¹²⁶	1.589 "incidentes" EC controles apareados por edad y género			Cadera	HR 1'90 (1.20-3.02)
				Ulna, radio	HR 1.77 (1.35-2.34)
2004	148 EC-292 C	Estudio transversal de Casos y Controles	Historia de fracturas basada en entrevistas con cuestionario predefinido	Cualquiera	5.2 (2.8-9.8) en EC clásica
Argentina ¹³⁶	Controles apareados con síntomas GI				17 (0.7-44) en EC asintomática
2005	383*-445C	Estudio transversal	Cuestionario detallado sobre historial de fracturas	Cualquier ubicación	1.51 (1.13-1.5)
Reino Unido ¹³⁷	*Mujeres celiacas de más de 50 años de edad				
2007	13.000 EC-6.500 C	Estudio transversal en cohortes de la población basados en registros de altas de los hospitales	Registros de la primera fractura documentada en cualquier localización	Cualquier localización	HR 1.4 (1.3-1.5)
Suecia ¹³⁸	4.819 adultos controles EC emparejados por edad y sexo			Cadera	HR 2.1 (1.8-2.4)
2008	83 EC-166 C	Cohorte retrospectiva Casos control retrospectivo	Historia Clínica con informe del radiólogo sobre localización y características de cada fractura	Todas las fracturas. Fracturas de cadera, columna vertebral o antebrazo distal que resulten de trauma mínimo o moderado en pacientes <35	2.0 (1.0-3.9)
EE.UU. ¹³⁹					
2011	265 EC-530 C	Cohorte retrospectiva	Cuestionario estándar sobre EC con historial de fracturas mediante entrevistas personales	Todas las fracturas	HR=1.78 (1.23-2.56)
Argentina ¹⁴⁰					(Previo al diagnóstico de EC)

2011	35 EC	Estudio sobre series de casos	Rayos X de energía dual	Todas las fracturas	Fracturas de baja densidad en 8/35 pacientes con EC; 22.8%
Finlandia ¹⁴¹	Pacientes con EC detectados mediante cribado		Densitometría de columna lumbar y cuello femoral		
	poblacional				
2012	40 pacientes con EC con diagnóstico de EC en edad adulta	Transversal prospectivo	Densitometría de rayos X de energía dual,	Riesgo de fractura de cadera	3,5 veces mayor en estadio Marsh 3 sobre los estadios Marsh 1-2
España ¹⁰⁸			Herramienta FRAX®	Riesgo de fractura osteoporótica mayor (lumbar, cuello femoral, antebrazo y hombro)	

EC: enfermedad celíaca; OR: odds ratio; RRI: incremento en el riesgo relativo; HR: cociente de riesgo; (95% CI), intervalo de confianza 95%.

Se determinó el riesgo de fractura en 10 años, estimado en el momento del diagnóstico de enfermedad celíaca mediante la herramienta FRAX® en un reciente estudio de investigación español¹⁰⁸. Se demostró un riesgo de fractura moderado, entre pacientes con atrofia vellositaria duodenal (estadio de Marsh 3), el cual fue 3.5 veces mayor que el observado en pacientes sin atrofia vellositaria (estadios de Marsh 1 ó 2). Más recientemente, un estudio sueco sobre cohortes determinó que la atrofia vellositaria persistente en biopsias de seguimiento es un factor predictivo para el riesgo de fracturas de cadera, pero no para fracturas en general, sin importar la edad de los pacientes¹⁴³. Los autores indicaron que la atrofia vellositaria persistente podría resultar en un índice de masa corporal reducido y en una reducción de su papel protector frente a caídas y traumatismos.

4.5. Tratamiento de la Baja Densidad Mineral Ósea en Pacientes con Enfermedad Celíaca

El tratamiento de primera línea para la osteoporosis en la enfermedad celíaca es la instauración de una dieta sin gluten. Muchos estudios han demostrado su efecto en la densidad ósea y la absorción de calcio, tanto en niños como en adultos¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. La mayor ganancia de masa ósea descrita en estos estudios se verifica durante el primer año de una dieta sin gluten. Conduce a un incremento de al menos el 5% en masa ósea al cabo de 1 año¹⁴⁴, aunque ello no es suficiente para que la masa ósea se normalice. En la práctica clínica, el grado de adherencia a la dieta sin gluten determina también la recuperación de la masa ósea, la cual se estima generalmente en alrededor de un 30%¹⁴⁷⁻¹⁴⁹. Adicionalmente, la tasa de recuperación es más elevada en pacientes celíacos jóvenes¹⁵⁰ que en los adultos¹⁴⁴. En general, ello se explica por el hecho de que el 97% de la masa ósea se acumula du-

rante las primeras dos décadas de vida y una plena recuperación es difícil después de ese período.

La pérdida de DMO asociada con la enfermedad celíaca pediátrica responde a la dieta sin gluten de forma continua y gradual, alcanzando una completa recuperación de la masa ósea, después de dos años de tratamiento¹⁵¹. Cuanto más temprano se inicie la dieta sin gluten, la respuesta será mejor y más rápida¹⁵². De hecho, se estima que un incremento en la DMO solo ocurre si se inicia la dieta sin gluten antes de los 25 años¹⁰⁴. La adherencia estricta a la dieta sin gluten es tan importante para el metabolismo óseo que la falta de mejoría en la DMO posterior a su introducción se ha asociado con la presencia de lesiones duodenales persistentes¹⁵³.

Además de la dieta sin gluten, debería asegurarse un consumo diario adecuado de calcio y vitamina D, ya que ambos son factores críticos para la adquisición y mantenimiento de una buena masa ósea. Los pacientes celíacos adultos sin tratamiento han presentado una reducción de 45% en la absorción de calcio seguida de una mejoría del 52%, al cabo de 6 meses del establecimiento de una dieta sin gluten¹⁰⁴. En cuanto a los niveles séricos de vitamina D, en el momento del diagnóstico menos de un 5% de los pacientes celíacos adultos españoles presentaron niveles normales. Se recomienda un aporte diario de 1.200-1.500 mg de calcio y de 400 U. de vitamina D3, como en todas las otras formas de osteoporosis. La adherencia al tratamiento con estos suplementos, así como a la dieta sin gluten, es un aspecto crucial del tratamiento, por lo que se debe mantener la motivación de los pacientes. De hecho, estos pacientes más comúnmente abandonarán el tratamiento con calcio y vitamina D, que debe tomarse diariamente, mientras que se adhieren correctamente a la terapia hormonal y bifosfonatos (que son administrados semanalmente). El tratamiento con fármacos está indicado en pacientes que no consiguen alcanzar los objetivos de recuperación de la masa ósea adecuada y no difieren de las pautas establecidas para otras causas de osteoporosis.

En estos casos, los bifosfonatos constituyen la terapia de elección. No obstante, por el momento no se dispone de datos suficientes acerca de la verdadera eficacia del tratamiento con bifosfonatos en la osteoporosis asociada con la enfermedad celíaca.

5. Trastornos Relacionados con el Gluten

5.1. Dermatitis Herpetiforme

La dermatitis herpetiforme fue descrita por primera vez en 1885, por el dermatólogo francés Louis Duhring¹⁵⁴. En algunos países aún se le conoce como enfermedad de Duhring¹⁵⁴. En 1966, Marks y cols. identificaron la presencia de alteraciones histológicas en el intestino delgado de estos pacientes, idénticas a las observadas en individuos con enfermedad celíaca¹⁵⁵.

Los pacientes presentan autoanticuerpos del tipo IgA inducidos por el gluten contra las transglutaminasas tisulares (tTG)-2 y tTG-3¹⁵⁶. Se considera que la dermatitis herpetiforme es la manifestación cutánea más característica de la intolerancia al gluten^{157,158}. El fundamento autoinmune se confirma por los hallazgos característicos de la presencia de depósitos de IgA y tTG en la unión

dermo-epidérmica. Su etiología es multifactorial y tiene un fundamento poligenético. La dermatitis herpetiforme es similar a la enfermedad celíaca asociada con una gran variedad de enfermedades autoinmunes, tales como la deficiencia de IgA, la diabetes mellitus tipo 1, el hipotiroidismo y la enfermedad de Addison¹⁵⁹⁻¹⁶¹.

Las lesiones cutáneas primarias aparecen como pápulas eritematosas, asociadas con vesículas llenas de líquido, en diferentes zonas del cuerpo, preferentemente en zonas de roce y distribuidas simétricamente sobre las superficies extensoras¹⁶². Ya que las vesículas inducen prurito, los pacientes suelen rascarse rompiendo las ampollas, liberando su contenido líquido y originando erosiones y abrasiones. Posteriormente, las pápulas se convierten en costras y se desprenden, dejando un área ligeramente hiperpigmentada. Predominan, por lo general, en adultos jóvenes, pero también pueden afectar a niños y adultos, especialmente en niños atópicos. La gran mayoría de los pacientes relacionan el inicio de los síntomas con los meses cálidos, desde inicios de la primavera hasta fines del verano^{163,164}.

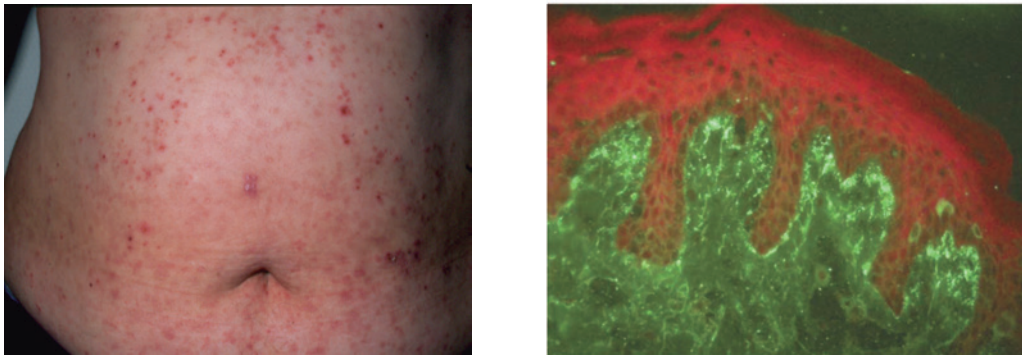


Figura 1. Múltiples lesiones costrosas, con signos de rascado, distribuidas por la pared abdominal, correspondientes a una Dermatitis Herpetiforme (DH) en una paciente celíaca adulta.

Figura 2. Inmunofluorescencia directa de biopsia cutánea en paciente con DH, mostrando depósitos granulares característicos de IgA a nivel de la membrana basal.

Las erupciones son habitualmente simétricas, afectan principalmente la extensión de la superficie de las extremidades superiores e inferiores, predominando en codos y rodillas, así como tobillos, cintura, cuello y glúteos. La cara, el cuero cabelludo y la ingle pueden también estar afectados. La localización de lesiones en las palmas de las manos, pero no en el dorso, es relativamente frecuente. También pueden aparecer en los dedos. Estas lesiones aparecen bajo la forma de almohadillas Petequiales. El aspecto de las lesiones adopta una apariencia muy similar en la gran mayoría de pacientes afectados, lo que facilita su diagnóstico¹⁶⁵. Es poco habitual que exista participación de las mucosas. El diagnóstico de dermatitis herpetiforme se establece con base en la clínica, histológica e inmunopatológicamente.

La mayoría de los pacientes con dermatitis herpetiforme no presentan manifestaciones intestinales, o bien son poco llamativas. Algunas veces los pacientes solo presentan anemia por deficiencia de hierro. Los varones son más afectados que las mujeres (1,5-2 por 1) en contraste con la enfermedad celíaca, que presenta un claro predominio por el sexo femenino (2-4 por 1)¹⁶⁶.

El hallazgo histológico más característico es la presencia de depósitos granulares de IgA localizados en las papilas de la dermis y a lo largo de la membrana basal, demostrable mediante inmunofluorescencia directa en las biopsias cutáneas. Estos acúmulos promueven una respuesta inflamatoria con infiltración de neutrófilos alrededor de las vesículas de las áreas afectadas¹⁶⁷. El fundamento inmunológico de su desarrollo está vinculado con la patogenia de la intolerancia al gluten en la enfermedad celíaca. El anticuerpo anti-tTG-3 es el principal auto-antígeno y se localiza en la piel de estos pacientes desencadenando una respuesta inflamatoria¹⁶⁸.

La asociación con marcadores genéticos HLA de clase II, principalmente el HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8, es la misma que se observa en enfermedad celíaca. Un estudio de asociación de todo el genoma (*genome-wide association study*, GWAS) en Estados Unidos, ha aportado evidencia estadística sugestiva para la asociación de dermatitis herpetiforme y colitis microscópica con SNPs en diferentes cromosomas como 3p21.31, 6q15, 6q25, 1q24.3 y 10p11.23¹⁶⁹.

El principal tratamiento de la dermatitis herpetiforme es la dieta sin gluten, la cual debe mantenerse de forma estricta y constante durante toda la vida. Las lesiones cutáneas desaparecen después de varias semanas de haber iniciado una dieta sin gluten. Algunos casos podrían requerir un breve tratamiento complementario con dapsona. Este fármaco tiene como diana la erupción cutánea, al inhibir la migración de neutrófilos y se utiliza hasta la completa desaparición de las lesiones cutáneas¹⁷⁰. Un estudio finlandés, llevado a cabo entre los años 1971 y 2010, sobre la tasa de mortalidad y causas de muerte en 476 pacientes consecutivos con dermatitis herpetiforme documentó una reducción significativa de la mortalidad para todas las causas y también para enfermedad cerebrovascular. Se redujo significativamente la tasa de mortalidad estandarizada para todas las causas de muerte siendo esta de 0.70 (95% CI: 0.55 a 0.87), similar en ambos sexos y fue igual en pacientes con dermatitis herpetiforme (0.73) sin atrofia vellositaria en el intestino delgado (0.77)¹⁷¹.

Los autores han sugerido que la adherencia estricta a la dieta sin gluten (el cuestionario documentó que un 97,7% de los pacientes con dermatitis herpetiforme se adhirió a la dieta sin gluten), una reducción en el consumo de tabaco y un control adecuado de la hipercolesterolemia, tuvieron un papel importante en el beneficio de salud observado.

5.2. Ataxia por Gluten y Fenotipos Neurológicos en Trastornos Relacionados

En el diagnóstico de ataxia por gluten se incluyen casos anteriormente conocidos como “ataxia esporádica idiopática” que acompañaban a los anticuerpos circulantes contra el gluten. Esta es un tipo de ataxia cerebelar causada por exposición al gluten en pacientes sensibles y puede ser una

complicación, tanto de la enfermedad celíaca como de otros trastornos relacionados con el gluten¹⁷². En los EE.UU. y Europa la ataxia por gluten puede presentarse en un 24% de los pacientes con ataxia cerebelosa¹⁷³ pero esta era considerada excepcional en Asia. Los neurólogos japoneses han demostrado recientemente que más de 10% de los pacientes de ataxia cerebelosa en Japón padecen ataxia por gluten¹⁷⁴.

La forma más común de presentación clínica es la ataxia cerebelar pura típica con trastornos del equilibrio y de la marcha junto con disartria asociada. Menos frecuentemente, se manifiesta como una forma de manifestaciones mioclónicas difusas, o focales. Puede estar acompañada por nistagmus y otros signos oculares en más de 70% de los casos. Por lo general empieza a manifestarse gradualmente y generalmente aparece en individuos mayores de 50 años, sin diferencia entre ambos géneros. Puede darse una enfermedad progresiva rápida, pero se presenta generalmente con una forma de evolución lenta, con un curso clínico estacionario y algunos episodios transitorios de agravamiento. En la mayoría de los casos, existe un historial previo de síntomas digestivos de características recurrentes; pero algunos pacientes no han sido diagnosticados previamente con enfermedad celíaca o sensibilidad al gluten no celíaca. En los pacientes con ataxia por gluten las imágenes de resonancia magnética del cerebro revelan la presencia de una atrofia cerebelosa moderada, principalmente afectando el cerebeloso. El grupo de Sheffield dirigido por el Dr. Hadjivassiliou fue el primero en describir este tipo de asociación y ha realizado importantes contribuciones en este campo, desde el año 1970 hasta la actualidad¹⁷⁵. El diagnóstico de la ataxia por gluten se confirma con la presencia de anticuerpos antigliadina (AGA)¹⁷⁶, así como con anti-tTG-2 y anti-tTG-6 cuando estén disponibles. Menos de 40% de los pacientes con ataxia por gluten, presentan anti-tTG-2 IgA positiva. Al combinarse con la anti-tTG-6, puede alcanzar una positividad de 85%¹⁷⁵. Se han identificado autoanticuerpos para tTG-6 en ataxia de mediación inmune en pacientes con sensibilidad al gluten, sugiriendo así un papel importante para la transglutaminasa 6 en neuronas corticales y cerebelosas^{177,178}. La ataxia por gluten presenta, ocasionalmente, un carácter familiar con varios familiares afectados de primer grado¹⁷⁹.

Por lo tanto, la ataxia por gluten, se considera una enfermedad autoinmune, caracterizada por daño cerebeloso, principalmente localizado a nivel de las células de Purkinje¹⁸⁰, lo que genera la ataxia. Se ha determinado que existe una reactividad cruzada entre antígenos ubicados en las células de Purkinje y con presencia de anticuerpos circulantes relacionados con el gluten. Los depósitos no solo están confinados en el cerebelo, sino también en el tronco cerebral y la médula espinal.

Estos pacientes deben ser tratados con una estricta dieta sin gluten de por vida. Alrededor del año de iniciar la dieta sin gluten, la estabilización o mejoría en los signos clínicos de ataxia es un buen indicador o confirmación de que el paciente efectivamente padece de ataxia por gluten. El grado de respuesta depende claramente del tiempo transcurrido entre la manifestación de la ataxia y el inicio de la dieta sin gluten. La mejoría es menos favorable si se inicia la dieta sin gluten después de los primeros seis meses posteriores del diagnóstico.

Es importante recordar que la deficiencia nutricional y la autoinmunidad coexistentes, pueden

causar también disfunción neurológica en la enfermedad celíaca. Se ha encontrado una gran variedad de fenotipos neurológicos con diferentes etiologías en 68 pacientes con enfermedad celíaca o enfermedad no celíaca, AGA positiva, en un lapso de 10 años (2002-2012): ataxia cerebelar, neuropatía, demencia, mieloneuropatía, enfermedad autoinmune, deficiencias de vitamina E, folato o cobre, trastornos genéticos, síndrome metabólico o tóxico, entre otros. Los autores concluyeron que la exposición al gluten puede producir disfunción neurológica incluso en aquellos pacientes sin enfermedad celíaca establecida¹⁸¹.

6. Enfermedades Asociadas

6.1. Enfermedad Celíaca y Diabetes Mellitus Tipo-1

La asociación entre diabetes mellitus tipo 1 y EC se ha conocido desde la década de 1960. Las primeras descripciones en adultos proceden de los Estados Unidos por Ellenberg y Bookman en 1960¹⁸². Vinnik y cols.¹⁸³ y Green y cols. en 1962¹⁸⁴, todos citados por Wruble y Kalser¹⁸⁵, quienes también observaron que la esteatorrea diabética no es habitual, pero es una manifestación más intensa de diarrea diabética. La cantidad de grasa fecal está significativamente más elevada que la observada en casos de enfermedad celíaca aislada. De acuerdo con Wruble y Kalser, Thompson observó 2 casos de diabetes entre 119 pacientes con enfermedad celíaca (1.7%) y observaron también un incremento en la incidencia de diabetes, en familiares de pacientes con enfermedad celíaca¹⁸⁶. No obstante, Carter y cols. no pudieron confirmar la asociación familiar entre diabetes mellitus y enfermedad celíaca¹⁸⁷.

En niños, los primeros casos con enfermedad celíaca y diabetes mellitus tipo 1 asociada fueron comunicados en 1969¹⁸⁸⁻¹⁹⁰.

Un estudio de seguimiento longitudinal controlado de 10 años de duración llevado a cabo en 335 pacientes celíacos adultos diagnosticados entre 1980-90, comparado con individuos control con varios síntomas gastrointestinales apareados por edad y género, determinó una elevada prevalencia de enfermedades endocrinas en pacientes con enfermedad celíaca (11.9% en pacientes, frente a 4.3% en el grupo de control, $p < 0.003$)^{191,192}. Más recientemente, otros investigadores encontraron una mayor prevalencia de 5.4%-7.4% de diabetes mellitus tipo 1 en pacientes con enfermedad celíaca^{71,193}.

Esta elevada prevalencia de la asociación entre ambas enfermedades puede explicarse parcialmente por el hecho de que comparten marcadores comunes para susceptibilidad genética dentro y fuera del sistema HLA. El alelo HLA-DQB1*0201 (parte del heterodímero HLA-DQ2) se hallaba presente en 17 de 18 pacientes (94%) para ambas enfermedades asociadas en Finlandia¹⁹⁴. Debería tenerse en cuenta el hecho de que durante un estudio de cribado, la mayoría de los niños no se quejaron de síntomas digestivos. No obstante, muchos presentaron retraso en el crecimiento y otros signos o síntomas de enfermedad celíaca, tales como retraso en la pubertad, hipertransaminasemia, defectos del esmalte dental y/o deficiencia crónica de hierro. Estudios recientes de

asociación en todo el genoma (GWAS) hallaron genes adicionales que son compartidos por la enfermedad celíaca y la diabetes mellitus tipo 1. Ambas enfermedades son poligénicas y su susceptibilidad está determinada por la presencia de varios loci comunes en diferentes cromosomas. Ya que ambas son enfermedades están mediadas por células T, los genes que regulan la respuesta inmune, probablemente son compartidos y explican su asociación familiar¹⁹⁹⁻²⁰².

El diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 1 se realiza en un 90% de los pacientes antes de que se confirme el de la enfermedad celíaca¹⁹¹. Los pacientes con diabetes mellitus y síntomas asociados con enfermedad celíaca que siguen una dieta sin gluten presentan una clara mejoría clínica en términos globales. En niños a menudo se observa un incremento en la tasa de crecimiento y una elevación en los niveles de hemoglobina. Existe una mejora en el control de la diabetes mellitus, tal y como lo sustenta la reducción en episodios hipoglucémicos y la disminución de las necesidades diarias de insulina^{192,203}.

Más del 5% de pacientes con diabetes mellitus tipo 1, también presentan enfermedad celíaca confirmada mediante características histopatológicas en muestras de biopsia duodenal y respuesta a la dieta sin gluten. Esta fuerte asociación entre ambas enfermedades apoya la conveniencia de la realización del cribado sistemático para enfermedad celíaca en pacientes con diabetes dependiente de insulina (DM-1). Las estrategias para seguimiento incluyen determinaciones serológicas periódicas para anticuerpos específicos, inicialmente en el momento del diagnóstico, repetidas cada seis meses durante el primer año y repetidas, por lo menos, anualmente durante cinco o más años. Pacientes con pruebas serológicas específicas positivas y presencia de marcadores de susceptibilidad genética (HLA-DQ2 y/o -DQ8) necesitan la realización de biopsias duodenales para confirmar el diagnóstico de EC. Aunque existen muchas guías clínicas que recomiendan la realización del cribado sistemático de EC, en particular en niños, adolescentes y adultos jóvenes, su aplicación en la práctica clínica no ha llegado a lograr el nivel deseado de rendimiento²⁰⁴⁻²⁰⁶. La *American Gastroenterological Association* (Asociación Gastroenterológica Americana) no recomienda realizar cribado en todos los casos de diabetes mellitus tipo 1, ya que quienes carecen de síntomas no se sienten motivados a seguir la dieta sin gluten y se desconoce el curso natural de la enfermedad celíaca asintomática²⁰⁷.

Adicionalmente, no hay disponibilidad de una técnica serológica ideal para el cribado. Las mejores, por el momento, se basan en la determinación de los anticuerpos contra la tTG y los anticuerpos anti-endomisio (EmA). El principal problema es que las pruebas para anticuerpos específicos son muy sensibles (80-90%) únicamente en presencia de atrofia vellositaria, pero tienen baja sensibilidad diagnóstica (10-30%) en pacientes celíacos con tipos de Marsh 1 y 2. Los anticuerpos anti-gliadina (AGA) han sido virtualmente abandonados para el diagnóstico y cribado de enfermedad celíaca, ya que poseen una baja sensibilidad y especificidad^{208,209}.

A pesar de estos problemas, el coste económico de establecer un programa de cribado para pacientes celíacos, con diabetes mellitus tipo 1, es moderado. Así estimando que la prevalencia promedio de la diabetes mellitus es del 0,4% en población general, un hospital que proporciona servicios

para una población de 200.000 personas debería realizar cribado solo a 800 pacientes. Una determinación de anticuerpos tTG cuesta entre 5 a 8 euros. Los casos positivos tendrían que someterse a endoscopia con toma de biopsias duodenales. El coste promedio de este procedimiento es de 300 euros por paciente. Actualmente, por lo tanto, puede concluirse que, en hospitales bien equipados, los costos del cribado son aceptables y debería recomendarse en casos sintomáticos que sugieren la presencia de enfermedad celíaca. En estas situaciones, un diagnóstico precoz de enfermedad celíaca prevendrá una serie de gastos innecesarios, con menos incomodidades para el paciente a largo plazo y ayudará a la prevención de osteoporosis y posible malignidad en etapas posteriores. Un reciente meta-análisis estudió la prevalencia de enfermedad celíaca en 26,605 pacientes con diabetes mellitus tipo 1 en diferentes países. La prevalencia media de enfermedad celíaca confirmada mediante biopsia fue del 6% (95% CI: 5-6.9%). No obstante, se observó una gran heterogeneidad. En adultos con diabetes mellitus tipo 1, la prevalencia fue del 27%. En poblaciones mixtas con pacientes diabéticos tanto adultos como niños, la prevalencia fue del 4.7% y la prevalencia de niños con diabetes mellitus fue 6.2% ($p < 0001$). Más de uno de cada veinte pacientes con diabetes tipo 1 presentaron enfermedad celíaca confirmada. Los autores concluyeron que esta prevalencia es suficientemente elevada para motivar la realización de un cribado sistemático para enfermedad celíaca entre pacientes con diabetes mellitus tipo 1²⁰⁵.

Un estudio sueco ha determinado que el gen de clase II trans-activador (CIITA, 16p13) del complejo mayor de histocompatibilidad está asociado con la enfermedad celíaca y la diabetes mellitus tipo 1 en familias y su frecuencia depende de la edad²⁰⁰.

Ello sugiere que avances en el genoma humano y la identificación de genes reguladores de la respuesta inmune pueden ayudar a definir mejor e identificar la heterogeneidad de observaciones clínicas en ambas enfermedades.

6.2. Enfermedades Tiroideas y Enfermedad Celíaca

Se ha observado que la enfermedad celíaca está presente en una tasa más elevada en pacientes con enfermedades tiroideas de base autoinmune (enfermedad de Graves y tiroiditis de Hashimoto) con una prevalencia que oscila entre el 2 y el 7%²¹⁰⁻²¹³. Se han hecho observaciones similares en pacientes celíacos en quienes los signos serológicos de enfermedad tiroidea autoinmune estaban presentes hasta en un 26%. La disfunción tiroidea se detectó hasta en el 10% de los casos y se estimó que el riesgo de enfermedad tiroidea, es tres veces más elevado en relación con los controles²¹⁴⁻²¹⁷.

Se ha descrito que los individuos celíacos que siguen una dieta sin gluten aún podrían desarrollar problemas tiroideos autoinmunes, lo que sugiere que abandonar el gluten no los protege por completo de la enfermedad tiroidea^{218,218}. Por el contrario, en otros estudios se ha publicado la presencia de una reducción en los títulos de los anticuerpos tiroideos después de 2 o 3 años de dieta sin gluten²²⁰ o la normalización de la función tiroidea posterior a 1 año de adherencia a la dieta sin gluten²²¹. Esta diferencia en los resultados puede depender de una mayor duración de

la dieta sin gluten en pacientes tratados²²². Los autores evaluaron prospectivamente la presencia de la autoinmunidad tiroidea en niños y adolescentes con enfermedad celíaca quienes siguen una dieta sin gluten. Después de un seguimiento de 2 años, se observó un incremento de 7% de la autoinmunidad tiroidea basada en L-tiroxina en pacientes con enfermedad celíaca. Aparentemente, la autoinmunidad tiroidea no es más frecuente en pacientes pediátricos y adolescentes con enfermedad celíaca quienes siguen una dieta sin gluten que entre los del grupo control. Ya que su desarrollo clínico no parece tener impacto sobre el crecimiento, los autores concluyeron que un programa a largo plazo para cribado en búsqueda de enfermedad tiroidea, puede no ser necesario para todos los pacientes con enfermedad celíaca, que sigan una dieta sin gluten, pero podría serlo para aquellos en quienes exista sospecha de enfermedad tiroidea²²².

Se ha descrito ampliamente un aumento de la prevalencia de enfermedad celíaca, trastornos tiroideos autoinmunes y diabetes mellitus tipo 1²²³. No obstante, los autores también concluyen que a ciertos grupos de pacientes, tales como aquellos con enfermedades autoinmunes, podría ofrecérseles cribado, aunque la búsqueda activa de casos puede ser la opción más prudente en la mayoría de las situaciones clínicas. En estos casos, tales asociaciones podrían generar efectos adversos sobre el crecimiento, metabolismo y fertilidad, por lo que es necesaria la detección temprana para prevenir las complicaciones secundarias de estos trastornos.

La coexistencia de la enfermedad celíaca y la enfermedad tiroidea autoinmune ha sido explicada mediante varios mecanismos, tales como la predisposición genética y la asociación de ambas enfermedades con el gen que codifica el antígeno 4, asociado con los linfocitos T citotóxicos, y que confiere susceptibilidad para la autoinmunidad tiroidea. También se ha demostrado que los anticuerpos tTG-2 IgA reaccionan con el tejido tiroideo y esta asociación podría contribuir a la aparición y desarrollo de la enfermedad tiroidea, en pacientes enfermedad celíaca²²⁴.

7. Malignidad Asociada con Enfermedad Celíaca

Se ha demostrado que la dieta sin gluten es un tratamiento eficiente para la gran mayoría de los pacientes celíacos, lo que conduce a la normalización de los trastornos clínicos y bioquímicos con desaparición de los cambios inflamatorios de la mucosa del intestino delgado y la restauración de la arquitectura vellositaria normal. No obstante, muchos pacientes celíacos son diagnosticados con un importante retraso (de 10 a 20 años de media) antes de recibir un tratamiento de dieta sin gluten. Adicionalmente, el tratamiento de la enfermedad celíaca mediante el seguimiento estricto de una dieta sin gluten para toda la vida es difícil de mantener de manera cabal y se ha descrito una baja tasa de estricta adherencia, de cerca del 30%²²⁵⁻²²⁷.

También debe considerarse la frecuente presencia de contaminaciones cruzadas por gluten en pacientes con síntomas persistentes y/o atrofia vellositaria^{228,229}. Estos factores contribuyen a la presencia de una inflamación persistente a nivel duodenal, con la consiguiente malabsorción crónica de micronutrientes y un incremento del riesgo de infección, lo que podría explicar un exceso de mortalidad y un mayor riesgo de malignidad en la población celíaca^{230,231}. La asociación de en-

fermedad celíaca con un incremento en el riesgo de diversos tumores malignos ha sido repetidamente descrita en la literatura médica de las últimas décadas. Esta asociación es particularmente clara en el caso de un tipo específico de linfoma no Hodgkin, el linfoma de células T asociado con enteropatía, el cual se considera como una de las complicaciones establecidas de la enfermedad celíaca²³². No obstante, existe controversia sobre el incremento en el riesgo de otras neoplasias en pacientes con enfermedad celíaca, incluyendo diversos tumores sólidos.

7.1. Riesgo Global de Tumores Malignos en Pacientes con Enfermedad Celíaca

Se ha evaluado el riesgo de malignidad en pacientes con enfermedad celíaca en varios grandes estudios epidemiológicos llevados a cabo en poblaciones de Europa y Norte América^{232,235}, así como disponemos de una revisión sistemática con meta-análisis de tres estudios prospectivos que incluyeron un total de 35.582 individuos²³⁶. De acuerdo con los autores, el riesgo global de presentar cualquier neoplasia en pacientes con enfermedad celíaca no tuvo un claro incremento, en contraste con poblaciones de control con un riesgo relativo agrupado de 1.07 (IC 95% : 0.89-1.29). En este meta-análisis no se observaron sesgos de heterogeneidad significativos. A pesar de que en estos estudios los autores no hayan podido determinar que los pacientes celíacos presentan un riesgo de mortalidad levemente incrementado, no se deben considerar estos resultados como definitivos²³⁶.

7.2. Tumores Linfoproliferativos del Intestino Delgado

Varios estudios basados en población han hallado repetidamente un incremento de 2 a 6 veces en el riesgo de presentar tumores malignos de tipo linfoproliferativo del intestino delgado en la enfermedad celíaca²³⁷, particularmente debido a linfoma no Hodgkin. Un meta-análisis reciente que resume los resultados de una cohorte de ocho individuos y estudios caso-control ha estimado un riesgo relativo agrupado de 2,75 (IC 95% : 2.0 a 3.78) para esta neoplasia en pacientes celíacos²³⁶.

El riesgo relativo más elevado de linfoma no Hodgkin en enfermedad celíaca ha sido descrito para el linfoma no Hodgkin de células T, un subtipo particular repetidamente relacionado con la enfermedad celíaca. Las estimaciones de riesgo para el linfoma no Hodgkin de células T han variado marcadamente en la literatura y han sido resumidas con un riesgo relativo agrupado de 15.84 (IC 95%:7.85 a 31.94) en un reciente meta-análisis²³⁶.

El incremento en el riesgo del desarrollo de tumoraciones linfoproliferativas en pacientes con enfermedad celíaca ha sido directamente relacionado con la presencia mantenida de inflamación crónica. Un estudio de cohortes retrospectivo multicéntrico demostró que el riesgo de la aparición de linfomas del intestino delgado en enfermedad celíaca dependía de la histopatología del intestino delgado, y los pacientes con atrofia vellositaria (estadio de Marsh 3) presentaban un riesgo significativamente mayor de linfoma que aquellos pacientes celíacos con estadios de Marsh 1 a 2, o Marsh 0, con serología celíaca negativa²³⁴. El grado de inflamación es por lo tanto crucial, para el desarrollo de tumores linfoproliferativos en la enfermedad celíaca, como se ha demostrado re-

cientemente también para la artritis reumatoide, en la que se demostró que la causa subyacente del desarrollo de neoplasias es la actividad de la enfermedad y los tratamientos inmunosupresores²³⁸.

El papel protector de la dieta sin gluten al reducir el desarrollo de tumores malignos en celíacos por lo general aparece después de 5 años del comienzo de la dieta sin gluten. Un estudio determinó un riesgo general de tumoraciones linfoproliferativas de 2.82 (IC-95% : 2.36-3.37) la cuales se redujeron a 2.25 al cabo de 1 a 5 años de seguimiento del diagnóstico de enfermedad celíaca, hasta descender al 1.98 una vez transcurridos más de 5 años de seguimiento²³⁴.

Por otro lado, pacientes con enfermedad celíaca y tumores linfoproliferativos presentan un riesgo más elevado de muerte en contraste con individuos que presentan solo malignidad linfoproliferativa. El incremento en la mortalidad se observa durante el primer año posterior al diagnóstico de malignidades linfoproliferativas en pacientes con enfermedad celíaca que ha sido relacionado con el predominio de linfomas tipo T, no Hodgkin en dicha población. Por lo tanto, no existe evidencia de que enfermedad celíaca coexistente influya de forma clara sobre la supervivencia de individuos con tumores linfoproliferativos²⁴⁰.

7.3. Riesgo de Adenocarcinoma del Intestino Delgado en Pacientes con Enfermedad Celíaca

Los tumores malignos del intestino delgado son neoplasias muy poco frecuentes que representan solo un 3% de todos los tumores gastrointestinales. Aproximadamente un 25% de ellos son adenocarcinomas del intestino delgado. Los factores de riesgo identificados para la aparición de adenocarcinomas del intestino delgado incluyen la enfermedad de Crohn, la enfermedad celíaca y los síndromes de poliposis genética²⁴¹. Desde la primera descripción en 1985 sobre la asociación entre adenocarcinomas del intestino delgado y enfermedad celíaca, se han descrito más casos²⁴³. La mayor parte de los estudios epidemiológicos basados en población han demostrado que, aunque muy poco frecuentes, la incidencia de adenocarcinomas del intestino delgado en la enfermedad celíaca ha experimentado un aumento de 4 a 11 veces, al compararlo con poblaciones controles^{233,235,244}. No existieron diferencias entre sexos²³⁵. En un estudio finlandés de 30 años de duración, basado en población, no se detectó incremento en la prevalencia de carcinomas del intestino delgado, posiblemente debido a la rareza global de esta neoplasia. En este estudio, el linfoma no Hodgkin se encontró con una mayor frecuencia en pacientes con enfermedad celíaca no diagnosticada o pobremente tratada²⁴⁵.

7.4. Cáncer de Colon y Enfermedad Celíaca

El riesgo de cáncer colorrectal entre pacientes con enfermedad celíaca ha sido evaluado en varios estudios publicados durante la última década. En un estudio sobre este tema, se evaluó específicamente la prevalencia de neoplasia colorrectal (incluyendo adenomas y carcinomas tubulovelloso) en pacientes adultos con enfermedad celíaca que presentaban anemia por deficiencia de hierro o alteración del hábito intestinal²⁴⁶. Su prevalencia no fue superior a la de pacientes no celíacos, con la misma tumoración. En un estudio paralelo retrospectivo y basado en población,

se evaluó la incidencia de cáncer colorrectal en pacientes suecos hospitalizados con enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme²³³. Los autores concluyeron que el riesgo de cáncer colorrectal presentó un leve incremento, principalmente en la tasa de incidencia estandarizada de colon ascendente y transversal que fue de 1.9 (IC 95%: 1.2-2.8) en el grupo de pacientes con enfermedad celíaca, pero no en pacientes con dermatitis herpetiforme. De forma llamativa, no se detectó un incremento en el riesgo de aparición de cáncer de recto para ambas enfermedades, relacionadas con el gluten. Un estudio reciente basado en población también ha corroborado este incremento del riesgo de cáncer colorrectal en pacientes celíacos²³⁵, pero en un grado menor que lo descrito previamente (Riesgo relativo de 1.35(IC-95%: 1.13-1.58)²⁴⁷.

A diferencia de estos hallazgos, otros estudios llevados a cabo en otros países como Escocia²⁴⁴, Finlandia²⁴⁵, Estados Unidos²⁴⁸, Canadá²⁴⁹ y Argentina^{250, 252} no han encontrado un aumento en la incidencia de cáncer colorrectal en pacientes con enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme. De forma curiosa y hasta cierto punto sorprendente, un estudio reciente llevado a cabo en pacientes italianos ha encontrado que el riesgo de cáncer colorrectal fue menor en celíacos que en población general, con un riesgo relativo de 0.29 (IC-95%: 0.07- 0.45)²⁵².

La discrepancia observada entre los diferentes estudios epidemiológicos analizados, sobre un posible incremento en el riesgo de cáncer colorrectal en pacientes con enfermedad celíaca, al contrastarlos con las respectivas poblaciones de control puede ser atribuida a una diferente cumplimiento de la dieta y al trasfondo genético de la población estudiada. No obstante, el posible incremento en el riesgo de presentar cáncer colorrectal en población celíaca puede ser considerado marginal y no sustenta la posible toma de medidas preventivas específicas para dichos pacientes, diferentes de las establecidas para una población general con riesgo medio. De hecho, una investigación prospectiva dirigida a evaluar la eficacia de la colonoscopia de cribado para diagnosticar patologías adicionales en pacientes celíacos que siguen una dieta sin gluten con anemia por deficiencia de hierro recién diagnosticada, o diarrea persistente, no demostró un incremento en la prevalencia de neoplasias colónicas en relación con sujetos control²⁵³. Estos autores concluyeron indicando que, hasta que se disponga de nuevos datos, la colonoscopia únicamente debería considerarse para pacientes con enfermedad celíaca (mayores de 50 años que presenten anemia por deficiencia de hierro). Por el contrario, en pacientes con enfermedad celíaca y diarrea persistente (que siguen una dieta sin gluten) en ausencia de síntomas de alarma, una sigmoidoscopia flexible podría ser la investigación inicial para excluir la presencia de una colitis microscópica.

En cualquier caso, recientemente se ha puesto nuevamente de manifiesto la importancia de seguir una estricta dieta sin gluten en la prevención de neoplasia colorrectal. Una baja adherencia a la dieta sin gluten fue un factor independiente significativamente asociado con la presencia de adenomas colónicos (OR:6.78; IC-95%: 1.39-33.20)²⁵¹. Los pacientes que tuvieron una estricta adherencia a la dieta sin gluten presentaron una disminución mayor en el riesgo de presentar cáncer colorrectal²⁵².

7.5. Cáncer de Mama en Mujeres con Enfermedad Celíaca

Varios estudios de cohortes basadas en población han observado repetidamente una prevalencia menor de cáncer de mama en mujeres con enfermedad celíaca, en contraste con controles emparejados^{232,233,235,254-254}, con ratios SIR que oscilan entre 0.3 y 0.85. Esta reducción en el riesgo de cáncer de mama ha sido justificada con base en la presencia de una malnutrición y pérdida de peso, asociadas con deficiencia de nutrientes, tanto clínica como subclínica¹⁴⁵ y la presencia de varios trastornos reproductivos presentes frecuentemente en mujeres con enfermedad celíaca, entre los que se incluyen la menarquía retrasada, la menopausia precoz y la disfunción ovárica, entre otras²⁵⁷⁻²⁵⁹. Estas alteraciones contribuyen a limitar de por vida la exposición a hormonas sexuales implicada en la etiología del cáncer de mama.

Los estrógenos también poseen un papel importante en la aparición del cáncer de endometrio y ovárico, pero, en contraste con el cáncer de mama, no se han demostrado reducciones paralelas para estos últimos tipos de cáncer en mujeres con enfermedad celíaca. Los estudios disponibles presentan resultados contradictorios a éste respecto^{233,235,260}.

7.6. Cáncer Tiroideo y Enfermedad Celíaca

Se reconoce ampliamente la asociación de enfermedad celíaca con enfermedad tiroidea, especialmente con la tiroiditis autoinmune²⁶¹, como se ha descrito anteriormente en este capítulo. Algunos estudios han evaluado la asociación de enfermedad celíaca con el cáncer tiroideo papilar, lo que condiciona un aumento del riesgo en su aparición y desarrollo de 2.5²⁶² a 22.52 veces mayor²⁶³. Por el contrario, otros estudios de cohortes provenientes de Suecia no han podido confirmar dicha asociación^{233,264}.

7.7. Cáncer Esofágico

Se describió, en la literatura previa, un incremento en el riesgo del desarrollo del cáncer del esófago, especialmente de los carcinomas escamosos^{265,266}, pero estos hallazgos no han sido confirmados en otros estudios bien diseñados, publicados posteriormente^{235,245}.

7.8. Prevención del Cáncer en la Enfermedad Celíaca

Se ha postulado que el retraso diagnóstico de la enfermedad celíaca incrementa el riesgo de cáncer en general debido al prolongado período de exposición al gluten²⁶⁷. Este riesgo es más relevante para tipos de cáncer específicos del intestino, tales como el adenocarcinoma del intestino delgado y los linfomas no Hodgkin. Excepto para las tumoraciones de tipo linfoproliferativo, no existen datos definitivos que sustenten un incremento en el riesgo de cáncer en pacientes con enfermedad celíaca, por lo tanto, la vigilancia y las medidas preventivas para esta población, de forma generalizada, no se justifican actualmente. No obstante, se debe insistir sobre los beneficios de la dieta

sin gluten para reducir el riesgo global de cáncer. Durante muchos años se ha postulado que el seguimiento de una dieta sin gluten durante un período prolongado de tiempo, reduce el riesgo de cáncer en celíacos al nivel del de la población de control²³⁹.

En un estudio sobre el riesgo a largo plazo de presentar un cáncer en general realizado en Lothian, Escocia, se determinó que después de los 10-15 años del inicio de una dieta sin gluten los autores encontraron un incremento de un 40% en el riesgo de cualquier malignidad en pacientes con enfermedad celíaca en contraste con la población general (SIR = 1.41; IC95%: 1.09-1.78). El incremento en el riesgo general persistió hasta 15 años, más allá no se observó incremento en el riesgo general de malignidad, excepto en los casos de linfoma no Hodgkin que se mantuvo elevado más allá de los 15 años (SIR = 5.15; IC95%: 1.40-13.2)²⁴⁴. Se necesitan estudios adicionales para conocer si este riesgo se mantiene por encima de los 25 años de seguimiento.

Por el momento, las observaciones anteriores apoyan la clara recomendación a todos los pacientes con enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme de mantener una adherencia estricta a la dieta sin gluten para prevenir la aparición de tumores malignos en el seguimiento, especialmente linfomas.

Referencias

1. Rodrigo-Saez LR. *Celiac disease: an unique autoimmune model*. An R Acad Nac Med (Madr). 2008; 125: 91-100; discussion 100-4.
2. Hernandez L, Green PH. *Extraintestinal manifestations of celiac disease*. Current gastroenterology reports. 2006; 8: 383-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11894-006-0023-7>
PMid:16968605
3. Bai D, Brar P, Holleran S, Ramakrishnan R, Green PH. *Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men*. Scand J Gastroenterol. 2005; 40: 183-7.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520510011498>
PMid:15764149
4. Sategna-Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimo G, Mengozzi G. *Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders*. Gut. 2001; 49: 502-5.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.49.4.502>
PMid:11559646 PMCID:PMC1728461
5. Marchese A, Lovati E, Biagi F, Corazza GR. *Coeliac disease and type 1 diabetes mellitus: epidemiology, clinical implications and effects of gluten-free diet*. Endocrine. 2013; 43: 1-2.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12020-012-9758-0>
PMid:22820894
6. Greco D, Pisciotta M, Gambina F, Maggio F. *Celiac disease in subjects with type 1 diabetes mellitus: a prevalence study in western Sicily (Italy)*. Endocrine. 2013; 43: 108-11.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12020-012-9718-8>
PMid:22707396
7. Soyucen E, Yilmaz S, Celtik C, Vatansever U, Oner N, Karasalihoglu S. *Seroprevalence of autoimmune thyroiditis and celiac disease in children with insulin-dependent diabetes mellitus in the Thrace region of Turkey*. Turk J Gastroenterol. 2010; 21: 231-5.
PMid:20931425
8. Sattar N, Lazare F, Kacer M, Aguayo-Figueroa L, Desikan V, Garcia M. *Celiac disease in children, adolescents, and young adults with autoimmune thyroid disease*. J Pediatr. 2011; 158: 272-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.08.050>
PMid:20961564
9. Ergur AT, Ocal G, Berberoglu M et al. *Celiac disease and autoimmune thyroid disease in children with type 1 diabetes mellitus: clinical and HLA-genotyping results*. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2010; 2: 151-4.
<http://dx.doi.org/10.4274/jcrpe.v2i4.151>
PMid:21274314 PMCID:PMC3005689

10. D'Onofrio F, Miele L, Diaco M et al. *Sjogren's syndrome in a celiac patient: searching for environmental triggers*. Int J Immunopathol Pharmacol. 2006; 19: 445-448.
PMid:16831312
11. Reunala T, Salmi J, Karvonen J. *Dermatitis herpetiformis and celiac disease associated with Addison's disease*. Arch Dermatol. 1987; 123: 930-2.
<http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1987.01660310098023>
PMid:3606172
12. Vajro P, Paoletta G, Maggiore G, Giordano G. *Meta-analysis: pediatric celiac disease, cryptogenic hypertransaminasemia, and autoimmune hepatitis*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31828dc5c5>
PMCID:PMC3637398
13. Nastasio S, Sciveres M, Riva S, Filippeschi IP, Vajro P, Maggiore G. *Celiac disease-associated autoimmune hepatitis in childhood: long term response to treatment*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31828b1dfa>
PMid:23403438
14. Panetta F, Nobili V, Sartorelli MR, Papa RE, Ferretti F, Alterio A, Diamanti A. *Celiac disease in pediatric patients with autoimmune hepatitis: etiology, diagnosis, and management*. Paediatr Drugs. 2012; 14: 35-41.
<http://dx.doi.org/10.2165/11593150-000000000-00000>
PMid:22149550
15. Volta U, Rodrigo L, Granito A, Petrolini N, Muratori P, Muratori L et al. *Celiac disease in autoimmune cholestatic liver disorders*. Am J Gastroenterol. 2002; 97: 2609-13.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.06031.x>
PMid:12385447
16. Volta U, Caio G, Tovoli F, De Giorgio R. *Gut-liver axis: an immune link between celiac disease and primary biliary cirrhosis*. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2013; 7: 253-61.
<http://dx.doi.org/10.1586/egh.13.5>
PMid:23445234
17. Efe C, Wahlin S, Ozaslan E, Berlot AH, Purnak T, Muratori L, Quarneti C. *Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extrahepatic autoimmune diseases*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2012; 24: 531-4.
<http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e328350f95b>
PMid:22465972
18. Abenavoli L, Arena V, Giancotti F, Vecchio FM, Abenavoli S. *Celiac disease, primary biliary cirrhosis and helicobacter pylori infection: one link for three diseases*. Int J Immunopathol Pharmacol. 2010; 23: 1261-5.
PMid:21244776

19. Eyre S, Hinks A, Bowes J, Flynn E, Martin P, Wilson A. *Overlapping genetic susceptibility variants between three autoimmune disorders: rheumatoid arthritis, type 1 diabetes and coeliac disease*. *Arthritis Res Ther*. 2010; 12: R175.
<http://dx.doi.org/10.1186/ar3139>
PMid:20854658 PMCID:PMC2991006
20. Zhernakova A, Stahl EA, Trynka G, Raychaudhuri S, Festen EA, Franke L. *Meta-analysis of genome-wide association studies in celiac disease and rheumatoid arthritis identifies fourteen non-HLA shared loci*. *PLoS Genet*. 2011; 7: e1002004.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002004>
PMid:21383967 PMCID:PMC3044685
21. Peters U, Askling J, Gridley G, Ekblom A, Linet M. *Causes of death in patients with celiac disease in a population-based Swedish cohort*. *Arch Intern Med*. 2003; 163: 1566-72.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.163.13.1566>
PMid:12860579
22. Ventura A, Magazu G, Gerarduzzi T, Greco L. *Coeliac disease and the risk of autoimmune disorders*. *Gut*. 2002; 51: 897; author reply 897-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.51.6.897>
PMid:12427802 PMCID:PMC1773487
23. Cosnes J, Cellier C, Viola S, Colombel JF, Michaud L, Sarles J. *Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet*. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6: 753-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2007.12.022>
PMid:18255352
24. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. *Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis*. *Annu Rev Immunol*. 2011; 29: 493-525.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-040210-092915>
PMid:21219178
25. Jabri B, Kasarda DD, Green PH. *Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease*. *Immunol Rev*. 2005; 206: 219-31.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00294.x>
PMid:16048552
26. Koning F, Gilissen L, Wijmenga C. *Gluten: a two-edged sword*. *Immunopathogenesis of celiac disease*. Springer Semin Immunopathol. 2005; 27: 217-32.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-005-0203-9>
PMid:16091925
27. Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Celiac disease: an immunological jigsaw*. *Immunity*. 2012; 36: 907-19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>
PMid:22749351

28. Sollid LM, Jabri B. *Is celiac disease an autoimmune disorder?* Curr Opin Immunol. 2005; 17: 595-600.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2005.09.015>
PMid:16214317
29. Hmida NB, Ben Ahmed M, Moussa A, Rejeb MB, Said Y, Kourda N. *Impaired control of effector T cells by regulatory T cells: a clue to loss of oral tolerance and autoimmunity in celiac disease?* Am J Gastroenterol. 2012; 107: 604-11.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.397>
PMid:22108452
30. Arnson Y, Itzhaky D, Mosseri M, Barak V, Tzur B, Agmon-Levin N et al. *Vitamin D inflammatory cytokines and coronary events: a comprehensive review.* Clin Rev Allergy Immunol. 2013; 45: 236-47.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12016-013-8356-0>
PMid:23314982
31. Rashid M, Zarkadas M, Anca A, Limeback H. *Oral manifestations of celiac disease: a clinical guide for dentists.* J Mich Dent Assoc. 2011; 93: 42-6.
PMid:22073722
32. Costacurta M, Maturo P, Bartolino M, Docimo R. *Oral manifestations of coeliac disease: A clinical-statistic study.* Oral Implantol (Rome). 2010; 3: 12-9.
33. Lahteenoja H, Toivanen A, Viander M, Mäki M, Irjala K, Riih   I et al. *Oral mucosal changes in coeliac patients on a gluten-free diet.* Eur J Oral Sci. 1998; 106: 899-906.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.0909-8836.1998.eos106501.x>
34. Bardellini E, Amadori F, Ravelli A, Salemme M, Lonardi S, Villanacci V et al. *Histopathological findings in the oral mucosa of celiac patients.* Rev Esp Enferm Dig. 2014; 106: 86-91.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082014000200003>
PMid:24852733
35. Lahteenoja H, Toivanen A, Viander M, Raiha I, Rantala I, Syrjanen S et al. *Increase in T-cell subsets of oral mucosa: a late immune response in patients with treated coeliac disease?* Scand J Immunol. 2000; 52: 602-8.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3083.2000.00794.x>
PMid:11119267
36. Lahteenoja H, Maki M, Viander M, Raiha I, Vilja P, Rantala I et al. *Local challenge on oral mucosa with an alpha-gliadin related synthetic peptide in patients with celiac disease.* Am J Gastroenterol. 2000; 95: 2880-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9270\(00\)01049-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9270(00)01049-2)
37. Carroccio A, Campisi G, Iacono G, Iacono OL, Maresi E, DI Prima L et al. *Oral mucosa of coeliac disease patients produces antiendomysial and antitransglutaminase antibodies: the diagnostic usefulness of an in vitro culture system.* Aliment Pharmacol Ther. 2007; 25: 1471-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03335.x>
PMid:17539987

38. Bonamico M, Nenna R, Luparia RP, Perricone C, Montuori M, Lucantoni F et al. *Radioimmunological detection of anti-transglutaminase autoantibodies in human saliva: a useful test to monitor coeliac disease follow-up*. Aliment Pharmacol Ther. 2008; 28(3): 364-70.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03720.x>
PMid:19086333
39. Wray D. *Gluten-sensitive recurrent aphthous stomatitis*. Dig Dis Sci. 1981; 26: 737-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01316864>
PMid:7261838
40. Sedghizadeh PP, Shuler CF, Allen CM, Beck FM, Kalmar JR. *Celiac disease and recurrent aphthous stomatitis: a report and review of the literature*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94: 474-8.
<http://dx.doi.org/10.1067/moe.2002.127581>
PMid:12374923
41. Patial RK. *Recurrent aphthous ulcers in subclinical coeliac disease*. J Assoc Physicians India. 2003; 51: 80.
PMid:12693466
42. Admou B, Essaadouni L, Krati K, Zaher K, Sbihi M, Chabba L et al. *Atypical celiac disease: from recognizing to managing*. Gastroenterol Res Pract. 2012; 637187.
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/637187>
43. Cheng J, Malahias T, Brar P, Minaya MT, Green PH. *The association between celiac disease, dental enamel defects, and aphthous ulcers in a United States cohort*. J Clin Gastroenterol. 2010; 44: 191-4.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181ac9942>
PMid:19687752
44. Veloso FT, Saleiro JV. *Small-bowel changes in recurrent ulceration of the mouth*. Hepatogastroenterology. 1987; 34: 36-7.
PMid:3570141
45. Campisi G, Di LC, Carroccio A, Compilato D, Iacono G, Procaccini M et al. *Coeliac disease: oral ulcer prevalence, assessment of risk and association with gluten-free diet in children*. Dig Liver Dis. 2008; 40: 104-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2007.10.009>
PMid:18063428
46. Condo R, Costacurta M, Maturo P, Docimo R. *The dental age in the child with coeliac disease*. Eur J Paediatr Dent. 2011; 12: 184-8.
PMid:22077688
47. Rasmussen P, Espelid I. *Coeliac disease and dental malformation*. ASDC J Dent Child. 1980; 47: 190-2.
PMid:6929800

48. Aine L. *Dental enamel defects and dental maturity in children and adolescents with coeliac disease*. Proc. Finn.Dent.Soc. 1986; 82(3): 1-71.
PMid:3725749
49. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S et al. *Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005; 40: 1-19.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200501000-00001>
PMid:15625418
50. Munoz F, Del Rio N, Sonora C, Tiscornia I, Marco A, Hernández A. *Enamel defects associated with coeliac disease: putative role of antibodies against gliadin in pathogenesis*. Eur J Oral Sci. 2012; 120: 104-12.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0722.2012.00949.x>
Pmid:22409216
51. Fraser D, Nikiforuk G. *The etiology of enamel hypoplasia in children - a unifying concept*. J Int Assoc Dent Child. 2014; 13: 1-11.
52. Bossu M, Bartoli A, Orsini G, Luppino E, Polimeni A. *Enamel hypoplasia in coeliac children: a potential clinical marker of early diagnosis*. Eur J Paediatr Dent. 2007; 8: 31-7.
Pmid:17359212
53. Ventura A, Martelossi S. *Dental enamel defects and coeliac disease*. Arch.Dis Child. 1997; 77: 91.
<http://dx.doi.org/10.1136/ad.77.1.91>
54. Aine L. *Permanent tooth dental enamel defects leading to the diagnosis of coeliac disease*. Br.Dent.J. 1994; 177: 253-4.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.bdj.4808578>
PMid:7917634
55. Aine L, Maki M, Collin P, Keyriläinen O. *Dental enamel defects in celiac disease*. J Oral Pathol.Med. 1990; 19: 241-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.1990.tb00834.x>
PMid:2401959
56. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M et al. *Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010*. 2012; 380: 2163-96.
57. Avsar A, Kalayci AG. *The presence and distribution of dental enamel defects and caries in children with celiac disease*. Turk J Pediatr. 2008; 50: 45-50.
PMid:18365591
58. Usatine RP, Tinitigan M. *Diagnosis and treatment of lichen planus*. Am Fam Physician. 2011; 84: 53-60.
PMid:21766756

59. Alam F, Hamburger J. *Oral mucosal lichen planus in children*. Int J Paediatr Dent. 2001; 11: 209-14.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-263X.2001.00266.x>
PMid:11484471
60. Fortune F, Buchanan JA. *Oral lichen planus and coeliac disease*. Lancet. 1993; 341: 1154-5.
[http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)93175-Z](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(93)93175-Z)
61. Cigic L, Gavic L, Simunic M, Ardalic Z, Biocina-Lukenda D. *Increased prevalence of celiac disease in patients with oral lichen planus*. Clin Oral Investig. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00784-014-1288-0>
62. Reamy BV, Derby R, Bunt CW. *Common tongue conditions in primary care*. Am Fam Physician. 2010; 81: 627-34.
PMid:20187599
63. Erriu M, Canargiu F, Orru G, Garau V, Montaldo C. *Idiopathic atrophic glossitis as the only clinical sign for celiac disease diagnosis: a case report*. J Med Case Rep. 2012; 6: 185.
<http://dx.doi.org/10.1186/1752-1947-6-185>
PMid:22762365 PMCID:PMC3407713
64. Pastore L, Lo ML, Serpico R. *Atrophic glossitis leading to the diagnosis of celiac disease*. N Engl J Med. 2007; 356: 2547.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc070200>
PMid:17568041
65. Borchers AT, Naguwa SM, Keen CL, Gershwin ME. *Immunopathogenesis of Sjögren's syndrome*. Clin Rev Allergy Immunol. 2003; 25: 89-104.
<http://dx.doi.org/10.1385/CRIAI:25:1:89>
66. Szodoray P, Barta Z, Lakos G, Szakáll S, Zeher M. *Coeliac disease in Sjogren's syndrome-a study of 111 Hungarian patients*. Rheumatol Int. 2004; 24: 278-82.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00296-003-0360-x>
PMid:13680146
67. Roblin X, Helluwaert F, Bonaz B. *Celiac disease must be evaluated in patients with Sjögren syndrome*. Arch Intern Med. 2004; 164: 387.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.164.21.2387-b>
68. Baydoun A, Maakaron JE, Halawi H, Abou Rajal J, Taher AT. *Hematological manifestations of celiac disease*. Scand J Gastroenterol. 2012; 47: 1401-11.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2012.706828>
PMid:22861356

69. Ludvigsson JF, Neovius M, Hammarstrom L. *Association between IgA deficiency & other autoimmune conditions: a population-based matched cohort study.* J Clin Immunol. 2014; 34: 444-51.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10875-014-0009-4>
PMid:24584841
70. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. *Hematologic manifestations of celiac disease.* Blood. 2007; 109: 412-21.
<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-07-031104>
PMid:16973955 PMCID:PMC1785098
71. Bottaro G, Cataldo F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR. *The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an analysis on 1026 consecutive cases.* The American journal of gastroenterology. 1999; 94: 691-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9270\(98\)00819-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9270(98)00819-3)
72. Fernandez-Banares F, Monzon H, Forne M. *A short review of malabsorption and anemia.* World J Gastroenterol. 2009; 15: 4644-52.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.4644>
PMid:19787827 PMCID:PMC2754512
73. Mody RJ, Brown PI, Wechsler DS. *Refractory iron deficiency anemia as the primary clinical manifestation of celiac disease.* J Pediatr Hematol Oncol. 2003; 25: 169-72.
<http://dx.doi.org/10.1097/00043426-200302000-00018>
PMid:12571473
74. Corazza GR, Valentini RA, Andreani ML et al. *Subclinical coeliac disease is a frequent cause of iron-deficiency anaemia.* Scand.J Gastroenterol. 1995; 30: 153-6.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365529509093254>
PMid:7732338
75. Carroccio A, Iannitto E, Cavataio F, Montalto G, Tumminello M, Campagna P et al. *Sideropenic anemia and celiac disease: one study, two points of view.* Dig Dis Sci. 1998; 43: 673-8.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1018896015530>
PMid:9539667
76. Annibale B, Capurso G, Chistolini A, D'Ambra G, DiGiulio E, Monarca B et al. *Gastrointestinal causes of refractory iron deficiency anemia in patients without gastrointestinal symptoms.* Am J Med. 2001; 111: 439-45.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343\(01\)00883-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00883-X)
77. Howard MR, Turnbull AJ, Morley P, Hollier P, Webb R, Clarke A. *A prospective study of the prevalence of undiagnosed coeliac disease in laboratory defined iron and folate deficiency.* J Clin Pathol. 2002; 55: 754-7.
<http://dx.doi.org/10.1136/jcp.55.10.754>
PMid:12354801 PMCID:PMC1769776

78. Hershko C, Hoffbrand AV, Keret D, Souroujon M, Maschler I, Monselise Y et al. *Role of autoimmune gastritis, Helicobacter pylori and celiac disease in refractory or unexplained iron deficiency anemia*. Haematologica. 2005; 90: 585- 95.
PMid:15921373
79. Carter D, Maor Y, Bar-Meir S, Avidan B. *Prevalence and predictive signs for gastrointestinal lesions in premenopausal women with iron deficiency anemia*. Dig Dis Sci. 2008; 53: 3138-44.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-008-0298-7>
PMid:18465236
80. Hershko C, Patz J. *Ironing out the mechanism of anemia in celiac disease*. Haematologica. 2008; 93: 1761-5.
<http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2008.000828>
PMid:19050064
81. Hershko C, Camaschella C. *How I treat unexplained refractory iron deficiency anemia*. Blood. 2014; 123: 326-33.
<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-10-512624>
PMid:24215034
82. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. *Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology*. Am J Hematol. 2007; 82: 996-1000.
<http://dx.doi.org/10.1002/ajh.20996>
PMid:17636474
83. Fine KD. *The prevalence of occult gastrointestinal bleeding in celiac sprue*. N Engl J Med. 1996; 334: 1163-7.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199605023341804>
PMid:8602182
84. Bergamaschi G, Markopoulos K, Albertini R, Di Sabatino A, Biagi F, Ciccocioppo R et al. *Anemia of chronic disease and defective erythropoietin production in patients with celiac disease*. Haematologica. 2008; 93: 1785-91.
<http://dx.doi.org/10.3324/haematol.13255>
Pmid:18815191
85. Salvesen HA, Boe J. *Osteomalacia in sprue*. Acta Med Scand. 1953; 146: 290-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0954-6820.1953.tb10243.x>
PMid:13091741
86. Rabelink NM, Westgeest HM, Bravenboer N, Jacobs MA, Lips P. *Bone pain and extremely low bone mineral density due to severe vitamin D deficiency in celiac disease*. Arch Osteoporos. 2011; 6: 209-213.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11657-011-0059-7>
PMid:22207878 PMCID:PMC3235277

87. Corazza GR, Di SM, Maurino E, Bai JC. *Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment*. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005; 19: 453-465.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2005.01.002>
PMid:15925849
88. Dorn SD, Hernandez L, Minaya MT, Morris CB, Leserman J, Lewis S et al. *The development and validation of a new coeliac disease quality of life survey (CDQOL)*. Aliment Pharmacol Ther. 2010; 31: 666-75.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04220.x>
PMid:20015103
89. Gordon CM, Baim S, Bianchi ML, Bishop NJ, Hans DB, Kalkwarf H et al. *Special report on the 2007 Pediatric position development conference of the International Society for Clinical Densitometry*. South Med J. 2008; 101: 740-3.
<http://dx.doi.org/10.1097/SMJ.0b013e31817a8b55>
PMid:18580718
90. Lucendo AJ, Garcia-Manzanares A. *Bone mineral density in adult coeliac disease: an updated review*. Revista espanola de enfermedades digestivas: organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva. 2013; 105: 154-62.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082013000300006>
PMid:23735022
91. Jatla M, Zemel BS, Bierly P, Verma R. *Bone mineral content deficits of the spine and whole body in children at time of diagnosis with celiac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; 48: 175-80.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318177e621>
PMid:19179879
92. Trovato CM, Albanese CV, Leoni S, Celletti I, Valitutti F, Cavallini C et al. *Lack of Clinical Predictors for Low Mineral Density in Children With Celiac Disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0000000000000541>
PMid:25162363
93. Mora S, Weber G, Barera G, Bellini A, Pasolini D, Prinster C et al. *Effect of gluten-free diet on bone mineral content in growing patients with celiac disease*. Am J Clin Nutr. 1993; 57: 224-8.
PMid:8424392
94. McFarlane XA, Bhalla AK, Robertson DA. *Effect of a gluten free diet on osteopenia in adults with newly diagnosed coeliac disease*. Gut. 1996; 39: 180-4.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.39.2.180>
PMid:8991855 PMCID:PMC1383295
95. Sundar N, Crimmins R, Swift G. *Clinical presentation and incidence of complications in patients with coeliac disease diagnosed by relative screening*. Postgrad Med J. 2007; 83: 273-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/pgmj.2006.052977>
PMid:17403956 PMCID:PMC2600030

96. Corazza GR, Di Stefano M, Maurino E, Bai JC. *Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment*. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005; 19: 453-65.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2005.01.002>
PMid:15925849
97. Lorinczy K, Juhasz M, Csontos A, Fekete B, Terjék O, Lakatos PL et al. *Does dermatitis herpetiformis result in bone loss as coeliac disease does? A cross sectional study*. Rev Esp Enferm Dig. 2013; 105: 187-93.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082013000400002>
PMid:23859446
98. Mustalahti K, Collin P, Sievanen H et al. *Osteopenia in patients with clinically silent coeliac disease warrants screening*. Lancet. 1999; 354: 744-5.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)01990-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)01990-X)
99. Corazza GR, Di SA, Cecchetti L, Jorizzo RA, Di Stefano M, Minguzzi L et al. *Influence of pattern of clinical presentation and of gluten-free diet on bone mass and metabolism in adult coeliac disease*. Bone. 1996; 18: 525-30.
[http://dx.doi.org/10.1016/8756-3282\(96\)00071-3](http://dx.doi.org/10.1016/8756-3282(96)00071-3)
100. Turner J, Pellerin G, Mager D. *Prevalence of metabolic bone disease in children with celiac disease is independent of symptoms at diagnosis*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2009; 49: 589-93.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31819ca18e>
PMid:19644400
101. Kurppa K, Paavola A, Collin P, Sievänen H, Laurika K, Huhtala H et al. *Benefits of a gluten-free diet for asymptomatic patients with serologic markers of celiac disease*. Gastroenterology. 2014; 147: 610-7.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.05.003>
PMid:24837306
102. Stenson WF, Newberry R, Lorenz R, Baldus C, Civitelli R. *Increased prevalence of celiac disease and need for routine screening among patients with osteoporosis*. Arch Intern Med. 2005; 165: 393-9.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.165.4.393>
PMid:15738367
103. Lindh E, Ljunghall S, Larsson K, Lavö B. *Screening for antibodies against gliadin in patients with osteoporosis*. J Intern Med. 1992; 231: 403-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.1992.tb00951.x>
PMid:1588266
104. Ciacci C, Maurelli L, Klain M, Savino G, Salvatore M, Mazzacca G et al. *Effects of dietary treatment on bone mineral density in adults with celiac disease: factors predicting response*. Am J Gastroenterol. 1997; 92: 992-6.
PMid:9177517

105. Selby PL, Davies M, Adams JE, Mawer EB. *Bone loss in celiac disease is related to secondary hyperparathyroidism*. J Bone Miner Res. 1999; 14: 652-7.
<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.4.652>
PMid:10234588
106. Kinsey L, Burden ST, Bannerman E. *A dietary survey to determine if patients with coeliac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population*. Eur J Clin Nutr. 2008; 62: 1333-42.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602856>
PMid:17700651
107. Fisher AA, Davis MW, Budge MM. *Should we screen adults with osteoporotic fractures for coeliac disease?* Gut. 2004; 53: 154-5.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.53.1.154-a>
PMid:14684593 PMCID:PMC1773923
108. Garcia-Manzanares A, Tenias JM, Lucendo AJ. *Bone mineral density directly correlates with duodenal Marsh stage in newly diagnosed adult celiac patients*. Scandinavian journal of gastroenterology. 2012; 47: 927-36.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2012.688217>
PMid:22587226
109. Younes M, Ben Youssef H, Safer L, Fadoua H, Zrouer S, Beija I et al. *Prevalence of bone loss in adult celiac disease and associated factors: a control case study*. La Tunisie medicale. 2012; 90: 129-35.
PMid:22407624
110. Colston KW, Mackay AG, Finlayson C, Wu JC, Maxwell JD. *Localisation of vitamin D receptor in normal human duodenum and in patients with coeliac disease*. Gut. 1994; 35: 1219-25.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.35.9.1219>
PMid:7959227 PMCID:PMC1375697
111. Vogelsang H, Suk EK, Janisiw M, Stain C, Mayr WR, Panzer S. *Calcaneal ultrasound attenuation and vitamin-D-receptor genotypes in celiac disease*. Scand J Gastroenterol. 2000; 35: 172-6.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655200750024344>
PMid:10720115
112. Garcia-Manzanares A, Lucendo AJ. *Nutritional and dietary aspects of celiac disease*. Nutrition in clinical practice: official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. 2011; 26: 163-73.
<http://dx.doi.org/10.1177/0884533611399773>
PMid:21447770
113. Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM et al. *Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease*. Gastroenterology. 1998; 115: 551-63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70134-9)

114. Stazi AV, Trecca A, Trinti B. *Osteoporosis in celiac disease and in endocrine and reproductive disorders*. World J Gastroenterol. 2008; 14: 498-505.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.498>
PMid:18203279 PMCID:PMC2681138
115. Wishart J, Horowitz M, Need A et al. *Relationship between forearm and vertebral mineral density in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism*. 1990; 150: 1329-31.
116. Valdimarsson T, Arnqvist HJ, Toss G, Järnerot G, Nyström F, Ström M. *Low circulating insulin-like growth factor I in coeliac disease and its relation to bone mineral density*. Scand J Gastroenterol. 1999; 34: 904-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655299750025381>
PMid:10522610
117. Jameson S. *Coeliac disease, insulin-like growth factor, bone mineral density, and zinc*. Scand J Gastroenterol. 2000; 35: 894-6.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655200750023291>
PMid:10994632
118. Buckley KA, Fraser WD. *Receptor activator for nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin: regulators of bone physiology and immune responses/potential therapeutic agents and biochemical markers*. Ann Clin Biochem. 2002; 39: 551-6.
<http://dx.doi.org/10.1177/000456320203900602>
119. Taranta A, Fortunati D, Longo M, Rucci N, Iacomino E, Aliberti F et al. *Imbalance of osteoclastogenesis-regulating factors in patients with celiac disease*. Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 2004; 19: 1112-21.
<http://dx.doi.org/10.1359/JBMR.040319>
PMid:15176994
120. McCormick RK. *Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility*. Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic. 2007; 12: 113-45.
121. Fiore CE, Pennisi P, Ferro G, Ximenes B, Privitelli L, Mangiafico RA et al. *Altered osteoprotegerin/RANKL ratio and low bone mineral density in celiac patients on long-term treatment with gluten-free diet*. Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme. 2006; 38: 417-22.
<http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-944548>
PMid:16823725
122. Kaukinen K, Peraaho M, Lindfors K, Partanen J, Wooleey N, Pikkarainen P et al. *Persistent small bowel mucosal villous atrophy without symptoms in coeliac disease*. Aliment Pharmacol Ther. 2007; 25: 1237-45.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03311.x>
PMid:17451570

123. American Gastroenterological Association. *American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines on osteoporosis in gastrointestinal diseases*. *Gastroenterology*. 2003; 124: 791-4.
PMid:12612916
124. Murray JA. *Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis?* *Gastroenterology*. 2005; 128: S52-6.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.029>
PMid:15825127
125. Logan R, West J. *Risk of fracture in coeliac disease*. *Gut*. 2003; 52: 1532.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.10.1532-a>
PMid:12970154 PMCID:PMC1773841
126. West J, Logan RF, Card TR, Smith C, Hubbard R. *Fracture risk in people with celiac disease: a population-based cohort study*. *Gastroenterology*. 2003; 125: 429- 36.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00891-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00891-6)
127. Vasquez H, Mazure R, Gonzalez D, Flores D, Pedreira S, Niveloni S et al. *Risk of fractures in celiac disease patients: a cross-sectional, case-control study*. *The American journal of gastroenterology*. 2000; 95: 183-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.01682.x>
PMid:10638580
128. Brennan SL, Leslie WD, Lix LM, Johansson H, Oden A, McCloskey E et al. *FRAX provides robust fracture prediction regardless of socioeconomic status*. *Osteoporos Int*. 2014; 25: 61-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-013-2525-0>
PMid:24190425
129. Kanis JA, Johansson H, Oden A, Cooper C, McCloskey EV, *Epidemiology and Quality of Life Working Group of IOF*. *Worldwide uptake of FRAX*. *Arch Osteoporos*. 2014; 9: 166.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11657-013-0166-8>
PMid:24420978
130. Sund R, Honkanen R, Johansson H, Odén A, McCloskey E, Kanis J et al. *Evaluation of the FRAX model for hip fracture predictions in the populationbased Kuopio Osteoporosis Risk Factor and Prevention Study (OSTPRE)*. *Calcif Tissue Int*. 2014; 95: 39-45.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00223-014-9860-9>
PMid:24792689
131. Hjelle AM, Apalset E, Mielnik P, Bollerslev J, Lundin KE, Tell GS. *Celiac disease and risk of fracture in adults-a review*. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2014; 25: 1667-76.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-014-2683-8>
PMid:24691647

132. Olmos M, Antelo M, Vazquez H, Smecuol E, Mauriño E, Bai JC. *Systematic review and meta-analysis of observational studies on the prevalence of fractures in coeliac disease*. Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2008; 40: 46-53.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2007.09.006>
PMid:18006396
133. Fickling WE, McFarlane XA, Bhalla AK, Robertson, DA. *The clinical impact of metabolic bone disease in coeliac disease*. Postgraduate medical journal. 2001; 77: 33-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/pmj.77.903.33>
PMid:11123392 PMCID:PMC1741871
134. Vestergaard P, Mosekilde L. *Fracture risk in patients with celiac disease, Crohn's disease, and ulcerative colitis: a nationwide follow-up study of 16,416 patients in Denmark*. Am J Epidemiol. 2002; 156: 1-10.
<http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwf007>
PMid:12076883
135. Thomason K, West J, Logan RF, Coupland C, Holmes GK. *Fracture experience of patients with coeliac disease: a population based survey*. Gut. 2003; 52: 518- 22.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.4.518>
PMid:12631662 PMCID:PMC1773600
136. Moreno ML, Vazquez H, Mazure R, Smecuol E, Niveloni S, Pedreira S et al. *Stratification of bone fracture risk in patients with celiac disease*. Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2004; 2: 127-34.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565\(03\)00320-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565(03)00320-3)
137. Davie MW, Gaywood I, George E, Jones PW, Masud T, Price T et al. *Excess non-spine fractures in women over 50 years with celiac disease: a crosssectional, questionnaire-based study*. Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA. 2005; 16: 1150-5.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-004-1822-z>
PMid:15692728
138. Ludvigsson JF, Michaelsson K, Ekblom A, Montgomery SM. *Coeliac disease and the risk of fractures - a general population-based cohort study*. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2007; 25: 273-85.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.03203.x>
PMid:17269989
139. Jafri MR, Nordstrom CW, Murray JA, Van Dyke CT, Dierkhising RA, Zinsmeister AR et al. *Long-term fracture risk in patients with celiac disease: a population-based study in Olmsted County, Minnesota*. Digestive diseases and sciences. 2008; 53: 964-71.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-007-9976-0>
PMid:17934823 PMCID:PMC2556244

140. Sanchez MI, Mohaidle A, Baistrocchi A, Matoso D, Vázquez H, González A et al. *Risk of fracture in celiac disease: gender, dietary compliance, or both?* World journal of gastroenterology: WJG. 2011; 17: 3035-42. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v17.i25.3035>
PMid:21799650 PMCID:PMC3132255
141. Vilppula A, Kaukinen K, Luostarinen L, Krekelä I, Patrikainen H, Valve R et al. *Clinical benefit of gluten-free diet in screen-detected older celiac disease patients.* BMC gastroenterology. 2011; 11: 136. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-11-136>
PMid:22176557 PMCID:PMC3377922
142. Scott EM, Gaywood I, Scott BB. *Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease.* British Society of Gastroenterology. Gut. 2000; 46(1): i1-8. http://dx.doi.org/10.1136/gut.46.suppl_1.11
PMid:10647595 PMCID:PMC1766735
143. Lebowhl B, Michaelsson K, Green PH, Ludvigsson JF. *Persistent mucosal damage and risk of fracture in celiac disease. The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2014; 99: 609-16. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2013-3164>
PMid:24432993
144. Pantaleoni S, Luchino M, Adriani A, Pellicano R, Stradella D, Ribaldone DG et al. *Bone mineral density at diagnosis of celiac disease and after 1 year of gluten-free diet.* Scientific World Journal. 2014; 2014: 173082. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/173082>
PMid:25379519 PMCID:PMC4213989
145. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, Molteni N, Giunta AM, Bianchi PA. *Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet.* Am J Clin Nutr. 2000; 72: 937-9.
PMid:11010934
146. Molteni N, Bardella MT, Vezzoli G, Pozzoli E, Bianchi P. *Intestinal calcium absorption as shown by stable strontium test in celiac disease before and after gluten-free diet.* Am J Gastroenterol. 1995; 90: 2025-8.
PMid:7485015
147. Alaedini A, Green PH. *Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder.* Ann Intern Med. 2005; 142: 289-98. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-142-4-200502150-00011>
PMid:15710962
148. Green PH, Jabri B. *Coeliac disease.* Lancet. 2003; 362: 383-91. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14027-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14027-5)
149. Green PH, Jabri B. *Celiac disease.* Annu Rev Med. 2006; 57: 207-21. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.med.57.051804.122404>
PMid:16409146

150. Mora S, Barera G, Beccio S, Menni L, Proverbio MC, Bianchi C et al. *A prospective, longitudinal study of the long-term effect of treatment on bone density in children with celiac disease.* J Pediatr. 2001; 139: 516-21.
<http://dx.doi.org/10.1067/mpd.2001.116298>
PMid:11598597
151. Mora S, Barera G, Ricotti A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. *Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease.* Am J Clin Nutr. 1998; 67: 477-81.
PMid:9497193
152. Mazure R, Vazquez H, Gonzalez D, Mautalen C, Pedreira S, Boerr L et al. *Bone mineral affection in asymptomatic adult patients with celiac disease.* Am J Gastroenterol. 1994; 89: 2130-4.
PMid:7977227
153. Walters JR, Banks LM, Butcher GP, Fowler CR. *Detection of low bone mineral density by dual energy x ray absorptiometry in unsuspected suboptimally treated coeliac disease.* Gut. 1995; 37: 220-4.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.37.2.220>
PMid:7557572 PMCID:PMC1382722
154. Duhring LA. *Landmark article, Aug 30, 1884: Dermatitis herpetiformis.* JAMA. 1983; 250: 212-16.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.1983.03340020028029>
PMid:6345814
155. Marks J, Shuster S, Watson AJ. *Small-bowel changes in dermatitis herpetiformis.* Lancet. 1966; 2: 1280-2.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(66\)91692-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(66)91692-8)
156. Karpati S. *Dermatitis herpetiformis.* Clin Dermatol. 2012; 30: 56-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.03.010>
PMid:22137227
157. Reunala T. *Dermatitis herpetiformis: coeliac disease of the skin.* Annals of medicine. 1998; 30: 416-8.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853899809002482>
PMid:9814827
158. Vassileva S, Drenovska K, Manuelyan K. *Autoimmune blistering dermatoses as systemic diseases.* Clinics in dermatology. 2014; 32: 364-75.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.11.003>
PMid:24767184
159. Gaspari AA, Huang CM, Davey RJ, Bondy C, Lawley TJ, Katz S. *Prevalence of thyroid abnormalities in patients with dermatitis herpetiformis and in control subjects with HLA-B8/-DR3.* The American journal of medicine. 1990; 88: 145- 50.
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(90\)90464-O](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(90)90464-O)

160. Zettinig G, Weissel M, Flores J, Dudczak R, Vogelsang H. *Dermatitis herpetiformis is associated with atrophic but not with goitrous variant of Hashimoto's thyroiditis*. Eur J Clin Invest. 2000; 30: 53-7.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2362.2000.00590.x>
PMid:10620002
161. Hervonen K, Viljamaa M, Collin P, Knip M, Reunala T. *The occurrence of type 1 diabetes in patients with dermatitis herpetiformis and their first-degree relatives*. The British journal of dermatology. 2004; 150: 136-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2004.05642.x>
PMid:14746628
162. Zane JJ. *Skin manifestations of celiac disease*. Gastroenterology. 2005; 128: S87-91.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.026>
PMid:15825132
163. Reunala TL. *Dermatitis herpetiformis*. Clin Dermatol. 2001; 19: 728-36.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0738-081X\(00\)00184-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0738-081X(00)00184-X)
164. Smith JB, Tulloch JE, Meyer LJ, Zane JJ. *The incidence and prevalence of dermatitis herpetiformis in Utah*. Archives of dermatology. 1992; 128: 1608-10.
<http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1992.04530010046006>
PMid:1456754
165. Hofmann SC, Nashan D, Bruckner-Tuderman L. *Petechiae on the fingertips as presenting symptom of dermatitis herpetiformis Duhring*. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009; 23: 732-3.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03200.x>
PMid:19470074
166. Llorente-Alonso MJ, Fernandez-Acenero MJ, Sebastian M. *Gluten intolerance: sex and age-related features*. Can J Gastroenterol. 2006; 20: 719-22.
PMid:17111054 PMCID:PMC2660827
167. Zane JJ, Egan CA, Taylor TB, Meyer LJ. *IgA autoimmune disorders: development of a passive transfer mouse model*. J Invest Dermatol Symp Proc. 2004; 9: 47-51.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1087-0024.2004.00840.x>
PMid:14870985
168. Hitomi K. *Transglutaminases in skin epidermis*. Eur J Dermatol. 2005; 15: 313-9.
PMid:16172037
169. Garner C, Ahn R, Ding YC, Steele L, Stoven S, Green PH. *Genome-wide association study of celiac disease in North America confirms FRMD4B as new celiac locus*. PloS one. 2014; 9: e101428.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101428>
PMid:24999842 PMCID:PMC4084811

170. Plotnikova N, Miller JL. *Dermatitis herpetiformis*. Skin therapy letter. 2013; 18: 1-3.
PMid:23674144
171. Hervonen K, Alakoski A, Salmi TT, Helakorpi S, Kautiainen H, Kaukinen K et al. *Reduced mortality in dermatitis herpetiformis: a population-based study of 476 patients*. The British journal of dermatology. 2012; 167: 1331-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.11105.x>
PMid:22708883
172. Aziz I, Hadjivassiliou M. *Coeliac disease: noncoeliac gluten sensitivity-food for thought*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014; 11: 398-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2014.91>
PMid:24935422
173. Hadjivassiliou M, Grunewald R, Sharrack B, Sanders D, Lobo A, Williamson C et al. *Gluten ataxia in perspective: epidemiology, genetic susceptibility and clinical characteristics*. Brain. 2003; 126: 685-91.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/awg050>
PMid:12566288
174. Nanri K, Mitoma H, Ihara M, Tanaka N, Taguchi T, Takeguchi M et al. *Gluten ataxia in Japan*. Cerebellum. 2014; 13: 623-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12311-014-0582-3>
PMid:24997752
175. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Strigun A, Sanders DS, Woodrooffe N, Aeschlimann D. *Autoantibodies in gluten ataxia recognize a novel neuronal transglutaminase*. Ann Neurol. 2008; 64: 332-43.
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.21450>
PMid:18825674
176. Burk K, Bosch S, Muller CA, Melms A, Zühlke C, Stern M et al. *Sporadic cerebellar ataxia associated with gluten sensitivity*. Brain. 2001; 124: 1013-9.
<http://dx.doi.org/10.1093/brain/124.5.1013>
PMid:11335703
177. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Kandler RH, Chattopadhyay AK, Jarratt JA, Sanders DS et al. *Neuropathy associated with gluten sensitivity*. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006; 77: 1262-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.2006.093534>
PMid:16835287 PMCID:PMC2077388
178. Thomas H, Beck K, Adamczyk M, Langley M, Oita RC, Thiebach L et al. *Transglutaminase 6: a protein associated with central nervous system development and motor function*. Amino Acids. 2013; 44: 161-77.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00726-011-1091-z>
PMid:21984379 PMCID:PMC3535377

179. Hernandez-Lahoz C, Rodrigo-Saez L, Vega-Villar J, Mauri-Capdevila G, Mier- Juanes J. *Familial gluten ataxia*. *Mov Disord*. 2014; 29: 308-10.
<http://dx.doi.org/10.1002/mds.25783>
PMid:24375771
180. Lock RJ, Tengah DP, Williams AJ, Ward JJ, Bingley PJ, Wills AJ et al. *Cerebellar ataxia, peripheral neuropathy, "gluten sensitivity" and anti-neuronal autoantibodies*. *Clin Lab*. 2006; 52: 589-92.
PMid:17175889
181. McKeon A, Lennon VA, Pittock SJ, Kryzer TJ, Murray J. *The neurologic significance of celiac disease biomarkers*. *Neurology*. 2014; 83: 1789-96.
<http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000000970>
PMid:25261501
182. Ellenberg M, Bookman JJ. *Diabetic diarrhea with malabsorption syndrome*. *Diabetes*. 1960; 9: 14-9.
<http://dx.doi.org/10.2337/diab.9.1.14>
PMid:13819963
183. Vinnik IE, Kern F, Jr., Struthers JE, Jr. *Malabsorption and the diarrhea of diabetes mellitus*. *Gastroenterology*. 1962; 43: 507-20.
PMid:13997379
184. Green PA, Wollager EE, Sprague RG, Brown AL Jr. *Diabetes mellitus associated with nontropical sprue*. Report of four cases. *Diabetes*. 1962; 11: 388-92.
PMid:13950109
185. Wruble LD, Kalser MH. *Diabetic Steatorrhea: A Distinct Entity*. *Am J Med*. 1964; 37: 118-29.
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(64\)90216-5](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(64)90216-5)
186. Thompson MW. *Heredity, maternal age, and birth order in the etiology of celiac disease*. *Am J Hum Genet*. 1951; 3: 159-66.
PMid:14902759 PMCID:PMC1716325
187. Carter C, Sheldon W, Walker C. *The inheritance of coeliac disease*. *Ann Hum Genet*. 1959; 23: 266-78.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-1809.1959.tb01470.x>
PMid:13808015
188. Hoofst C, Roels H, Devos E. *Diabetes and coeliac disease*. *Lancet*. 1969; 2: 1192.
PMid:4187221
189. Visakorpi JK. *Diabetes and coeliac disease*. *Lancet*. 1969; 2: 1192.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(69\)92512-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(69)92512-4)
190. Walker-Smith JA, Grigor W. *Coeliac disease in a diabetic child*. *Lancet*. 1969; 1: 1021.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(69\)91817-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(69)91817-0)

191. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, Knapp M, Burger W, Grüneklee D et al. *Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentre study.* Eur J Pediatr. 1988; 148: 113-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00445915>
PMid:3069470
192. Lorini R, Scaramuzza A, Vitali L, d'Annunzio G, Avanzini MA, De Giacomo C et al. *Clinical aspects of coeliac disease in children with insulin-dependent diabetes mellitus.* J Pediatr Endocrinol Metab. 1996; 9(1): 101-11.
<http://dx.doi.org/10.1515/JPEM.1996.9.S1.101>
193. de Freitas IN, Sipahi AM, Damiao AO, de Brito T, Cançado EL, Leser PG et al. *Celiac disease in Brazilian adults.* Journal of clinical gastroenterology. 2002; 34: 430-4.
<http://dx.doi.org/10.1097/00004836-200204000-00009>
PMid:11907355
194. Saukkonen T, Savilahti E, Reijonen H, Ilonen J, Tuomilehto-Wolf E, Akerblom HK et al. *Coeliac disease: frequent occurrence after clinical onset of insulindependent diabetes mellitus.* Childhood Diabetes in Finland Study Group. Diabet Med. 1996; 13: 464-70.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199605\)13:5<464::AID-DIA101>3.0.CO;2-R](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199605)13:5<464::AID-DIA101>3.0.CO;2-R)
195. Acerini CL, Ahmed ML, Ross KM, Sullivan PB, Bird G, Dunger DB. *Coeliac disease in children and adolescents with IDDM: clinical characteristics and response to gluten-free diet.* Diabet Med. 1998; 15: 38-44.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199801\)15:1<38::AID-DIA520>3.0.CO;2-L](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199801)15:1<38::AID-DIA520>3.0.CO;2-L)
196. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F et al. *Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study.* Pediatrics. 2002; 109: 833-8.
<http://dx.doi.org/10.1542/peds.109.5.833>
PMid:11986443
197. Hansen D, Bennedbaek FN, Hansen LK, HoierMadsen M, Hegedü LS et al. *High prevalence of coeliac disease in Danish children with type I diabetes mellitus.* Acta Paediatr. 2001; 90: 1238-43.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2001.tb01568.x>
PMid:11808892
198. Pocco M, Ventura A. *Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus: a causal association?* Acta Paediatr. 1995; 84: 1432-3.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1995.tb13583.x>
PMid:8645965
199. Mori T, Iwasaki Y, Seki Y, Iseki M, Katayama H, Yamamoto K et al. *Lnk/Sh2b3 controls the production and function of dendritic cells and regulates the induction of IFN-gamma-producing T cells.* J Immunol. 2014; 193: 1728-36.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1303243>
PMid:25024389

200. Gyllenberg A, Asad S, Piehl F, Swanberg M, Padyukov L, Van Yserloo B, Rutledge EA et al. *Age-dependent variation of genotypes in MHC II transactivator gene (CIITA) in controls and association to type 1 diabetes*. *Genes Immun*. 2012; 13: 632-40.
<http://dx.doi.org/10.1038/gene.2012.44>
PMid:23052709
201. Hemminki K, Li X, Sundquist J, Sundquist K. *Familial association between type 1 diabetes and other autoimmune and related diseases*. *Diabetologia*. 2009; 52: 1820-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00125-009-1427-3>
PMid:19543881
202. Heap GA, van Heel DA. *The genetics of chronic inflammatory diseases*. *Hum Mol Genet*. 2009; 18: R101-6.
<http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddp001>
PMid:19297396
203. Westman E, Ambler GR, Royle M, Peat J, Chan A. *Children with coeliac disease and insulin dependent diabetes mellitus-growth, diabetes control and dietary intake*. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1999; 12: 433-42.
<http://dx.doi.org/10.1515/JPEM.1999.12.3.433>
PMid:10821223
204. Atherton R, Ross A, Jessop F, Williams R, Heuschkel R, Zilbauer M. *Coeliac disease in children with type 1 diabetes: are current guidelines proving difficult to implement in practice?* *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014; 59: 600-3.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0000000000000490>
PMid:25061719
205. Elfstrom P, Sundstrom J, Ludvigsson JF. *Systematic review with meta-analysis: associations between coeliac disease and type 1 diabetes*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 40: 1123-32.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12973>
PMid:25270960

CAPÍTULO 11

SEGUIMIENTO DEL PACIENTE CELÍACO: ¿ES LA RECUPERACIÓN DE LA MUCOSA UN OBJETIVO DEL TRATAMIENTO?

Santiago Vivas, Laura Arias, Luis Vaquero

Servicio de Gastroenterología, Hospital Universidad de León, Instituto de Biomedicina, Universidad de León, España.

svivasa@gmail.com luisvaqueroayala@gmail.com lariasrodriguez@hotmail.com

Cómo citar este capítulo:

Vivas S, Arias L, Vaquero L. *Seguimiento del Paciente Celíaco: ¿Es la Recuperación de la Mucosa un Objetivo de la Terapia?* En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

El principal objetivo de este capítulo es ofrecer una guía comprensiva para el seguimiento de pacientes con EC. El cumplimiento de una estricta dieta sin gluten (DSG) es el objetivo principal en el tratamiento de la enfermedad. Los pacientes deben ser entrenados en el conocimiento de la DSG y los beneficios de su estricta adherencia. Existen varios métodos para evaluar el cumplimiento de la dieta y son resumidos en el texto: entrevistas con dietistas o médicos, encuestas estructuradas, serología, histología y detección de gluten en heces. Adicionalmente, los pacientes con EC deben ser incluidos en un seguimiento periódico conducido por un médico (general o gastroenterólogo) calificado en el manejo de la EC. Las visitas periódicas incluyen: evaluación clínica, pruebas de laboratorio (detección de deficiencias nutricionales y serología de la EC) y otras pruebas en casos seleccionados (densitometría óseas y detección de hipoesplenismo).

La evaluación de la recuperación de la mucosa duodenal durante el seguimiento puede ser importante para identificar pacientes que precisen de un seguimiento más estricto, con el fin de detectar deficiencias nutricionales o complicaciones asociadas con la persistencia de la atrofia mucosal.

Palabras Clave

Enfermedad celíaca, manejo, dieta sin gluten, biopsia duodenal.

1. Introducción

Los pacientes diagnosticados de enfermedad celíaca (EC) presentan una intolerancia permanente al gluten en su dieta. La retirada del gluten se asocia con mejoría clínica e histológica, mientras que una mala adherencia a la dieta sin gluten (DSG) se asocia con una peor calidad de vida y un riesgo más elevado de reaparición de síntomas y complicaciones relacionadas con la EC^{1,2}. No obstante, existen dos puntos clave a tener en cuenta por parte de los pacientes y médicos durante el seguimiento

El cumplimiento de una dieta sin gluten es una tarea diaria ardua y exigente. Los pacientes necesitan tanta información sobre este tipo de dieta como les sea posible obtener, así como asesoramiento claro por parte de los médicos. Se estima que menos del 50% de los pacientes siguen una DSG estricta, principalmente en la población adulta celíaca. En general, se logra, una mejor adherencia dietética en la población pediátrica, o cuando la enfermedad se diagnostica temprano en la infancia³.

El segundo punto clave es la variabilidad en las prácticas de seguimiento entre médicos y el manejo inadecuado o ausente después del diagnóstico⁴. La carencia de información en algunas áreas sanitarias y la variabilidad en las guías clínicas podría ser la razón principal para estas prácticas inadecuadas.

El principal objetivo de este capítulo es ofrecer una guía comprensiva del seguimiento de la EC, con una discusión de los principales objetivos del manejo.

2. Dieta Sin Gluten

2.1. Importancia del Estricto Cumplimiento de la DSG

La tolerancia a las transgresiones con gluten de la dieta es altamente variable entre los diversos pacientes celíacos. Mientras que algunos presentan síntomas debido a una pequeña cantidad de gluten en la dieta, otros pueden tolerar transgresiones rutinarias⁵. Lo que es más, algunos pacientes son diagnosticados con base en una estrategia de cribado y no presentan síntomas que mejorar cuando se suprime el gluten, haciendo más difícil el cumplimiento de la dieta⁶.

El primer objetivo del médico, posterior al diagnóstico de la EC, es explicar al paciente la importancia y los beneficios que se obtienen al evitar estrictamente el gluten en la dieta diaria. El paciente debe comprender que no se permiten transgresiones, con el fin de evitar complicaciones y conseguir una similar calidad de vida y expectativas iguales que las de la población en general. La DSG estricta se asocia con una reducción en el riesgo de desarrollar enfermedades linfoproliferativas en la EC, las cuales son la peor complicación posible y presenta un pobre pronóstico⁷.

Los médicos que participan en el manejo de la EC deben tener en cuenta que el cumplimiento de la DSG es la piedra angular del tratamiento. Deben ser capaces de explicar adecuadamente este concepto al paciente. No queda claro aún quién es la persona o el médico que debería llevar a cabo el seguimiento para confirmar la adherencia de la DSG: gastroenterólogo, médico de cuidados primarios o dietista experto⁸. El seguimiento por parte de los médicos de familia o gastroenterólogos puede ser similar, en términos de tasas de adherencia a la DSG⁹. La evidencia disponible sugiere que consultar con un dietista puede ser de utilidad cuando existan sospechas de contaminación con gluten. No obstante, el seguimiento conjunto de un dietista y un médico, puede no ser mejor que el cuidado que cada uno pueda ofrecer por separado¹⁰. La decisión final dependerá tanto de la disponibilidad de un dietista experto en los diferentes centros, así como de la relación entre los Servicios de Gastroenterología y los médicos de Atención Primaria.

Las asociaciones de pacientes o grupos de apoyo, pueden ofrecer ayuda para intentar lograr el adecuado cumplimiento de la dieta. Estas asociaciones ofrecen información detallada sobre la importancia de una estricta DSG y responden a todas las preguntas relacionadas con las características de los alimentos sin gluten y las diferentes recetas de cocina. También organizan reuniones periódicas, durante las que los pacientes pueden compartir información sobre la enfermedad celíaca y el cumplimiento de la dieta¹¹.

2.2. Control de la Adherencia a la DSG

El cumplimiento con la dieta sin gluten puede ser evaluado mediante varios métodos (Tabla 1). Probablemente, el mejor método para evaluar el cumplimiento dietario son las entrevistas con un dietista experimentado. Algunos pacientes solamente necesitarán consultas con su médico, para lograr una adherencia estricta a la DSG, otros requerirán un enfoque multidisciplinario para evaluar el adecuado cumplimiento con la DSG.

Tabla 1. Métodos propuestos para monitorizar la adherencia a una DSG.

Entrevistas con un dietista experimentado
Consulta con su médico especialista o de familia
Cuestionarios estructurados
Disminución de los títulos de los marcadores serológicos
Mejoría de la atrofia vellositaria
Detección en heces de péptidos de gluten

La desaparición de los síntomas podría no ser un método preciso para evaluar la adherencia a la DSG durante la consulta con el médico. Por otro lado, en la mayor parte de los casos, la persistencia de los síntomas se asocia con un consumo continuado de gluten¹². Además existen otros temas aparte de la ingesta de gluten que podrían contribuir a la persistencia de los síntomas (ver capítulo anterior). Los cuestionarios cortos estructurados se emplean como una alternativa a consultar con un dietista, para lograr una rápida evaluación de la adherencia a la DSG. Es fácil completar cuestionarios en la clínica. Su correlación con niveles de anticuerpos y biopsia duodenal parece ser elevada y útil en el seguimiento. No obstante, deben ser validados en diferentes países y contextos clínicos antes de que su uso sea generalizado¹³.

Los niveles serológicos de anticuerpos empleados en el diagnóstico de la EC son dependientes del gluten. Se espera una disminución en sus títulos al cabo de unos meses después de iniciada una DSG estricta. Unas tomas del gluten aumentan sus valores y así la persistencia de sus niveles elevados sugiere una falta de adherencia a la DSG¹⁴. Las pruebas periódicas para gliadina IgA deamidada y/o anticuerpos frente a la transglutaminasa tisular pueden ser de utilidad para controlar el grado de cumplimiento de la DSG¹⁵. No obstante, la normalización de los títulos de estos anticuerpos no identifica transgresiones dietéticas menores y su utilidad podría limitarse a la predicción de la falta de adherencia, pero no así para evaluar una adherencia estricta. El diagnóstico en adultos es en realidad habitual en ausencia de anticuerpos positivos (5-16% de EC confirmada por biopsia) y la serología no es de utilidad si los niveles de anticuerpos no están elevados antes del inicio de la DSG¹⁶.

La histología del intestino delgado es el medio definitivo para evaluar la curación de la mucosa. La recuperación de la atrofia vellositaria confirma que se ha seguido una estricta DSG, independientemente de los títulos serológicos o los síntomas¹. Las biopsias intestinales en el seguimiento pueden ser importantes en adultos en los que persiste la atrofia vellositaria a pesar de la ausencia de síntomas y presentar serología negativa¹⁷.

Recientemente, se ha descrito un novedoso método para controlar el cumplimiento de la DSG sin necesidad de repetir la endoscopia. Dicho método puede detectar la presencia de péptidos de gluten en heces mediante la determinación de la presencia del anticuerpo antigliadina 33-mer G12. Este anticuerpo puede detectar pequeñas cantidades de gluten ingerido y representa un método cuantitativo para poder evaluar la ingesta de gluten en pacientes con EC. No obstante, estudios en curso aclararán su verdadera utilidad e importancia en el seguimiento de la adherencia de los pacientes con EC a la DSG¹⁸.

3. ¿Qué deberíamos analizar?

3.1. Evaluación Clínica

Las visitas de seguimiento tienen la utilidad de poder valorar la mejoría de los síntomas iniciales,

o la manifestación de aquellos que han aparecido de nuevo. Es frecuente, en pacientes con EC, la presencia de los síntomas gastrointestinales similares a los presentados por pacientes con síndrome de intestino irritable. La persistencia de síntomas previos o la aparición de nuevos, podría estar relacionada bien con la EC, o con otra entidad. Además, los clínicos deben estar atentos ante síntomas asociados con serias complicaciones intestinales: fiebre inexplicada, pérdida de peso, diarrea importante o por la presencia de signos de desnutrición¹⁹. En niños, la evolución del peso corporal y la altura pueden reflejar requerimientos nutricionales adecuados y una correcta absorción en el intestino delgado.

Las enfermedades autoinmunes están frecuentemente asociadas con la EC y pueden aparecer en cualquier momento durante el seguimiento. Los médicos deben estar conscientes de las posibles enfermedades autoinmunes relacionadas y otras enfermedades asociadas con la EC para poder detectarlas durante las visitas de seguimiento²⁰.

Es importante llevar a cabo estudios de cribado en familiares de primer grado y otros parientes, especialmente si presentan síntomas clínicos. El caso índice debe ser informado sobre este riesgo familiar y recomendar su realización en familiares próximos⁶.

3.2. Análisis de Laboratorio

Las pruebas de laboratorio son importantes su realización para poder detectar las deficiencias nutricionales y el desarrollo de enfermedades o complicaciones asociadas. Los médicos deben analizar el estado de la absorción intestinal. Las pruebas de laboratorio básicas a analizar previo a cada visita pueden incluir entre otras recuento sanguíneo completo, niveles de ferritina, vitamina B12, folato, calcio, fosfatasa alcalina, pruebas de función hepática, hormona estimulante del tiroides (TSH), hormonas tiroideas y anticuerpos frente a los péptidos deamidados de gliadina IgA deamidada y/o la anti-transglutaminasa tisular del tipo IgA²¹.

3.3. Otros estudios

La disminución en la medición de la densidad mineral ósea probablemente se debe a la deficiencia de vitamina D. No obstante, el riesgo de fracturas en pacientes con EC no es claro y el valor predictivo de la densitometría ósea no es suficiente para identificar individuos con alto riesgo de fracturas. Parece razonable llevar a cabo densitometrías óseas en pacientes con EC adultos, en situaciones de alto riesgo, incluyendo mujeres post-menopáusicas, varones mayores de 55 años y aquellos con osteopenia conocida previa al diagnóstico de EC²². Se requieren estudios adicionales para poder encontrar su verdadera eficacia y rentabilidad de la realización periódica de densitometrías óseas en todos los pacientes adultos con EC en el momento del diagnóstico y para identificar la frecuencia de seguimiento con la que se efectúa esta exploración²³.

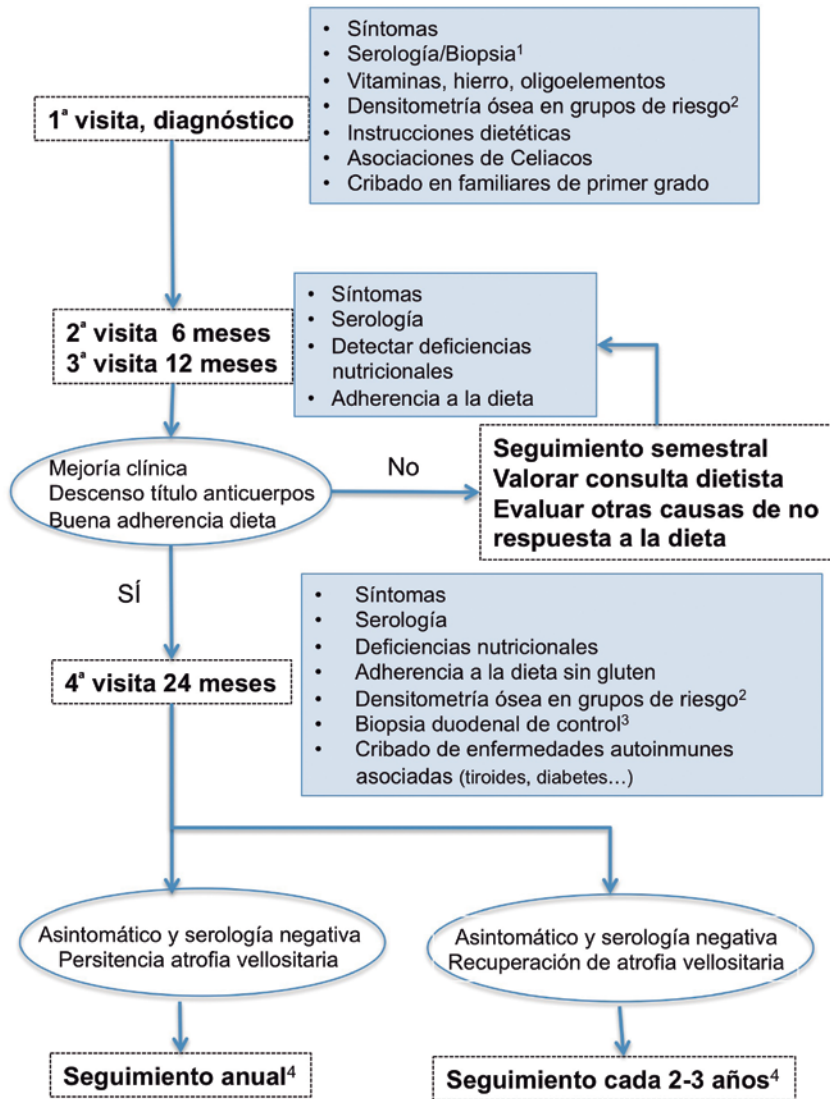
Los niños pueden presentar una masa ósea reducida en el momento del diagnóstico. No obstante, tienen más probabilidad que los adultos de presentar una plena reducción en su masa ósea, posterior a los 6-12 meses del comienzo de la DSG. Generalmente no se requiere densitometría ósea en pacientes pediátricos recién diagnosticados con EC sin complicaciones. En niños se recomienda prestar atención con el fin de ayudar a tener un crecimiento y desarrollo esquelético normales²⁴.

El hipoesplenismo puede afectar a más de un tercio de los pacientes adultos con EC, pero no es una complicación en pacientes pediátricos. La incidencia de hipoesplenismo se correlaciona con la duración de la pre-exposición al gluten y es más elevada en aquellos trastornos autoinmunes concomitantes o condiciones premalignas²⁵. Basándose en estos factores asociados, la función del bazo puede ser determinada en un grupo selecto de pacientes adultos con EC: los pacientes de mayor edad en el momento del diagnóstico que presentan distintos procesos autoinmunes concomitantes o premalignos, así como un historial previo de infecciones importantes asociadas o de episodios de tromboembolismo. Como herramienta diagnóstica, el recuento de eritrocitos que presentan en su superficie pequeños hoyos (pits, pequeñas marcas o muescas), sigue siendo un método preciso, cuantitativo y de bajo costo²⁶. Las vacunas de proteínas conjugadas deberían ser recomendadas para pacientes con hipoesplenismo mayor, definido por un valor de eritrocitos con presencia de hoyos en su superficie mayor del 10% y/o frecuencia de células B de memoria tipo IgM menor del 10%.

4. ¿ Con qué frecuencia se deben efectuar las revisiones?

En la Figura 1 se muestra un algoritmo que plantea un enfoque para la realización de controles y visitas programadas. Después de la primera visita, se establece el diagnóstico con biopsias duodenales basales, valoración del estado nutricional y grado de mineralización ósea en pacientes con alto riesgo. La segunda y la tercera visitas pueden realizarse a intervalos de 6 meses y se debe prestar atención a los siguientes puntos: Síntomas, reducción de los títulos de anticuerpos basales, presencia de posibles deficiencias nutricionales y grado de adherencia a la DSG.

Un año posterior al diagnóstico el paciente puede experimentar una de las siguientes situaciones: (i) Persistencia de los síntomas, (ii) Títulos elevados de anticuerpos o (iii) Mala adherencia a la DSG. En estos casos, el seguimiento puede continuar a intervalos de 6 meses con la supervisión de un dietista experimentado, para asegurar una DSG estricta. Cuando el paciente continúa experimentando esta situación de deficiente respuesta a la DSG, los médicos deben tomar en cuenta la posibilidad de que la EC no respondedora o se convierta en refractaria y seguir los protocolos específicos aplicables en dicha situación.



(1) La biopsia basal no es siempre necesaria en niños.

(2) En casos seleccionados como se explica en el texto.

(3) La biopsia de control durante el seguimiento puede ser útil en el celíaco adulto.

(4) El seguimiento en la edad pediátrica debe ser anual hasta que se completa la etapa de crecimiento.

Figura 1. Algoritmo para la monitorización de la enfermedad celíaca.

Los pacientes que siguen siendo asintomáticos con títulos de anticuerpos disminuidos y buena adherencia a la DSG un año posterior al diagnóstico pueden ser revisados a los 24 meses. En este

momento, en la EC adulta, puede sugerirse la realización de unas biopsias duodenales con el fin de evaluar la recuperación. En caso de persistencia de atrofia en la mucosa, el intervalo del seguimiento puede ser anual, para descartar deficiencias nutricionales y poder detectar otras complicaciones relacionadas con la EC.

No obstante, si la mucosa duodenal presenta una arquitectura normal, las visitas de seguimiento pueden retrasarse y programarse cada dos años.

La EC pediátrica puede realizarse un seguimiento con el mismo esquema usado para los adultos. No obstante, la densitometría ósea y las biopsias de seguimiento se llevarían a cabo solamente en casos seleccionados. A niños con buena adherencia a la DSG y niveles normales de anticuerpos, probablemente se les daría seguimiento anual en lugar de cada dos años. La principal razón para este intervalo más breve es la necesidad de un reconocimiento temprano de las enfermedades asociadas con la EC pediátrica y especialmente para comprobar la normalidad del crecimiento y desarrollo.

5. Control de las Biopsias: ¿Es la recuperación de la mucosa un objetivo del tratamiento?

Los últimos criterios de la EPSGHAN han postulado claramente que los niños diagnosticados con EC no necesitan reevaluación histológica en el seguimiento de la DSG²⁷. Por lo tanto, no se recomienda llevar a cabo biopsias de seguimiento de rutina en niños y pueden ser sugeridas solamente para niños con EC que no responde bien a la DSG.

La enfermedad celíaca presenta varias diferencias entre niños y adultos, que deben ser tomadas en consideración durante el seguimiento de la enfermedad. Una gran cantidad de pacientes adultos son asintomáticos o mínimamente sintomáticos en su presentación. A éstos no se les puede hacer un seguimiento mediante la resolución de síntomas como principal determinante de la respuesta clínica. Otros pacientes adultos son diagnosticados con títulos normales de anticuerpos, presentando solo alteraciones histológicas en las biopsias duodenales. En estos sujetos seronegativos, la serología no es útil para evaluar la adherencia a la dieta sin gluten o para predecir la curación de la mucosa. Finalmente, la recuperación histológica se alcanza en la mayoría de niños, pero es variable en los adultos en los que se registra una completa recuperación histológica, en menos del 50% de los casos^{17,28}.

Las guías recientemente publicadas por el *American College of Gastroenterology* (Colegio Americano de Gastroenterología) incluyen la recomendación de que es razonable efectuar biopsias de seguimiento en adultos, a los dos años posteriores al inicio de la DSG, con el fin de evaluar la curación de la mucosa, pero no se recomienda su realización como procedimiento rutinario en niños¹. Las guías editadas por la *British Society of Gastroenterology* (Sociedad Británica de Gastroenterolo-

gía) son menos categóricas y sugieren que existe poca evidencia para determinar si los resultados clínicos se alteran significativamente como resultado de las biopsias repetidas. Aún más, las guías británicas subrayan la carencia de datos sobre el análisis coste-beneficio de las biopsias repetidas y su recomendación final es que las biopsias de seguimiento no son recomendables si el paciente se encuentra asintomático, sigue bien con la DSG y no presenta otros datos que sugieran un mayor riesgo de complicación²⁹.

Se ha podido comprobar que uno de los grandes beneficios de la estrategia de realización de biopsias repetidas es la estratificación de pacientes con EC en dos grupos. Aquellos aptos para controles menos estrictos cuando se logra la recuperación de la mucosa y los que requieren un manejo clínico más intensivo cuando presentan atrofia persistente de la mucosa duodenal. Está claro que la persistencia de la atrofia vellositaria se asocia con complicaciones de la EC y resultados adversos. Aún la persistencia de formas leves de enteropatía al seguir una DSG (Marsh I o linfocitosis duodenal) pueden estar asociadas con deficiencias nutricionales o complicaciones³⁰. Ya que se ha comentado que el tiempo medio para la recuperación de la mucosa es de dos a tres años, y por lo tanto, las biopsias de control pueden sugerirse a los pacientes adultos en ese momento (Figura 1)³¹.

Pacientes con persistencia de atrofia vellositaria, pueden requerir una supervisión clínica más estrecha y para ellos, es mandatorio el cumplimiento estricto de la DSG. Pueden plantearse repeticiones de las biopsias cuando no exista evidencia de contaminación en la dieta. Existe menos evidencia para la repetición de la biopsia duodenal en aquellos casos con formas persistentes de enteropatía leve, donde podría haber otras causas diferentes del gluten relacionadas (principalmente una infección por *Helicobacter pylori* y/o la ingesta prolongada de AINEs)³².

6. Conclusiones

El cumplimiento de una DSG estricta es la piedra angular del manejo de la EC. Los pacientes deben recibir seguimiento a lo largo plazo de la vida, por el especialista con conocimientos de la EC y en algunos casos, con el apoyo de un dietista experimentado. Las biopsias duodenales durante el seguimiento constituyen una práctica útil en la EC del adulto para evaluar la recuperación de la mucosa y serían de gran utilidad para detectar aquellos individuos con riesgo elevado de desarrollar complicaciones.

Referencias

1. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of G. *ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease*. Am J Gastroenterol. 2013; 108: 656-76; quiz 77. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.79>
PMid:23609613 PMCID:PMC3706994
2. Hall NJ, Rubin G, Charnock A. *Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease*. Aliment Pharmacol Ther. 2009; 30: 315-30. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04053.x>
PMid:19485977
3. Hogberg L, Grodzinsky E, Stenhammar L. *Better dietary compliance in patients with coeliac disease diagnosed in early childhood*. Scand J Gastroenterol. 2003; 38: 751-4. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520310003318>
PMid:12889562
4. Herman ML, Rubio-Tapia A, Lahr BD, Larson JJ, Van Dyke CT, Murray JA. *Patients with celiac disease are not followed up adequately*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012; 10: 893-9 e1.
5. Murray JA, Watson T, Clearman B, Mitros F. *Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease*. Am J Clin Nutr. 2004; 79: 669-73.
6. Vaquero L, Caminero A, Nunez A, Hernando M, Iglesias C, Casqueiro J et al. *Coeliac disease screening in first-degree relatives on the basis of biopsy and genetic risk*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014; 26: 263-7. <http://dx.doi.org/10.1097/MEG.000000000000020>
PMid:24300305
7. Ludvigsson JF. *Mortality and malignancy in celiac disease*. Gastrointest Endosc Clin N Am. 2012; 22: 705-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.giec.2012.07.005>
PMid:23083988
8. Haines ML, Anderson RP, Gibson PR. *Systematic review: The evidence base for long-term management of coeliac disease*. Aliment Pharmacol Ther. 2008; 28: 1042-66. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03820.x>
PMid:18671779
9. Kurppa K, Lauronen O, Collin P, Ukkola A, Laurila K, Huhtala H et al. *Factors Associated with Dietary Adherence in Celiac Disease: A Nationwide Study*. Digestion. 2012; 86: 309-14. <http://dx.doi.org/10.1159/000341416>
PMid:23095439

10. Simpson S, Thompson T. *Nutrition assessment in celiac disease*. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2012; 22: 797-809.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.giec.2012.07.010>
PMid:23083994
11. Leffler DA, Edwards-George J, Dennis M, Schuppan D, Cook F, Franko DL et al. *Factors that influence adherence to a gluten-free diet in adults with celiac disease*. *Dig Dis Sci*. 2008; 53: 1573-81.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-007-0055-3>
PMid:17990115 PMCID:PMC3756800
12. Ciacci C, Cirillo M, Cavallaro R, Mazzacca G. *Long-term follow-up of celiac adults on gluten-free diet: prevalence and correlates of intestinal damage*. *Digestion*. 2002; 66: 178-85.
<http://dx.doi.org/10.1159/000066757>
PMid:12481164
13. Biagi F, Bianchi PI, Marchese A, Trotta L, Vattiato C, Balduzzi D et al. *A score that verifies adherence to a gluten-free diet: a cross-sectional, multicentre validation in real clinical life*. *Br J Nutr*. 2012; 108: 1884-8.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114511007367>
PMid:22321199
14. Nachman F, Sugai E, Vazquez H, Gonzalez A, Andrenacci P, Niveloni S et al. *Serological tests for celiac disease as indicators of long-term compliance with the gluten-free diet*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 23: 473-80.
<http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e328346e0f1>
15. Bai JC, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing M, Catassi C et al. *World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease*. *J Clin Gastroenterol*. 2013; 47: 121-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31827a6f83>
PMid:23314668
16. Lewis NR, Scott BB. *Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 31: 73-81.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04110.x>
PMid:19664074
17. Lebowohl B, Murray JA, Rubio-Tapia A, Green PH, Ludvigsson JF. *Predictors of persistent villous atrophy in coeliac disease: a population-based study*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 39: 488-95.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12621>
PMid:24428688 PMCID:PMC4012428
18. Comino I, Real A, Vivas S, Siglez MA, Caminero A, Nistal E et al. *Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces*. *Am J Clin Nutr*. 2012; 95: 670-7.
<http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.111.026708>
PMid:22258271 PMCID:PMC3278243

19. Dewar DH, Donnelly SC, McLaughlin SD, Johnson MW, Ellis HJ, Ciclitira PJ. *Celiac disease: management of persistent symptoms in patients on a gluten-free diet*. World J Gastroenterol. 2012; 18: 1348-56.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v18.i12.1348>
PMid:22493548 PMCID:PMC3319961
20. Lauret E, Rodrigo L. *Celiac disease and autoimmune-associated conditions*. Biomed Res Int. 2013; 127589.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/127589>
21. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. *American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease*. Gastroenterology. 2006; 131: 1981-2002.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.10.004>
PMid:17087937
22. Lewis NR, Scott BB. *Should patients with coeliac disease have their bone mineral density measured?* Eur J Gastroenterol Hepatol. 2005; 17: 1065-70.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200510000-00009>
PMid:16148551
23. West J, Logan RF, Card TR, Smith C, Hubbard R. *Fracture risk in people with celiac disease: a population-based cohort study*. Gastroenterology. 2003; 125: 429-36.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00891-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00891-6)
24. Ribes-Koninckx C, Mearin ML, Korponay-Szabo IR, Shamir R, Husby S, Ventura A et al. *Coeliac disease diagnosis: ESPGHAN 1990 criteria or need for a change? Results of a questionnaire*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 15-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31822a00bb>
PMid:21716133
25. Thomas HJ, Wotton CJ, Yeates D, Ahmad T, Jewell DP, Goldacre MJ. *Pneumococcal infection in patients with coeliac disease*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008; 20: 624-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0b013e3282f45764>
PMid:18679063
26. Di Sabatino A, Brunetti L, Carnevale Maffe G, Giuffrida P, Corazza GR. *Is it worth investigating splenic function in patients with celiac disease?* World J Gastroenterol. 2013; 19: 2313-8.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v19.i15.2313>
PMid:23613624 PMCID:PMC3631982
27. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 136-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
PMid:22197856

28. Sharkey LM, Corbett G, Currie E, Lee J, Sweeney N, Woodward JM. *Optimising delivery of care in coeliac disease - comparison of the benefits of repeat biopsy and serological follow-up*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 38: 1278-91.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12510>
PMid:24117503
29. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ et al. *Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology*. *Gut*. 2014; 63: 1210-28.
<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306578>
PMid:24917550 PMCID:PMC4112432
30. Kurppa K, Collin P, Sievanen H, Huhtala H, Maki M, Kaukinen K. *Gastrointestinal symptoms, quality of life and bone mineral density in mild enteropathic coeliac disease: a prospective clinical trial*. *Scand J Gastroenterol*. 2010; 45: 305-14.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365520903555879>
PMid:20059405
31. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. *Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet*. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 1412-20.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.10>
PMid:20145607 PMCID:PMC2881171
32. Rosinach M, Esteve M, Gonzalez C, Temino R, Marine M, Monzon H et al. *Lymphocytic duodenitis: aetiology and long-term response to specific treatment*. *Dig Liver Dis*. 2012; 44: 643-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.03.006>
PMid:22497904

CAPÍTULO 12

CALIDAD DE VIDA Y TRASTORNOS PSICOLÓGICOS EN EL PACIENTE CELÍACO

Claudia Herrera de Guise, Francesc Casellas

Servicio de Digestivo, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehed), Barcelona, España.

cherreradeguse@gmail.com fcasellas@vhebron.net

Cómo citar este capítulo:

Herrera de Guise C, Casellas F. *Calidad de Vida y Trastornos Psicológicos en el Paciente con EC*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La enfermedad celíaca (EC) es un trastorno crónico que puede impactar sobre los pacientes de muchas formas, incluyendo en su calidad de vida relacionada con la salud (CVRS). Existen varios factores que pueden afectar la CVRS en pacientes con EC, desde manifestaciones de la enfermedad al cumplimiento de la dieta sin gluten. Además, depende también de la respuesta al tratamiento con una dieta sin gluten. La medida de la CVRS en la enfermedad celíaca ofrece ventajas importantes, tanto para los profesionales de la salud, como para los pacientes. El objetivo de evaluar la CVRS va más allá de determinar la presencia y severidad de los síntomas de la EC o de los efectos secundarios del tratamiento, sino que examina cómo los pacientes perciben y experimentan estos cambios en su vida diaria. En el presente capítulo se describen los instrumentos para medir la CVRS en los pacientes con EC y se describen los resultados obtenidos en estudios recientes que analizan el impacto que la EC tiene sobre la CVRS del paciente.

Palabras Clave

Enfermedad celíaca, Calidad de vida relacionada con la salud, cuestionarios de medida de la CVRS en la EC.

1. Introducción

La enfermedad (EC) es una enfermedad autoinmune frente al gluten de la dieta, la cual afecta principalmente al intestino delgado en aquellas personas con una predisposición genética y cuyo tratamiento es la exclusión del gluten de la dieta. A lo largo de los últimos 50 años ha habido un incremento sustancial en la prevalencia de la EC a nivel mundial y un incremento en la tasa de diagnósticos en los últimos 10 años¹. La EC es un trastorno crónico que puede afectar a los pacientes de varias maneras, incluyendo su calidad de vida relacionada con salud (CVRS). En los últimos años, la CVRS se ha convertido en un aspecto de valoración importante en este contexto y la mayoría de los estudios llevados a cabo hasta el momento han demostrado un deterioro en la CVRS de los pacientes sin tratar contrastada con la de los controles sanos. Además, el tratamiento mediante la exclusión del gluten de la dieta se asocia, por lo general, a una respuesta claramente beneficiosa².

El propósito del presente capítulo que trata sobre la CVRS en los pacientes celíacos es ir más allá de la presencia e intensidad de los síntomas de la enfermedad y de los efectos secundarios del seguimiento de la dieta sin gluten, examinando cómo perciben los pacientes estas manifestaciones y su repercusión en su vida diaria³.

2. Definición de Calidad de Vida

No existe una definición universal de “calidad de vida”. Es un término que se aplica en diversas disciplinas, como la política, la economía y la religión, entre otros. El estudio sobre la calidad de vida también se aplica en Medicina, especialmente su relación con la salud como CVRS o “estado subjetivo de salud”. A pesar de la carencia de un consenso universal sobre una única definición, la mayoría de los investigadores coinciden en que la calidad de vida es un concepto subjetivo, multidimensional y dinámico^{4,5}. La calidad de vida representa una valoración subjetiva de las percepciones, creencias, emociones y expectativas de un individuo. Por lo tanto, la valoración propia de cada persona sobre su salud y bienestar, es un factor clave en todos los estudios que se llevan a cabo sobre la calidad de vida⁶. El constructo de la CVRS está compuesto por una diversidad de dominios o dimensiones físicas, sociales y psicológicas⁷. Finalmente, la calidad de vida es dinámica ya que varía a lo largo del tiempo y depende de los cambios que se producen dentro del paciente y en su entorno⁵.

3. Beneficios de Utilizar la Medición de la CVRS

La medición de la CVRS en la enfermedad celíaca ofrece ventajas importantes, tanto para los médicos y cuidadores, como para los pacientes. La información sobre el impacto de una enfermedad sobre la calidad de vida puede utilizarse para objetivar la repercusión de los cambios existentes en

el estado clínico antes, durante y posterior al tratamiento⁴. También puede ayudar en la elaboración de herramientas para el cuidado clínico y para la toma de decisiones sobre el tratamiento⁹. La medida de la CVRS también es útil para los pacientes porque les permite comprender y expresar mejor el impacto que produce la enfermedad en otras dimensiones de su vida.

4. Medición de la CVRS en la Enfermedad Celíaca

Los cuestionarios son los instrumentos usados preferencialmente para medir la CVRS. Se clasifican como genéricos o específicos para una enfermedad, de acuerdo con la población diana. Los instrumentos genéricos pueden ser administrados a la población sana o a pacientes con cualquier enfermedad. Estos instrumentos se utilizan para describir el impacto general de las enfermedades crónicas sobre la salud de los pacientes y para contrastar la CVRS de pacientes con distintas enfermedades. Los cuestionarios genéricos que se utilizan más frecuentemente en la enfermedad celíaca se muestran en la Tabla 1. El *Short Form Health Survey* (SF-36) se usa principalmente como un instrumento genérico en Gastroenterología. El SF-36 consta de 36 ítems que, de forma comprensiva, van encaminados a conocer y valorar el estado general de salud. Originalmente fue desarrollado para su utilización en el *Medical Outcomes Study* (Estudio Sobre Resultados Médicos)¹⁰. Fue diseñado para su uso tanto en la práctica clínica diaria como en estudios de investigación, evaluación de políticas de salud y encuestas realizadas en la población general. El SF-36 es actualmente el instrumento de medida del estado de salud más ampliamente utilizado, particularmente en la literatura sobre *Gastroenterología*. Existen versiones abreviadas de este instrumento, los denominados SF-20 y SF-12, con 20 y 12 ítems respectivamente, aunque su fiabilidad y validez son ligeramente inferiores a las del SF-36¹¹.

El cuestionario EuroQol (EQ-5D) se usa mundialmente como un instrumento de resultados referidos por el paciente para la medición y valoración de su estado de salud. Desarrollado por el EuroQol Group (Grupo EuroQol)¹², este instrumento mide la salud en cinco dimensiones: movilidad, capacidad de cuidar de sí mismo, actividades cotidianas, dolor/malestar y ansiedad/depresión. Cada dimensión se expresa en tres niveles de intensidad: sin problemas, algunos problemas/problemas moderados y problemas extremos/incapacidad de llevar a cabo la actividad.

Eypasch y cols. desarrollaron el *Gastrointestinal Quality of Life Index* (GIQLI, Índice de Calidad de Vida Gastrointestinal) para medir la CVRS en diversas enfermedades gastrointestinales¹³. Contiene 36 ítems con una valoración en una escala Likert de cinco puntos (rango 0-144). Evalúa los síntomas existentes durante las dos semanas previas a su realización.

Los cuestionarios genéricos pueden no reflejar adecuadamente el área de interés para un paciente o de una enfermedad específica y pueden carecer de la sensibilidad necesaria para detectar cambios importantes en el estado de salud a lo largo del tiempo. Por este motivo se han desarrollado cuestionarios específicos. Estos últimos son instrumentos específicos para una enfermedad, y son considerablemente más sensibles a los efectos de intervenciones y tendencias a lo largo del tiempo

de una enfermedad o condición específica¹⁴. Existen pocos instrumentos de medida de la CVRS diseñados específicamente para la EC. El *Celiac Disease Questionnaire* (CDQ, Cuestionario para Enfermedad Celíaca) fue desarrollado y validado por Häuser y cols.¹⁵. Este instrumento incluye 4 dominios con 7 ítems cada uno. Los problemas emocionales y sociales, las preocupaciones relacionadas con la enfermedad y los síntomas gastrointestinales son analizados durante las últimas dos semanas. El CDQ discrimina en todas las subescalas entre personas con y sin EC. El CDQ también ha sido validado en Italia¹⁶.

El *Celiac Disease Quality of Life Survey* (CD-QOL, Cuestionario de Calidad de Vida de la Enfermedad Celíaca) es un instrumento específico para la enfermedad celíaca fiable y válido, desarrollado por Dorn y cols.¹⁷. Incluye 20 preguntas sobre cuatro subescalas clínicamente relevantes (Limitaciones, Disforia, Preocupaciones sobre la Salud y Tratamiento inadecuado). El instrumento analiza las percepciones relacionadas con los síntomas de la EC a lo largo de los 30 días previos. Las preguntas se responden mediante una escala tipo Likert de cinco puntos que van del 1 al 5, donde 1 representa “no del todo” y 5 “mucho”. Para el análisis de los resultados, las respuestas se codifican a la inversa y son totalizadas. Una puntuación más elevada, con un valor máximo de 100, representa una mayor calidad de vida y un grado reducido de síntomas relacionados con la enfermedad celíaca.

Tabla 1. Instrumentos Genéricos para la Evaluación de la CVRS en Pacientes

Instrumento	Ítems	Cantidad de ítems	Categorías o dominios
SF-36	Preguntas	36	Funcionamiento físico Dolor corporal Limitaciones físicas Funcionamiento social Salud mental general Limitaciones emocionales Vitalidad (energía/fatiga) Percepción general de la Salud
EQ-5D	Declaraciones EAV*	5 + EAV	Movilidad Capacidad de cuidarse por sí mismo Actividades cotidianas Dolor/Malestar Ansiedad/Depresión
GIQLI	Preguntas	36	Síntomas GI Funcionamiento físico Funcionamiento social Funcionamiento emocional Evaluación subjetiva del tratamiento

TACQOL (niños)	Preguntas Escalas	56	Dolor y Síntomas (cuerpo) Funcionamiento motor básico Autonomía Funcionamiento cognitivo Funcionamiento social Funcionamiento emocional positivo global Funcionamiento emocional negativo global
-------------------	----------------------	----	--

VAS: *visual analogue scale*

Tabla 2. Instrumentos Específicos para la evaluación de la CVRS en Pacientes Celíacos.

Instrumento	Ítems	Cantidad de ítems	Categorías o dominios
CDQOL	Declaraciones	20	Limitaciones
			Disforia
			Preocupaciones de salud
			Tratamiento inadecuado
CDQ	Preguntas	28	Síntomas gastrointestinales
			Problemas emocionales
			Problemas sociales
			Preocupaciones relacionadas con la enfermedad
CDDUX	Preguntas	12	Comunicación
			Dieta
			Presentar EC

El CDQOL difiere del CDQ en que el segundo se enfoca sobre síntomas físicos tanto como psicológicos así como sobre deterioros del funcionamiento diario, mientras que el primero emplea un modelo basado en necesidades, que se aproxima más a las actitudes y percepciones de los individuos con EC que tienen relación con las necesidades básicas del trastorno¹⁸. El modelo basado en necesidades postula que la vida mejora su calidad en relación con la capacidad del individuo para satisfacer sus necesidades. La calidad de vida es mejor cuando estas necesidades se satisfacen y disminuye cuando no son satisfechas¹⁹. Las mediciones basadas en necesidades son más sensibles a cambios que se producen a lo largo del tiempo²⁰. El CDQOL también ha sido traducido y validado al castellano, en España²¹.

Para evaluar la calidad de vida en niños con enfermedad celíaca se dispone de dos cuestionarios. El *Generic Health-Related Quality of Life* para niños (TACQOL, Calidad de Vida Genérico) es un instrumento aplicable a niños del grupo de edad de 6-15 años²². Evalúa siete dominios de HRQOL: dolor y síntomas (cuerpo), funcionamiento motor básico (motor), autonomía (auto),

funcionamiento cognitivo (cognición), funcionamiento social (social), funcionamiento emocional positivo global (emo-pos) y funcionamiento emocional negativo global (emo-neg). Los ítems reciben una puntuación de 0 para ausencia de problemas de salud, 1 para un problema de estado de salud sin respuestas emocionales negativas y 2 para un problema de estado de salud con respuestas emocionales negativas.

El *Disease-Specific HRQOL Questionnaire for Children with CD* (CDDUX, Cuestionario HRQOL para Enfermedad Específica para Niños con EC) es un instrumento para pacientes con EC de 8 a 18 años de edad²³. El CDDUX incluye 12 ítems a través de 3 subescalas: Comunicación, Dieta y Presentar EC. El CDDUX también ha sido traducido y validado en Argentina²⁴.

La diferencia entre el TACQOL y el CDDUX reside en que el segundo es específico para la EC y, por lo tanto, obtiene información sobre aspectos de la vida que son influenciados por EC. Los aspectos específicos pueden ser evaluados por los niños como negativos, pero esto no significa que la percepción de su QOL genérica también sea negativa.

5. Impacto de la Enfermedad Celíaca sobre la CVRS del Paciente

La CVRS es un aspecto muy importante de la vida de las personas, y ha sido frecuentemente estudiada en la EC²⁵⁻³⁰. La CVRS del celíaco por lo general es menor que la de la población general. Los factores que la afectan están relacionados con las manifestaciones digestivas y/o extra-intestinales de la enfermedad, el cumplimiento de la dieta sin gluten (DSG) y también con el tiempo de evolución desde el diagnóstico.

Los pacientes sintomáticos sin tratamiento tienen una CVRS marcadamente reducida en relación con la población general²⁶⁻²⁹. Un estudio que utilizó el cuestionario EQ-5D recogiendo datos retrospectivos concluyó que la CVRS previa al diagnóstico de EC es cuantitativamente similar a la de los pacientes con accidentes cerebrovasculares²⁵.

Un estudio prospectivo transversal multicéntrico determinó que la CVRS de los pacientes celíacos recién diagnosticados y sin tratamiento presenta un deterioro significativo en las dimensiones analizadas y en la puntuación global, tanto con el EQ-5D como con el GIQLI²⁶. Las mujeres presentan una tendencia a una peor CVRS durante el curso de la enfermedad en algunos estudios^{31,32}, mas no en otros³³.

El impacto sobre la CVRS en el momento del diagnóstico de la EC también ha sido evaluado. En los pacientes adultos el proceso diagnóstico de la EC a menudo se realiza con retraso y ello puede asociarse con complicaciones de salud que podrían haberse evitado mediante un diagnóstico más temprano. Un reciente estudio transversal determinó que los síntomas de larga duración y la severidad de los mismos predisponen a los pacientes celíacos a la persistencia de los mismos y a tener una calidad de vida reducida³⁴. Los pacientes detectados mediante programas de cribado mues-

tran, por lo general, una mejor CVRS que los pacientes detectados por síntomas. Paavola y cols. estudiaron una cohorte de 466 pacientes celíacos detectados mediante cribado o sintomatología³⁵. Los autores observaron que la CVRS de los pacientes detectados mediante cribado era comparable a la de los controles no celíacos. Este hecho no se modificó con la DSG. La fatiga o cansancio marcado es un síntoma del que se quejan muchos pacientes celíacos y puede deteriorar la CVRS. En un estudio que evaluó la fatiga en la EC se demostró que los problemas relacionados con la fatiga y su intensidad fueron más marcados en pacientes con EC sin tratamiento. La presencia de fatiga estaba inversamente correlacionada con la percepción de salud de los pacientes³⁶.

5.1. Dieta sin Gluten y Calidad de Vida

Actualmente, la DSG mantenida de por vida es el único tratamiento para la EC. La DSG requiere un cambio radical y mantenido en los hábitos cotidianos de alimentación. La DSG puede ser problemática, cara y socialmente restrictiva, lo que genera inconvenientes en su adherencia y puede impactar la CVRS de los pacientes celíacos. El cambio de patrones dietarios de por vida puede ser laborioso, habiéndose descrito que el cumplimiento medio de la DSG, oscila entre un 42% y 91%, dependiendo del método de evaluación³⁷. No obstante, hasta 50% de los pacientes no se adhieren estrictamente a la dieta sin gluten (voluntaria o involuntariamente) y desarrollarán una sintomatología activa³⁸. En pacientes celíacos sintomáticos, la DSG consigue una rápida recuperación de los síntomas y una clara mejoría en la CVRS^{30,31,35,39-41} y la adherencia a la DSG también permite la restauración progresiva de la percepción de su calidad de vida³³. Parece que esta mejoría se mantiene a largo plazo y los pacientes que observan un cumplimiento estricto, pueden alcanzar una CVRS a largo plazo comparable con la de personas sanas^{26,42-44}. Un estudio longitudinal que aportó datos a largo plazo de pacientes que fueron seguidos durante 4 años a partir del diagnóstico observó un deterioro de la CVRS a largo plazo, en pacientes con un peor cumplimiento de la DSG⁴⁵. Un interesante estudio llevado a cabo por Barratt y cols. evaluó el grado de dificultad percibida en seguir una DSG en 225 pacientes celíacos⁴⁶. Los autores determinaron una reducción en la CVRS en pacientes que referían una mayor dificultad en el seguimiento de la DSG.

Los estudios sobre el efecto de la DSG en la CVRS en pacientes con EC asintomáticos detectados mediante cribado han demostrado que permanece idéntica a la de los controles sanos^{43,44} o inclusive experimenta cierta mejoría²⁹.

6. Conclusión

La enfermedad celíaca implica cambios permanentes en diferentes aspectos de la vida de los pacientes, lo que conduce a un deterioro de su calidad de vida.

La atención global a la persona con enfermedad celíaca debería dirigirse a conseguir una mejora de los síntomas físicos y una disminución del impacto psicosocial de la enfermedad.

Referencias

1. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of G. *ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease*. The American journal of gastroenterology. 2013; 108(5): 656-76; quiz 77.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.79>
PMid:23609613 PMCID:PMC3706994
2. Kurppa K, Collin P, Maki M, Kaukinen K. *Celiac disease and health-related quality of life*. Expert review of gastroenterology & hepatology. 2011; 5(1): 83-90.
<http://dx.doi.org/10.1586/egh.10.81>
PMid:21309674
3. Kerr GD. Quality of Life - a personal view. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1993; 199 Suppl: 14-5.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365529309098348>
4. Glise H, Wiklund I. *Health-related quality of life and gastrointestinal disease*. Journal of gastroenterology and hepatology. 2002; 17 Suppl: S72-84.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1746.17.s1.6.x>
PMid:12000595
5. Camilleri-Brennan J, Steele RJ. *Measurement of quality of life in surgery*. Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh. 1999; 44(4): 252-9.
PMid:10453149
6. Testa MA, Simonson DC. *Assessment of quality-of-life outcomes*. The New England journal of medicine. 1996; 334(13): 835-40.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199603283341306>
PMid:8596551
7. Cella D, Riley W, Stone A, Rothrock N, Reeve B, Yount S et al. *The Patient-Reported Outcomes Measurement Information System (PROMIS) developed and tested its first wave of adult self-reported health outcome item banks: 2005-2008*. Journal of clinical epidemiology. 2010; 63(11): 1179-94.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclinepi.2010.04.011>
PMid:20685078 PMCID:PMC2965562
8. Schipper H. *Guidelines and caveats for quality of life measurement in clinical practice and research*. *Oncology*. 1990; 4(5): 51-7; discussion 70.
PMid:2143410
9. Reck M, Thatcher N, Smit EF, Lorigan P, Szutowicz-Zielinska E, Liepa AM et al. *Baseline quality of life and performance status as prognostic factors in patients with extensive-stage disease small cell lung cancer treated with pemetrexed plus carboplatin vs. etoposide plus carboplatin*. Lung cancer. 2012; 78(3): 276-81.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2012.09.002>
PMid:23043970

10. Ware JE, Jr, Sherbourne CD. *The MOS 36-item short-form health survey (SF- 36)*. I. Conceptual framework and item selection. *Medical care*. 1992; 30(6): 473-83.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005650-199206000-00002>
PMid:1593914
11. Stewart AL, Hays RD, Ware JE, Jr. *The MOS short-form general health survey*. Reliability and validity in a patient population. *Medical care*. 1988; 26(7): 724-35.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005650-198807000-00007>
PMid:3393032
12. Rabin R, Gudex C, Selai C, Herdman M. *From translation to version management: a history and review of methods for the cultural adaptation of the EuroQol five-dimensional questionnaire*. *Value in health: the journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research*. 2014; 17(1): 70-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jval.2013.10.006>
PMid:24438719
13. Eypasch E, Williams JI, Wood-Dauphinee S, Ure BM, Schmulling C, Neugebauer E et al. *Gastrointestinal Quality of Life Index: development, validation and application of a new instrument*. *The British journal of surgery*. 1995; 82(2): 216- 22.
<http://dx.doi.org/10.1002/bjs.1800820229>
PMid:7749697
14. Guyatt GH, Feeny DH, Patrick DL. *Measuring health-related quality of life*. *Annals of internal medicine*. 1993; 118(8): 622-9.
<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-118-8-199304150-00009>
PMid:8452328
15. Hauser W, Gold J, Stallmach A, Caspary WF, Stein J. *Development and validation of the Celiac Disease Questionnaire (CDQ), a disease-specific healthrelated quality of life measure for adult patients with celiac disease*. *Journal of clinical gastroenterology*. 2007; 41(2): 157-66.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.mcg.0000225516.05666.4e>
PMid:17245214
16. Marchese A, Klersy C, Biagi F, Balduzzi D, Bianchi PI, Trotta L et al. *Quality of life in coeliac patients: Italian validation of a coeliac questionnaire*. *European journal of internal medicine*. 2013; 24(1): 87-91.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2012.09.015>
PMid:23102568
17. Dorn SD, Hernandez L, Minaya MT, Morris CB, Hu Y, Leserman J et al. *The development and validation of a new coeliac disease quality of life survey (CD-QOL)*. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010; 31(6): 666-75.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04220.x>
PMid:20015103

18. Hunt SM, McKenna SP. *The QLDS: a scale for the measurement of quality of life in depression*. Health policy. 1992; 22(3): 307-19.
[http://dx.doi.org/10.1016/0168-8510\(92\)90004-U](http://dx.doi.org/10.1016/0168-8510(92)90004-U)
19. Acquadro C, Conway K, Hareendran A, Aaronson N, European Regulatory I, Quality of Life Assessment G. *Literature review of methods to translate health-related quality of life questionnaires for use in multinational clinical trials*. Value in health: the journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research. 2008; 11(3): 509-21.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1524-4733.2007.00292.x>
PMid:18179659
20. Doward LC, McKenna SP, Meads DM. *Effectiveness of needs-based quality of life instruments*. Value in health: the journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research. 2004; 7 Suppl 1: S35-8.
21. Casellas F, Rodrigo L, Molina-Infante J, Vivas S, Lucendo AJ, Rosinach M et al. *Transcultural adaptation and validation of the Celiac Disease Quality of Life (CDQOL) survey, a specific questionnaire to measure quality of life in patients with celiac disease*. Revista espanola de enfermedades digestivas: organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva. 2014; 105(10): 585-93.
<http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082013001000003>
22. Verrips GH, Vogels T, Koopman HM, Theunissen NC, Kamphuis RP, Wit JM et al. *Measuring health-related quality of life in a child population*. Eur J Public Health. 1999; 9(3): 188-93.
<http://dx.doi.org/10.1093/eurpub/9.3.188>
23. van Doorn RK, Winkler LM, Zwinderman KH, Mearin ML, Koopman HM. *CDDUX: a disease-specific health-related quality-of-life questionnaire for children with celiac disease*. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2008; 47(2): 147-52.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31815ef87d>
PMid:18664865
24. Pico M, Spirito MF, Roizen M. *Quality of life in children and adolescents with celiac disease: Argentinian version of the specific questionnaire CDDUX*. Acta gastroenterologica Latinoamericana. 2012; 42(1): 12-9.
PMid:22616492
25. Gray AM, Papanicolas IN. *Impact of symptoms on quality of life before and after diagnosis of coeliac disease: results from a UK population survey*. BMC health services research. 2010; 10: 105.
<http://dx.doi.org/10.1186/1472-6963-10-105>
PMid:20423498 PMCID:PMC2907763
26. Casellas F, Rodrigo L, Vivancos JL, Riestra S, Pantiga C, Baudet JS et al. *Factors that impact health-related quality of life in adults with celiac disease: a multicenter study*. World journal of gastroenterology: WJG. 2008; 14(1): 46-52.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.46>
PMid:18176960 PMCID:PMC2673390

27. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, Goldstein SL, McMahon DJ, Absan H et al. *Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey*. The American journal of gastroenterology. 2001; 96(1): 126-31.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03462.x>
PMid:11197241
28. Lee AR, Ng DL, Diamond B, Ciaccio EJ, Green PH. *Living with coeliac disease: survey results from the U.S.A. Journal of human nutrition and dietetics: the official journal of the British Dietetic Association*. 2012; 25(3): 233-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2012.01236.x>
PMid:22364496
29. Ciacci C, D'Agate C, De Rosa A, Franzese C, Errichiello S, Gasperi V et al. *Self-rated quality of life in celiac disease*. Digestive diseases and sciences. 2003; 48(11): 2216-20.
<http://dx.doi.org/10.1023/B:DDAS.0000004530.11738.a2>
PMid:14705832
30. Ukkola A, Maki M, Kurppa K, Collin P, Huhtala H, Kekkonen L et al. *Diet improves perception of health and well-being in symptomatic, but not asymptomatic, patients with celiac disease*. Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2011; 9(2): 118-23.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2010.10.011>
PMid:21029791
31. Hallert C, Granno C, Hulten S, Midhagen G, Strom M, Svensson H et al. *Living with coeliac disease: controlled study of the burden of illness*. Scandinavian journal of gastroenterology. 2002; 37(1): 39-42.
<http://dx.doi.org/10.1080/003655202753387338>
PMid:11843033
32. Roos S, Wilhelmsson S, Hallert C. *Swedish women with coeliac disease in remission use more health care services than other women: a controlled study*. Scandinavian journal of gastroenterology. 2011; 46(1): 13-9.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2010.516448>
PMid:20809768
33. Tontini GE, Rondonotti E, Saladino V, Saibeni S, de Franchis R, Vecchi M. *Impact of gluten withdrawal on health-related quality of life in celiac subjects: an observational case-control study*. Digestion. 2010; 82(4): 221-8.
<http://dx.doi.org/10.1159/000265549>
PMid:20588037
34. Paarlahti P, Kurppa K, Ukkola A, Collin P, Huhtala H, Maki M et al. *Predictors of persistent symptoms and reduced quality of life in treated coeliac disease patients: a large cross-sectional study*. BMC gastroenterology. 2013; 13: 75.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-13-75>
PMid:23631482 PMCID:PMC3651340

35. Paavola A, Kurppa K, Ukkola A, Collin P, Lahdeaho ML, Huhtala H et al. *Gastrointestinal symptoms and quality of life in screen-detected celiac disease*. Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2012; 44(10): 814-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.04.019>
PMid:22673312
36. Casellas Jorda F, Lopez Vivancos J. *Fatigue as a determinant of health in patients with celiac disease*. Journal of clinical gastroenterology. 2010; 44(6): 423-7.
PMid:19935081
37. Black JL, Orfila C. *Impact of coeliac disease on dietary habits and quality of life*. Journal of human nutrition and dietetics: the official journal of the British Dietetic Association. 2011; 24(6): 582-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2011.01170.x>
PMid:21615555
38. Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V, Mora A, Bertolazzi S, Turini D et al. *Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet*. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2009; 29(12): 1299-308.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.03992.x>
PMid:19302264
39. Zarkadas M, Cranney A, Case S, Molloy M, Switzer C, Graham ID et al. *The impact of a gluten-free diet on adults with coeliac disease: results of a national survey*. Journal of human nutrition and dietetics: the official journal of the British Dietetic Association. 2006; 19(1): 41-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2006.00659.x>
PMid:16448474
40. Roos S, Karner A, Hallert C. *Psychological well-being of adult coeliac patients treated for 10 years*. Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2006; 38(3): 177-80.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2006.01.004>
PMid:16461026
41. Norstrom F, Lindholm L, Sandstrom O, Nordyke K, Ivarsson A. *Delay to celiac disease diagnosis and its implications for health-related quality of life*. BMC gastroenterology. 2011; 11: 118.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-11-118>
PMid:22060243 PMCID:PMC3233515
42. Nordyke K, Norstrom F, Lindholm L, Stenlund H, Rosen A, Ivarsson A. *Health-related quality of life in adolescents with screening-detected celiac disease, before and one year after diagnosis and initiation of gluten-free diet, a prospective nested case-referent study*. BMC public health. 2013; 13: 142.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-13-142>
PMid:23414483 PMCID:PMC3585471

43. Nachman F, Maurino E, Vazquez H, Sfoggia C, Gonzalez A, Gonzalez V et al. Quality of life in celiac disease patients: prospective analysis on the importance of clinical severity at diagnosis and the impact of treatment. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2009; 41(1): 15-25.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2008.05.011>
PMid:18602354
44. Johnston SD, Rodgers C, Watson RG. *Quality of life in screen-detected and typical coeliac disease and the effect of excluding dietary gluten*. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2004; 16(12): 1281-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200412000-00008>
45. Nachman F, del Campo MP, Gonzalez A, Corzo L, Vazquez H, Sfoggia C et al. *Long-term deterioration of quality of life in adult patients with celiac disease is associated with treatment noncompliance*. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010; 42(10): 685-91.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2010.03.004>
PMid:20399159
46. Barratt SM, Leeds JS, Sanders DS. *Quality of life in Coeliac Disease is determined by perceived degree of difficulty adhering to a gluten-free diet, not the level of dietary adherence ultimately achieved*. *Journal of gastrointestinal and liver diseases: JGLD*. 2011; 20(3): 241-5.
PMid:21961090

CAPÍTULO 13

SENSIBILIDAD AL GLUTEN NO CELÍACA.

Javier Molina-Infante¹, Santos Santolaria², Fernando Fernández-Bañares^{3,4}

¹Departamento de Gastroenterología. Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres, España.

²Departamento de Gastroenterología. Hospital San Jorge, Huesca, España.

³Departamento de Gastroenterología. Hospital Universitario Mutua Terrassa, Barcelona, España.

⁴CIBERehd, España.

xavi_molina@hotmail.com

ssantolariap@gmail.com

ffbanares@mutuaterrassa.es

Cómo citar este capítulo:

Molina-Infante J, Santolaria S, Fernández-Bañares F. *Sensibilidad al Gluten no Celíaca*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC) es un trastorno emergente caracterizado por la presencia de síntomas intestinales y extraintestinales, relacionados con la ingesta de alimentos que contienen gluten, en sujetos no afectados por enfermedad celíaca (EC) o alergia al trigo. A pesar de la carencia de datos epidemiológicos sólidos, se ha estimado que su prevalencia es entre cinco y diez veces mayor que la de la EC, lo que ha contribuido a que las ventas mundiales de alimentos sin gluten, especialmente en los EEUU, se hayan triplicado durante los últimos años. A diferencia de la EC, la SGNC parece estar asociada principalmente con la activación de la respuesta inmune innata. La SGNC sigue siendo un diagnóstico de exclusión de la EC debido a la ausencia de marcadores diagnósticos específicos. La evidencia más reciente ha indicado la posibilidad de que una proporción relevante de la SGNC descrita en la literatura en realidad se trate de formas menores de la EC que han sido obviadas perteneciendo a la denominada enfermedad celíaca “leve”. La eficacia de una dieta sin gluten para la SGNC es discutible y recientemente se ha postulado que otros componentes del trigo, aparte del gluten, son contribuyentes importantes en la aparición de los síntomas, especialmente los carbohidratos de cadena corta de pobre absorción y baja fermentación. Esta reseña actualiza la evidencia sobre epidemiología, fisiopatología, diagnóstico e intervenciones dietéticas en la SGNC, recordando la necesidad de realizar un escrupuloso cribado para EC antes de emitir un diagnóstico de SGNC, considerando que la historia natural y restricción de la dieta para ambas entidades son radicalmente diferentes.

Palabras clave

Sensibilidad al gluten no celíaca, enfermedad celíaca, FODMAP, Dieta sin gluten, trigo, síndrome de intestino irritable.

Abreviaturas

EC: Enfermedad celíaca

FODMAPs: Oligosacáridos, Disacáridos, Monosacáridos y Polioles fermentables

DSG: Dieta sin gluten

HLA-DQ2/DQ8: Antígenos leucocitarios humanos DQ2/DQ8

EL: Enteritis linfocítica

SGNC: Sensibilidad al gluten no celíaca

1. Introducción

La sensibilidad al gluten no celiaca (SGNC) fue originalmente descrita en 1976 y 1978^{1,2} y la primera serie de estudios sobre el tema se remonta a 1980³, pero solo desde 2010 un número rápidamente creciente de publicaciones ha llamado la atención de los autores sobre una entidad aparentemente novedosa que supone un auténtico reto a los médicos e investigadores involucrados en el campo de los trastornos relacionados con el gluten. La SGNC se caracteriza por la presencia de síntomas intestinales y extraintestinales relacionados con la ingesta de alimentos con gluten en sujetos que no están afectados por la enfermedad celiaca o alergia al trigo. La SGNC carece actualmente de criterios diagnósticos y sigue siendo principalmente un diagnóstico por exclusión de la EC. Además siguen sin aclararse muchos aspectos de su epidemiología, fisiopatología, espectro clínico y tratamiento. A pesar de estas limitaciones, se ha descrito que la SGNC presumiblemente afecta entre un 5-10% de la población en Occidente; por otro lado, los alimentos sin gluten han crecido en popularidad entre pacientes no celiacos⁴. De hecho, en el mercado de los EE.UU., las ventas de alimentos sin gluten se han triplicado entre 2006 y 2010 y se espera otro incremento similar para 2015⁵. Una publicación reciente comunicó que cerca de un tercio de la población adulta en los EE.UU. (el mayor porcentaje jamás registrado) han expresado su intención de suprimir el gluten en su dieta⁶. Por lo tanto la SGNC se ha asentado plenamente entre los trastornos relacionados con el gluten como una entidad clínica, social y económicamente relevante.

Los criterios diagnósticos propuestos para la SGNC se muestran en la Tabla 1⁷⁻⁹, mientras que la Tabla 2 presenta un resumen de las principales diferencias patogénicas y clínicas entre EC y SGNC⁸. Esta revisión pretende ofrecer una perspectiva general de la evidencia disponible sobre la SGNC, enfocándose sobre su epidemiología, la adecuada distinción entre ésta y la EC, (antes de llegar a un diagnóstico de SGNC), la patogenia y la eficacia de las diferentes intervenciones dietéticas recomendadas para los pacientes con SGNC.

Tabla 1. Criterios Diagnósticos Actuales propuestos para la SGNC⁷⁻⁹.

1. La ingesta de gluten inicia la rápida aparición de los síntomas intestinales y extraintestinales que desaparecen con la retirada del gluten y reaparecen al reintroducirlo.
2. IgE específicos para gluten y trigo y pruebas cutáneas con resultados negativos (exclusión de alergia al trigo).
3. Serología de enfermedad celiaca (Anticuerpos anti-endomisio IgA, anticuerpos anti-transglutaminasa tisular IgA, anticuerpos antigliadina deamidados del tipo IgG) con resultados negativos.
4. No se detecta atrofia vellositaria en la histología duodenal (exclusión de EC).

Observaciones:
- HLA-DQ2 y/o -DQ8 positivos en el 40-50% de pacientes con SGNC.
- Puede hallarse una mucosa duodenal normal o encontrar un aumento del número de linfocitos intraepiteliales en las biopsias intestinales
- Positividad de anticuerpos antigliadina (principalmente de la clase IgG) en alrededor del 50% de pacientes con SGNC.

Tabla 2. Diferencias Patogénicas, Clínicas y Pronósticas entre la EC y la SGNC⁸⁻¹¹.

	Enfermedad celíaca (EC)	Sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC)
Intervalo de exposición al gluten y aparición de síntomas	De una semana a varios años	De horas a días
Patogenia	Inmunidad adaptativa	Inmunidad innata
HLA	HLA-DQ2/DQ8 positivo en un 95% de casos	HLA-DQ2/DQ8 positivo en el 40-50% de casos
Síntomas	Síntomas gastrointestinales y extraintestinales; indistinguibles de la SGNC y alergia al trigo	Síntomas gastrointestinales y extraintestinales; indistinguibles de la EC y alergia al trigo
Autoanticuerpos (incluyendo antiendomiso IgA y anticuerpos anti-transglutaminasa tisular)	Casi siempre presentes*	Siempre ausentes
Histopatología	Atrofia vellositaria casi siempre presente**	Atrofia vellositaria siempre ausente
Historia natural	Trastornos coexistentes	Una DSG estricta no parece ser obligatoria debido a su historia natural
	Complicaciones a largo plazo	
Dieta sin gluten (DSG)	Una DSG estricta modifica la historia natural de la enfermedad	Una Dieta sin gluten estricta no parece ser obligatoria debido a su historia natural

*De acuerdo con las guías actualizadas de la ESPGHAN¹⁰, los anticuerpos para la EC no son detectables en sangre en todos los pacientes con EC; se recomienda, en casos seronegativos para anti-TG2, EMA y anti-DGP con síntomas severos y fuerte sospecha clínica de EC, efectuar biopsias del intestino delgado y pruebas HLA-DQ. De acuerdo con las reglas diagnósticas de Catassi y Fasano¹¹, la respuesta a la DSG que sustente un diagnóstico de EC podría evaluarse histológicamente en pacientes con seronegatividad.

**De acuerdo con las guías actualizadas de la ESPGHAN¹⁰, la linfocitosis intraepitelial (LE), sin

atrofia vellositaria, podría ser específica para EC, cuando existe un recuento elevado de linfocitos $\gamma\delta$ (o razón $\gamma\delta/CD3$) en la evaluación inmunohistoquímica de las biopsias, o la presencia de depósitos intestinales de anti-TG2 IgA. De acuerdo con las reglas diagnósticas de Catassi y Fasano¹¹, la enteropatía celíaca de la biopsia del intestino delgado, podría ser una LE, sin atrofia vellositaria, asociada con la presencia de depósitos subepiteliales de IgA.

2. Epidemiología

Aún se desconoce la presencia global de la SGNC en la población general, principalmente debido a que muchos pacientes actualmente se autodiagnostican e inician una dieta sin gluten (DSG), sin consejo o consulta médica. Además la SGNC carece de verdaderos marcadores serológicos, genéticos e histológicos. Pese a la falta de disponibilidad de estudios epidemiológicos sobre la SGNC, los trabajos disponibles indican que es de cinco a diez veces más frecuente que la EC^{4,9}. Estudios recientes han mostrado tasas muy variables de SGNC autodiagnosticada (0.55% en los EE.UU.¹², 5% en niños en Nueva Zelanda¹³, 13% en adultos en el Reino Unido¹⁴). En pacientes con sensibilidad al gluten autodiagnosticada la supresión del el gluten dietario, se asocia con una mejoría en las molestias no específicas gastrointestinales así como del comportamiento^{13,15}. No obstante, en la gran mayoría de los niños con SGNC que participaron en uno de los estudios antes mencionados, no se realizó un adecuado cribado previo de EC y no se les efectuó biopsia intestinal¹⁶. En un estudio del Reino Unido, el 7% de los pacientes con SGNC fueron reclasificados como pacientes celíacos durante el estudio¹⁴, mientras que un reciente estudio llevado a cabo en Australia obtuvo resultados de mejoría como consecuencia del seguimiento de una DSG en alrededor de 1 de cada 4 pacientes que cumplían con los criterios estrictos para un diagnóstico de SGNC¹⁷. Un 62% de los pacientes inició una DSG sin haber excluido una EC adecuadamente. La exclusión inadecuada de EC en pacientes con mejoría al iniciar una DSG por cuenta propia (sin llevar a cabo un genotipado HLA y una serología adecuada combinada con la toma de biopsias del intestino delgado si existen haplotipos positivos) podría conducir a una sobrestimación de la prevalencia de la SGNC y de la respuesta a la DSG en pacientes con SGNC.

A pesar de que aún no se han identificado los factores de riesgo para la SGNC, el trastorno parece ser más frecuente en mujeres y adultos jóvenes/de mediana edad. Aún se desconoce la prevalencia de la SGNC en niños, a pesar de que recientemente se ha descrito la primera serie¹⁸ de estudios sobre el tema.

3. Cuadro Clínico e Historia Natural

La SGNC se caracteriza por la presencia de síntomas que habitualmente se manifiestan al poco tiempo posterior a la ingesta de alimentos con gluten desapareciendo con la suspensión de los mismos y recayendo posteriormente al reintroducirlo al cabo de horas o unos pocos días. La presentación “clásica” de la SGNC es una combinación de síntomas similares al síndrome del intestino irritable, incluyendo dolor abdominal, distensión abdominal, alteraciones del hábito intes-

tinal (diarrea o estreñimiento) y manifestaciones sistémicas tales como “mente borrosa”, dolor de cabeza, fatiga, dolor articular y muscular, entumecimiento en piernas o brazos, dermatitis (eczema o rash cutáneo) y depresión⁷⁻⁹. También es muy frecuente que muchos pacientes con SGNC informen de la relación causal existente entre la ingesta de alimentos con gluten y el empeoramiento de sus síntomas. En niños, las manifestaciones extra-intestinales parecen ser menos frecuentes, entre las cuales el cansancio prolongado sin motivo aparente el más común¹⁸.

No se ha descrito, hasta el momento, agregación o complicación mayor de la SGNC sin tratamiento, especialmente relacionada con la malabsorción y comorbilidades autoinmunes⁷⁻⁹. Varios estudios han descrito una notable prevalencia de síntomas de malabsorción, historia familiar de EC y trastornos autoinmunes, en pacientes con SGNC^{3,19-24}. No obstante, existen recuentes dudas, acerca de la posibilidad de haber clasificado pacientes con EC como pacientes con SGNC.

4. SGNC: ¿Cuántos Pacientes Realmente Padecen Enfermedad “Celíaca Leve”?

Los dos criterios principales y consistentes que sustentan el diagnóstico de la SGNC y descartan la EC, son la serología de EC negativa (incluyendo anticuerpos anti-endomisio IgA, anticuerpos anti-transglutaminasa tisular IgA y anticuerpos anti-péptidos de gliadina deamidada IgG) y la ausencia de atrofia vellositaria en las biopsias duodenales⁷⁻⁹. No obstante, se acepta que pacientes con SGNC no presenten atrofia vellositaria, pero que presenten un número aumentado de linfocitos duodenales intraepiteliales (>25 linfocitos intraepiteliales/100 células epiteliales); es decir, enteritis linfocítica (EL) la cual es consistente con lesiones tipo Marsh 1 en la clasificación histológica para EC de Marsh-Oberhuber⁷⁻⁹. La EL es una lesión histológica no específica que puede estar asociada no solamente con la EC, sino también con una infección por *Helicobacter pylori*, sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado o utilización de fármacos anti-inflamatorios. No obstante, la causa más frecuente de EL en pacientes con HLA-DQ2/DQ8 positivo, posterior a análisis diagnóstico exhaustivo es la EC, la cual oscila entre 16% y 43%²⁵⁻²⁸. Además, la EC seronegativa es más frecuente en pacientes sin atrofia vellositaria, pero se ha demostrado que los pacientes celíacos con lesiones histológicas Marsh 1 pueden presentar manifestaciones clínicas similares a las de aquéllos que presentan atrofia vellositaria^{29,30} y pueden presentar una remisión clínico-histológica y reversión de los trastornos hematológicos o bioquímicos al seguir una DSG^{31,32}.

Es importante establecer una distinción clara entre EC y SGNC en pacientes con síntomas dependientes del gluten, especialmente en ausencia de autoanticuerpos y/o atrofia vellositaria. En este aspecto, las guías de consenso de la Sociedad Europea Pediátrica de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) indican que un recuento elevado de células $\gamma\delta$ (o una razón $\gamma\delta/CD3$) en la evaluación inmunohistoquímica de las biopsias, o la presencia de depósitos intestinales de anti-TG2 IgA, podría ser específica para EC en pacientes con EL¹⁰. De forma similar, Catassi y Fasano publicaron reglas simplificadas para definir los criterios diagnósticos de EC, aceptando que la enteropatía celíaca en las biopsias del intestino delgado podría tratarse de una EL asociada con depósitos subepiteliales de IgA, mientras que la respuesta a una DSG que ayude

a establecer un diagnóstico de EC podría evaluarse histológicamente en pacientes con seronegatividad¹¹.

En una reciente revisión de la literatura disponible sobre exclusión de la EC en pacientes con SGNC³³, nuestro grupo ha detectado errores metodológicos en los protocolos diagnósticos exhaustivos realizados para descartar una EC antes de emitir un diagnóstico de SGNC, en acuerdo con el estudio australiana anteriormente mencionado¹⁷. Entre 1,561 pacientes con SGNC evaluados, los haplotipos HLA no pudieron ser vinculados con la histología (normal, o EL) en 1.123 pacientes. Además, hasta un 20% de los pacientes con SGNC fueron reclasificados como celíacos en tres estudios que emplearon técnicas diagnósticas avanzadas en 189 pacientes con SGNC combinando EL y haplotipos HLA-DQ2/DQ8.

En general, la evidencia acerca de la evolución de los pacientes sugiere que un subgrupo de pacientes con SGNC podría, en realidad, pertenecer al espectro de la EC, específicamente los pacientes que cursan con anticuerpos negativos y sin atrofia vellositaria, lo que ha sido llamada por algunos autores como enfermedad “celíaca leve”³⁴. Existen dos estudios que podrían ofrecer un ejemplo clave para este modo de pensar. En el primero, llevado a cabo en Alemania, los autores evaluaron 102 pacientes con síndrome de intestino irritable (SII) con diarrea, en quienes se excluyó la EC mediante serología negativa y ausencia de atrofia vellositaria³⁵. Treinta y cinco por ciento de los pacientes fueron HLA-DQ2 positivos, 23% presentaron EL y notablemente, 30% presentaron anticuerpos asociados con EC, en aspirados duodenales. Los pacientes positivos para HLA-DQ2 y anticuerpos intestinales mejoraron significativamente al adherirse a una DSG y probablemente presentaban enfermedad celíaca. El segundo estudio, procedente de Italia, se realizó sobre 70 pacientes adultos con SGNC identificados mediante una prueba de trigo, controlada por placebo, aleatorizada y doble ciego²⁰. Los pacientes fueron seronegativos sin atrofia vellositaria, pero 94% de los pacientes etiquetados de SGNC presentaban EL, 75% presentaron haplotipos de EC y 30% anticuerpos anti-endomisio positivos en el sobrenadante del cultivo de biopsias³⁶. Los autores admitieron que este 30% de pacientes con SGNC podrían, en realidad, presentar una EC³⁷. Por lo tanto, en ausencia de esfuerzos adecuados para excluir EC, la inclusión de pacientes con HLA-DQ2/DQ8 positivo y EL en el diagnóstico de la SGNC planteará la duda de un mal diagnóstico potencial de enfermedad celíaca “leve”. Un mal diagnóstico de SGNC en pacientes con EC depende no sólo de la posibilidad de que un paciente que presenta EC no siga una dieta sin gluten estricta, sino también de sobrevalorar la respuesta a la DSG en pacientes con SGNC.

5. Patogenia

Aún no se comprende plenamente la fisiopatología de la SGNC. Varios estudios pioneros sugirieron un papel importante de la inmunidad innata intestinal en la SGNC, a diferencia de la EC, en la cual está activada una respuesta inmune adaptativa^{38,39}. No obstante, estudios más recientes han planteado la posibilidad de que la SGNC sea una enfermedad mixta, con la activación tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa^{40,41}.

Durante los últimos 3 años hemos presenciado el debilitamiento progresivo de la teoría de que las proteínas relacionadas con el gluten son la causa de la SGNC. De hecho, el trigo posee múltiples componentes, de modo que la discusión sobre la SGNC no puede dejar de considerar otros componentes del trigo como potenciales responsables por la SGNC⁴². Los dos componentes principales del trigo son, cuantitativamente, carbohidratos (71 g/100 mg) y proteínas (12.6 g/100 g). Los carbohidratos pueden ser clasificados en azúcares, oligosacáridos y polisacáridos, con base en su grado de polimerización. Un grupo de carbohidratos son etiquetados como “fermentables” debido a su fermentabilidad en el colon, lo que se debe a la ausencia o concentración reducida de enzimas hidrolasas, apropiadas para su digestión (por ejemplo, deficiencia de lactasa) o en el caso de los monosacáridos, debido a su absorción incompleta a nivel del intestino delgado. Estos carbohidratos fermentables de cadena corta (denominados FODMAPs, *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols*; Oligosacáridos, Disacáridos, Monosacáridos y Polioles Fermentables) son capaces de inducir síntomas gastrointestinales (dolor abdominal, flatulencia y diarrea) mediante sus efectos sobre el manejo del agua luminal y la producción de gas colónico⁴³. En lo referente a la mejoría de la SGNC al seguir una DSG, la retirada del gluten podría reducir la ingesta de fructanos, el principal carbohidrato del trigo que podría ser en realidad el causante del problema.

Aparte de los carbohidratos, se han postulado otros causantes potenciales de los síntomas digestivos en el trigo tales como las proteínas no asociadas al gluten (α -amilasa/inhibidores de tripsina), las cuales se ha sugerido recientemente son capaces de inducir inflamación intestinal, así como polifenoles o aglutininas del germen de trigo⁴².

Varios estudios han analizado los agentes causales y potenciales vías fisiopatológicas implicados en la SGNC, que se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Mecanismos Patogénicos para explicar Síntomas en Pacientes con SGNC posterior a la Ingesta del Trigo.

Efectos de la Gliadina sobre la Mucosa Intestinal
- Incremento de la permeabilidad epitelial con alteración de la expresión de las proteínas componentes de las uniones intercelulares (tight junction), (zonulina) ⁴⁴
- Activación de la respuesta inmune innata con producción de IL-15 (estudios in vitro) e incremento en el número de linfocitos intraepiteliales ⁴⁵
- Inducción de apoptosis, aumento en el estrés oxidativo e inhibición del crecimiento de las células epiteliales (estudios in vitro) ⁴⁶
- Amplificación de la producción de citoquinas por parte de las células mononucleares de sangre periférica independientemente de la genética DQ, e inducción de la activación de los basófilos (estudios in vitro) ⁴⁴

- Estimulación del sistema nervioso colinérgico, secundaria a la liberación de acetilcolina por parte del plexo mesentérico (estudios animales) ⁴⁷
Agentes causales distintos del gluten
- Carbohidratos presentes en el trigo, tales como fructanos, son mal absorbidos y pueden producir síntomas gastrointestinales ⁴⁸
- La fermentación de proteínas de gluten no digeridas por parte de las bacterias reductoras de sulfatos, puede producir sulfuro de hidrógeno y amoníaco; estos gases podrían tener un efecto local sobre la distensión luminal y efectos sistémicos (cansancio) ⁴⁹
- Otras proteínas del gluten, incluyendo alfa amilasa/inhibidores de tripsina e incluso levaduras, podrían poseer un papel como activadores de la respuesta inmune innata ⁵⁰

6. La Dieta Sin Gluten para la SGNC: ¿Se Encuentra la Clave en el Gluten o en la Restricción de Carbohidratos?

Hasta la fecha, se han publicado cuatro estudios basados en intervenciones en la dieta controlados con placebo en pacientes con SGNC^{20,51-53}. Carroccio y cols. han comunicado que los pacientes con SGNC podrían ser seleccionados con base en una prueba de provocación con gluten, doble-ciego, controlado con placebo²⁰. En este contexto, 276 de 920 (30%) pacientes con SII que siguieron una DSG fueron considerados como SGNC. En comparación con el placebo, el trigo indujo significativamente más síntomas en pacientes diagnosticados como SGNC. No obstante, es importante resaltar, que un 30% de pacientes con SGNC en esta prueba, eran portadores de haplotipos HLA, LE y EmA positivo en un medio de cultivo de biopsia, así que muy probablemente 1 de cada 3 pacientes con SGNC incluidos en este estudio presentaban una EC, como admitieron los propios autores³⁷. Los otros tres estudios han sido llevados a cabo por el mismo grupo australiano, con resultados contradictorios⁵¹⁻⁵³. Al participar en una segunda prueba de provocación del gluten vs. placebo, los pacientes que recibieron el gluten presentaron más síntomas abdominales en contraste con aquellos que recibieron placebo⁵¹. No obstante, en una segunda prueba con diseño transversal, no hubo diferencias entre las provocaciones con cantidades de gluten altas, bajas o con placebo⁵². Durante el período inicial de este último estudio, los pacientes recibieron una dieta baja en oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables (dieta con bajo contenido en FODMAPs) mientras seguían la DSG. Vale la pena resaltar que los pacientes incluidos en el estudio debido a su mejoría sintomática al seguir una DSG presentaron una mejoría clínica significativa posterior durante este período de inicio⁵¹. La prueba de provocación con dieta con alto contenido de gluten no empeoró los síntomas abdominales durante una tercera prueba; pero los pacientes con SGNC presentaron puntuaciones elevadas en los tests de depresión al compararlos con placebo, pero no con suero de leche⁵³. Durante estas tres pruebas, se excluyó la EC basándose en la negatividad de los marcadores genéticos HLA-DQ2 y -DQ8 o en la histología duodenal normal (Marsh 0) en pacientes HLA-DQ2/8 positivos.

Un estudio reciente publicado en forma resumida que evalúa la eficacia de una DSG y, posterior-

mente, una dieta baja en FODMAPs en pacientes diagnosticados con SGNC, confirmó el hecho de que la proporción de pacientes que responden a la restricción de carbohidratos en la dieta fue numéricamente superior a la de pacientes que responden a la DSG. Globalmente, la evidencia extraída de estos estudios sugiere que podría haber diferentes pacientes agrupados, bajo el término de SGNC, pacientes con enfermedad celíaca “leve”, pacientes con SGNC (una entidad mediada vía la activación de la inmunidad innata) y pacientes intolerantes a los FODMAPs (intolerancia a los carbohidratos).

7. Conclusiones

La SGNC es una nueva entidad emergente que se superpone y puede confundirse con la EC y el síndrome de intestino irritable, ya que carece de criterios diagnósticos y biomarcadores. Gracias a la presión mediática este nuevo concepto ha sido adoptado por la población general más fácilmente que por la comunidad científica médica (la proporción entre el número de citas Google vs. PubMed para la terminología de sensibilidad al gluten no celíaca fue de 4.598:1)⁵⁵. De hecho, el diagnóstico epidemiológico y la eficacia de una DSG en la SGNC son aspectos marcadamente controvertidos en la actualidad. Recientemente ha surgido una preocupación al denominar como SGNC a formas menores de EC, ya que ambas enfermedades presentan niveles radicalmente diferentes de restricción dietaria y pronóstico a largo plazo si no son tratadas. Actualmente se comprende que la retirada del gluten podría proporcionar un beneficio clínico a un subgrupo de pacientes no celíacos, pero que, posiblemente, la restricción de carbohidratos fermentables (FODMAPs) durante una DSG podría tener un papel importante en la mejoría de los síntomas. Ahora, más que nunca, es necesario determinar los hechos cruciales sobre la SGNC y las próximas investigaciones podrán ofrecer más información sobre todas estas preguntas⁵⁶.

8. Epidemiología

- Aún se desconoce la prevalencia general de la SGNC en la población general debido, principalmente, a la carencia de marcadores diagnósticos. Muchos pacientes actualmente se autodiagnostican e inician una dieta sin gluten sin consejo, ni previa consulta médica.
- El mercado de los alimentos sin gluten se encuentra en continua expansión, habiéndose triplicado su consumo en los últimos 5 años pese a la estabilidad de la enfermedad celíaca, lo que hace aún más difícil descifrar si la SGNC es una realidad médica o una moda.

9. Historia Natural

- A diferencia de la EC, no se han descrito agregación familiar, presencia de enfermedades asociadas (malabsorción y deficiencias nutricionales, trastornos autoinmunes) o complicaciones a largo

plazo para la SGNC.

- Un diagnóstico de SGNC en pacientes con síntomas dependientes del gluten y/o con un historial familiar de EC, con signos/síntomas de malabsorción o enfermedades autoinmunes, siempre pondrá en duda la posibilidad de que estos pacientes realmente pertenezcan al espectro de la EC (enfermedad celiaca “leve”).
- La importancia de un diagnóstico erróneo de SGNC en pacientes con EC depende no solamente de la posibilidad de que un paciente con EC siga una DSG no estricta, sino también de la posibilidad de sobreestimar la respuesta de una DSG en SGNC.

10. Diagnóstico

- Los síntomas gastrointestinales y extraintestinales en la SGNC son indistinguibles de los habitualmente presentes en pacientes con EC.
- La SGNC carece de biomarcadores diagnósticos, de modo que sigue siendo un diagnóstico de exclusión de la EC.
- La evidencia disponible indica que existe una exclusión inadecuada de la EC en un porcentaje notable de pacientes con SGNC.
- La seronegatividad y/o ausencia de atrofia vellositaria podría no descartar definitivamente la EC en pacientes que presentan síntomas dependientes del gluten.

11. Patogenia

- A diferencia de la EC, la SGNC se fundamenta principalmente en la activación de la inmunidad innata.
- Actualmente se piensa que el gluten no es el único componente del trigo responsable de la presencia de una SGNC.
- Se han postulado otros componentes del trigo, especialmente los fructanos, en relación con su calidad de carbohidratos fermentables, como la explicación potencial para el desarrollo de los síntomas posteriores a la ingesta del gluten. Estas vías patogénicas no siempre activan la inmunidad innata, pues están más relacionadas con la fermentación colónica de los carbohidratos.

12. Terapia

- Actualmente, no existe una evidencia sólida para sustentar la recomendación de una DSG en pacientes con SGNC.
- Estudios recientes aleatorizados doble ciego han demostrado una eficacia más elevada para la dieta pobre en FODMAPs sobre la DSG en pacientes con SGNC.
- Debido a las respuestas variables a diferentes intervenciones dietéticas, la evidencia emergente

plantea la posibilidad de que diferentes pacientes hayan sido agrupados bajo el término SGNC, incluyendo pacientes con enfermedad celíaca “leve”, otros con SGNC (entidad mediada vía la activación de la inmunidad innata) y finalmente, un grupo de pacientes intolerantes a los FODMAPs (intolerancia a los carbohidratos).

Referencias

1. Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R, Thompson RA, Cooke WT. *Proceedings: chronic diarrhea and gluten sensitivity*. Gut. 1976; 17: 398.
PMid:1278762
2. Ellis A, Linaker BD. *Non-coeliac gluten sensitivity?* Lancet. 1978; 1: 1358-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)92427-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(78)92427-3)
3. Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R, Thompson RA, Allan RN, Cooke WT. *Gluten-sensitive diarrhea without evidence of celiac disease*. Gastroenterology. 1980; 79: 801-6.
PMid:7419003
4. Beck M. *Clues to gluten sensitivity*. Wall Street J 2011.
<http://online.wsj.com/article/SB10001424052748704893604576200393522456636.html>.
Accessed: June 2014.
5. *Gluten-free foods and beverages in the U.S. 3rd edition*. Rockville, MD: Packaged Facts; 2011. <http://www.packagedfacts.com/Gluten-Free-Foods-2710664>. Accessed: June 2014.
6. *Percentage of U.S. Adults Trying to Cut Down or Avoid Gluten in Their Diets Reaches New High in 2013, Reports NPD*.
<https://www.npd.com/wps/portal/npd/us/news/press-releases/percentage-of-us-adultstrying-to-cut-down-or-avoid-gluten-in-their-diets-reaches-new-high-in-2013-reports-npd/>.
Accessed: June 2014.
7. Volta U, De Giorgio R. *New understanding of gluten sensitivity*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2012; 9: 295-9.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2012.15>
PMid:22371218
8. Catassi C, Fasano A. *Clinical practice: Celiac disease*. N Eng J Med. 2012; 267: 2419-26.
9. Catassi C, Bai JC, Bonaz B, Bouma G, Calabro A, Carroccio A et al. *Non-coeliac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders*. Nutrients. 2013; 5: 3839-3853.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5103839>
PMid:24077239 PMCID:PMC3820047
10. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 136-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
PMid:22197856

11. Catassi C, Fasano A. *Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms*. Am J Med. 2010; 123: 691-3.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.02.019>
PMid:20670718
12. Digiacomo DV, Tennyson CA, Green PH, Demmer RT. *Prevalence of gluten-free diet adherence among individuals without celiac disease in the USA: results from the Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010*. Scand J Gastroenterol. 2013; 48: 921-5.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2013.809598>
PMid:23834276
13. Tanpowpong P, Ingham TR, Lampshire PK, Kirchberg FF, Epton MJ, Crane J et al. *Coeliac disease and gluten avoidance in New Zealand children*. Arch Dis Child. 2012; 9: 12-6.
<http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2011-300248>
PMid:22075107
14. Aziz I, Lewis NR, Hadjivassiliou M, Winfield SN, Rugg N, Kelsall A et al. *A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014; 26: 33-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.meg.0000435546.87251.f7>
PMid:24216570
15. Coburn JA, Vande Voort JL, Lahr BD, Van Dyke CT, Kroning CM, Wu TT et al. *Human leukocyte antigen genetics and clinical features of self-treated patients on a gluten-free*. J Clin Gastroenterol. 2013; 47: 828-33.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e31828f531c>
PMid:23632357 PMCID:PMC3735773
16. Tanpowpong P, Broder-Fingert S, Katz AJ, Camargo CA Jr. *Predictors of gluten avoidance and implementation of a gluten-free diet in children and adolescents without confirmed celiac disease*. J Pediatr. 2012; 161: 471-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.02.049>
PMid:22484356
17. Biesiekierski JR, Mewnham ED, Shepherd SJ, Muir JG, Gibson PR. *Characterization of adults with a self-diagnosis of nonceliac gluten sensitivity*. Nutr Clin Pract. 2014; 29: 504-9.
PMid: 24740495
18. Francavilla R, Cristofori F, Castellaneta S, Polloni C, Albano V, Dellatte S et al. *Clinical, serological, and histologic features of gluten sensitivity in children*. J Pediatr. 2014; 164: 463-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.10.007>
PMid:24252792

19. Massari S, Liso M, De Santis L, Mazzei F, Carlone A, Mauro S et al. *Occurrence of nonceliac gluten sensitivity in patients with allergic disease*. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; 155: 389-94.
<http://dx.doi.org/10.1159/000321196>
PMid:21346369
20. Carroccio A, Mansueto P, Iacono G, Soresi M, D'Alcamo A, Cavataio F et al. *Non-celiac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity*. *Am J Gastroenterol*. 2012; 107: 1898-906.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.236>
PMid:22825366
21. Volta U, Tovoli F, Cicola R, Parisi C, Fabbri A, Piscaglia M et al. *Serological tests in gluten sensitivity (nonceliac gluten intolerance)*. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46: 680-5.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0b013e3182372541>
PMid:22138844
22. Aziz I, Lewis NR, Hadjivassiliou M, Winfield SN, Rugg N, Kelsall A et al. *A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014; 26: 33-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.meg.0000435546.87251.f7>
PMid:24216570
23. Isasi C, Colmenero I, Casco F, Tejerina E, Fernandez N, Serrano-Vela JI et al. *Fibromyalgia and non-celiac gluten sensitivity: a description with remission of fibromyalgia*. *Rheumatol Int*. 2014; 34: 1607-12.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00296-014-2990-6>
PMid:24728027 PMCID:PMC4209093
24. Kabbani TA, Vanga RR, Leffler DA, Villafuerte-Galvez J, Pallav K, Hansen J et al. *Celiac Disease or Non-Celiac Gluten Sensitivity? An Approach to Clinical Differential Diagnosis*. *Am J Gastroenterol*. 2014; 109: 741-6.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2014.41>
PMid:24619056
25. Van de Voort JL, Murray JA, Lahr BD, Van Dyke CT, Kroning CM, Moore SB et al. *Lymphocytic duodenitis and the spectrum of celiac disease*. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 142-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2008.7>
PMid:19098862 PMCID:PMC2608723
26. Aziz I, Evans KE, Hopper AD, Smillie DM, Sanders DS. *A prospective study into the aetiology of lymphocytic duodenitis*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 32: 1392-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04477.x>
PMid:21050242

27. Rosinach M, Esteve M, González C, Temiño R, Mariné M, Monzón H et al. *Lymphocytic duodenitis: aetiology and long-term response to specific treatment*. Dig Liver Dis. 2012; 44: 643-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.03.006>
PMid:22497904
28. Santolaria S, Dominguez M, Alcedo J, Abascal M, Garcia-Prats MD, Marigil M et al. *Lymphocytic duodenitis: etiological study and clinical presentations*. Gastroenterol Hepatol. 2013; 36: 565-73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.gastrohep.2013.06.003>
PMid:24007857
29. Esteve M, Rosinach M, Fernandez-Banares F, Farre C, Salas A, Alsina M et al. *Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first-degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis*. Gut. 2006; 55: 1739-45.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.095299>
PMid:16709658 PMCID:PMC1856469
30. Zanini B, Caselani F, Magni A, Turini D, Ferraresi A, Lanzarotto F, Villanacci V, Carabellese N, Ricci C, Lanzini A. *Celiac disease with mild enteropathy is not mild disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013; 11: 253-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.09.027>
PMid:23022697
31. Kurppa K, Collin P, Viljamaa M, Haimila K, Saavalainen P, Partanen J et al. *Diagnosing Mild Enteropathy Celiac Disease: A Randomized, Controlled Clinical Study*. Gastroenterology. 2009; 136: 816-23.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.11.040>
PMid:19111551
32. Tursi A, Brandimarte G. *The symptomatic and histologic response to a glutenfree diet in patients with borderline enteropathy*. J Clin Gastroenterol. 2003; 36: 13-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/00004836-200301000-00006>
PMid:12488700
33. Molina-Infante J, Santolaria S, Sanders DS, Fernandez-Bañares F. *Systematic review: noncoeliac gluten sensitivity*. Aliment Pharmacol Ther. 2015; 41: 807-20.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.13155>
PMid:25753138
34. Husby S, Murray JA. *Gluten sensitivity: celiac lite versus celiac like*. J Pediatr. 2014; 164: 436-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.11.024>
PMid:24411520
35. Wahnschaffe U, Ullrich R, Riecken EO, Schulzke JD. *Celiac disease-like abnormalities in a subgroup of patients with irritable bowel syndrome*. Gastroenterology. 2001; 121: 1329-38.
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2001.29572>
PMid:11729112

36. Molina-Infante J, Santolaria S, Fernandez-Bañares F, Montoro M, Esteve M. *Lymphocytic enteropathy, HLA DQ2/DQ8 genotype and wheat-dependent symptoms: non-celiac wheat hypersensitivity or Marsh I celiac disease?* Am J Gastroenterol. 2013; 108: 451.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.433>
PMid:23459052
37. Carroccio A, Mansueto P. *Response to Molina-Infante et al.* Am J Gastroenterol. 2013; 108: 451-2.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.435>
PMid:23459051
38. Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Carteni M, Casolaro V et al. *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.
<http://dx.doi.org/10.1159/000260087>
PMid:19940509 PMCID:PMC2956008
39. Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, De Rosa M et al. *Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity.* BMC Med. 2011; 9: 23.
<http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-9-23>
PMid:21392369 PMCID:PMC3065425
40. Brottveit M, Beitnes AC, Tollefsen S, Bratlie JE, Jahnsen FL, Johansen FE et al. *Mucosal cytokine response after short-term gluten challenge in celiac disease and non-celiac gluten sensitivity.* Am J Gastroenterol. 2013; 108: 842-50.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.91>
PMid:23588237
41. Bucci C, Zingone F, Russo I, Morra I, Tortora R, Pogna N et al. *Gliadin Does Not Induce Mucosal Inflammation or Basophil Activation in Patients with Non-Celiac Gluten Sensitivity.* Clin Gastroenterol Hepatol. 2013; 11: 1294-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.04.022>
PMid:23639603
42. Biesiekierski JR, Muir JG, Gibson PR. *Is Gluten a Cause of Gastrointestinal Symptoms in People Without Celiac Disease?* Curr Allergy Asthma Rep. 2013; 13: 631-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11882-013-0386-4>
PMid:24026574
43. Staudacher HM, Irving MN, Lme MC, Whelan K. *Mechanisms and efficacy of dietary FODMAP restriction in IBS.* Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014; 11: 256-66.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2013.259>
PMid:24445613

44. Vazquez-Roque MI, Camilleri M, Smyrk T, Murray JA, Marietta E, O'Neill J et al. *A controlled trial of gluten-free diet in patients with irritable bowel syndrome-diarrhea: effects on bowel frequency and intestinal function.* Gastroenterology. 2013; 144: 903-11.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.01.049>
PMid:23357715 PMCID:PMC3633663
45. Bernardo D, Garrote JA, Fernandez-Salazar L, Riestra S, Arranz E. *Is gliadin really safe for non-coeliac individuals? Production of interleukin 15 in biopsy culture from non-coeliac individuals challenged with gliadin peptides.* Gut. 2007; 56: 889-90.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.118265>
PMid:17519496 PMCID:PMC1954879
46. Beckett CG, Dell'Olio D, Shidrawi RG, Rosen-Bronson S, Ciclitira PJ. *Gluten-induced nitric oxide and pro-inflammatory cytokine release by cultured coeliac small intestinal biopsies.* Eur J Gastroenterol Hepatol. 1999; 11: 529-35.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199905000-00011>
PMid:10755257
47. Verdu EF, Huang X, Natividad J, Lu J, Blennerhassett PA, David CS et al. *Gliadin-dependent neuromuscular and epithelial secretory responses in glutensensitive HLA-DQ8 transgenic mice.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008; 294: G217-25.
<http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00225.2007>
PMid:18006603
48. Fernandez-Banares F, Esteve M, Viver JM. *Fructose-sorbitol malabsorption.* Curr Gastroenterol Rep. 2009; 11: 368-74.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11894-009-0056-9>
PMid:19765364
49. Bernardo D, Garrote JA, Arranz E. *Are non-coeliac disease gluten-intolerant patients innate immunity responders to gluten?* Am J Gastroenterol. 2011; 106: 2201; author reply 2201-2.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.297>
PMid:22138947
50. Junker Y, Zeissig S, Kim SJ, Barisani D, Wieser H, Leffler DA et al. *Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4.* J Exp Med. 2012; 209: 2395-408.
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20102660>
PMid:23209313 PMCID:PMC3526354
51. Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, Barrett JS, Haines M, Doecke JD et al. *Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial.* Am J Gastroenterol. 2011; 106: 508-14.
<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.487>
PMid:2122483

52. Biesiekierski JR, Peters SL, Newnham ED, Rosella O, Muir JG, Gibson PR. *No effects of gluten in patients with self-reported non-coeliac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates.* Gastroenterology. 2013; 145: 320-8.

<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.04.051>

PMid:23648697

53. Peters SL, Biesiekierski JR, Yelland GW, Muir JG, Gibson PR. *Randomised clinical trial: gluten may cause depression in subjects with non-coeliac gluten sensitivity: an exploratory randomised clinical study.* Aliment Pharmacol Ther. 2014; 39: 1104-12.

<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.04.051>

PMid:23648697

54. Zanini B, Marrullo M, Ricci C, Lanzarotto F, Lanzini A. *Non Celiac Gluten Sensitivity (NCGS) Is Out-numbered by FODMAPs Sensitivity in Patients Spontaneously Adhering to Gluten Free Diet (GFD): A Two Stage Double Blind Prospective Study.* Gastroenterology. 2014; 146(Suppl 1): S-348.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(14\)61258-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(14)61258-0)

55. Di Sabatino A, Corazza GR. *Nonceliac gluten sensitivity: sense or sensibility?* Ann Intern Med. 2012; 156: 309-11.

<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-156-4-201202210-00010>

PMid:22351716

56. Sanders DS, Aziz IM. *Non-coeliac wheat sensitivity: separating the wheat from the chat!* Am J Gastroenterol. 2012; 107: 1908-12.

<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.344>

PMid:23211856

CAPÍTULO 14

EL TRIGO COMO ALÉRGENO: ASMA DE LOS PANADEROS, ALERGIA ALIMENTARIA Y AL TRIGO.

Alicia Armentia¹, Eduardo Arranz², José Antonio Garrote^{2,3}, Javier Santos⁴

¹Unidad de Alergología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. España.

²IBGM. Unidad de Valladolid-CSIC. Valladolid. España.

³Departamento de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid, España.

⁴Departamento de Gastroenterología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid, España.

aliciaarmentia@gmail.com

earranz@med.uva.es

jagarrote@saludcastillayleon.es

javiersantos_88@hotmail.com

Cómo citar este capítulo:

Armentia A, Arranz E, Garrote JA, Santos J. *El Trigo como Alérgeno: Asma del panadero, Alergia Alimentaria y al Trigo*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las intolerancias alimentarias afectan aproximadamente al 20% de la población y pueden ser provocadas por una alergia. Muchas proteínas de diversas plantas actúan como agentes sensibilizadores debido a su exposición repetida a estas. El trigo es una importante fuente de alérgenos y es una de las causas del asma del panadero, las alergias alimentarias y también al polen. Con base en su solubilidad diferencial, las proteínas de los granos de trigo han sido clasificadas como albúminas solubles en sales y fracción del gluten o prolaminas, las cuales incluyen gliadinas y gluteninas. Ambas proteínas han sido implicadas en el desarrollo de la hipersensibilidad al trigo.

Durante los últimos años se han purificado y caracterizado varias proteínas del trigo, cebada y centeno, las cuales están asociadas con alergia a la harina. Estos alérgenos presentan un papel potencial en la defensa biológica contra las infestaciones de los insectos en el grano.

Hasta recientemente la intolerancia al gluten fue considerada como típica de la enfermedad celíaca y la alergia al trigo. Durante los últimos años, se han descrito nuevos síndromes digestivos. Uno de los más importantes y frecuentes se denomina sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC). La esofagitis eosinofílica también puede deberse a la ingestión de gluten.

La introducción de técnicas de *microarrays* (término acuñado en el idioma inglés) los cuales son placas con una serie de pocillos que contienen un gran panel de alérgenos purificados, representa un avance importante para el diagnóstico de las enfermedades alérgicas. No obstante, esta técnica apenas ha sido aplicada al diagnóstico y caracterización de pacientes con asma ocupacional debida a la alergia al trigo.

Describimos estas investigaciones en relación con las patologías más frecuentemente asociadas con el trigo, su prevención y tratamiento.

Palabras Clave

Asma del panadero, alergia al trigo, alergia al polen, sensibilidad al gluten no celíaca, esofagitis eosinofílica, proteína de transferencia de lípidos, inhibidores de las alfa amilasas del trigo, *microarrays*, diagnóstico por componentes.

Abreviaturas

IgE: anticuerpos E

IgG4: anticuerpos IgG4

IL10: interleuquina 10

ATG: anticuerpos antitransglutaminasa

AGA: anticuerpos antigliadina

AEA: anticuerpos antiendomiso

LTP: proteína de transferencia de lípidos no específica

CM3: subunidad inhibidora de la alfa amilasa tetramérica de trigo

ELISA: Enzimo-inmunoensayo ligado a enzimas

SGNC: sensibilidad al gluten no celíaca

EEO: esofagitis eosinofílica

Tri a 19: LTP de trigo

Este manuscrito está dedicado al profesor Raphaël Panzani, *in memoriam*

Raphaël Panzani nació en agosto de 1921 en Marsella. Se tituló como médico a la edad de 25 años. Se interesó pronto por los estudios de alergia desde el principio de su prolongada carrera. En 1966 recibió una beca Fullbright en reconocimiento a sus importantes trabajos sobre el asma. Raphaël prosiguió hasta el fin de su vida, sus investigaciones en estrecha colaboración con muchos de sus colegas, con gran devoción y entusiasmo ilimitado. Apreciaba la naturaleza y era un experto en cultura romana, historia y literatura. Se identificaba con Shakespeare y Dante y la filosofía de Séneca. Era un gran deportista y un hombre de familia ejemplar. Todos aquellos que lo conocimos, lamentamos su pérdida y siempre le recordaremos como un amigo y un modelo de excelente investigador y científico.

1. Introducción

1.1. Alergia al Trigo y Enfermedades Relacionadas

El trigo es una potente fuente de alérgenos y es una de las causas del asma del panadero, la alergia alimentaria y al polen¹. Se está verificando un incremento en la prevalencia de la alergia a la harina de trigo, el cual oscila entre un 2 y 3.6%, dependiendo de los métodos diagnósticos y áreas geográficas². El trigo también es uno de los alimentos más frecuentemente alergénicos, asociados con anafilaxia dependiente de alimentos inducida por el ejercicio³. El asma del panadero, una importante enfermedad ocupacional, causada por la inhalación de la harina del trigo y otros cereales, es otro tipo de hipersensibilidad al trigo mediada por IgE⁴ (Figura 1). En nuestra base de datos sobre 22.726 pacientes con alergia, el asma del panadero representa un 8.2% de los casos de asma alérgica y un 52.5% de los diagnósticos de asma ocupacional, relacionados con el trabajo en un área en la que poseen gran importancia las profesiones relacionadas con el empleo o utilización de cereales. Actualmente no se conoce la prevalencia de la alergia al polen del trigo, a pesar de que la sensibilización al polen de gramíneas está situada en un 38.6% en el Reino Unido y un 33.6% en los EE.UU.¹

Los síntomas comunes de la alergia alimentaria al trigo pueden manifestarse al cabo de minutos u horas posteriores a la ingestión de los alimentos que lo contengan. A menudo, los síntomas afectan a la piel e incluyen reacciones tales como urticarias, inflamación alrededor de la boca y eczemas. Además los síntomas pueden afectar a los intestinos y originar diarreas, vómitos, náuseas, indigestión y dolores estomacales y abdominales.



Figura 1. El asma del panadero es una importante enfermedad ocupacional, causada por la inhalación del polvo de harinas de trigo y otros cereales.

La respuesta alérgica más intensa, la anafilaxia, es una fuerte reacción que afecta a varios órganos simultáneamente.

El consejo médico convencional sobre las alergias relacionadas con los alimentos se basa en evitar la sustancia a la que se presenta la sensibilidad (Tabla 1). El trigo es un componente muy importante en la dieta occidental y evitarlo es un gran reto. Este tipo de dieta de eliminación limita de forma importante la selección de alimentos, ya que el trigo es muy difícil de evitar. Aparte de ser un ingrediente en muchos alimentos, también se halla presente en medicamentos. También se utiliza como espesante, estabilizador, emulsificante y aglutinante, así como en forma de almidón y para aumentar el volumen elaborar los panes. Es importante contar con una información amplia y detallada sobre los sustitutos del trigo (Tabla 2) y leer las etiquetas de los productos (Tabla 3).

Tabla 1. Guía general para alergia al trigo.

Alimento	Permitido	No permitido
Bebidas	Café, té, jugo de frutas, café descafeinado, bebidas carbonatadas, leches, coco	Bebidas de cereales, sustitutos de café, bebidas hechas con productos de trigo (cervezas, zarzaparrilla) mezclas de chocolate instantáneo
Panes y cereales	Cereales de arroz, galletas de arroz, maíz puro, arroz, arrurruz, patatas, cebada, pan de centeno, producidas sin harina de trigo o derivados del trigo, harina de maíz, almidón de trigo, harina de soja, harina de cebada, harina de avena, harina de arroz, harina de patata, harina de arrurruz, harina, gachas de avena, crema de arroz, arroz inflado, otros cereales elaborados con maíz puro, avena o arroz a los que no se les ha agregado trigo	Trigo entero, pan blanco o enriquecido, rollos, miga de pan, pan de gluten, dunas, repostería dulce, molletes, tostada francesa, waffles, panqueques, buñuelos, relleno de pan, biscocho tostado, mezclas preparadas para pancakes, galletas, panes, pan de maíz, patata o soja, a menos que haya sido hecha sin harina de trigo o productos de trigo, cereales hechos con harina, trigo, o productos de trigo o malta, pretzels, galletas saladas
Postres	Crema láctea, cremas bávaras, galletas de avena, arrurruz, arroz o centeno producido sin derivados de trigo, almidón de budín de maíz, tapioca o arroz, helados de agua o frutas, merengues, gelatina	Pasteles, repostería, helados, sorbetes, conos de helados, galletas, mezclas preparadas o pudín empaquetado que contenga harina de trigo, galletas saladas, donas
Huevos	Huevos preparados sin derivados de trigo	Suflés o huevos a la crema, elaborados con derivados de trigo

Grasas	Mantequilla, margarina, grasas y aceites animales o vegetales, aderezos de ensalada cremosos o salsas preparadas sin trigo o derivados del trigo	Cualquier aderezo para ensalada, espesada con salsa elaborada con derivados de trigo
Carne, pescado, aves	Res, ternera, cerdo, jamón, pollo, pavo, cordero o pescados horneados, asados, hervidos, rostizados o fritos. Todo embutido o carne enlatada elaborada sin harina o derivados de trigo	Toda carne que esté rebozada o preparada con harina, carnes con rellenos tales como pastel de carne, embutidos, carnes enlatadas, pasta boloñesa o tortas de carnes preparadas
Lecho y productos lácteos	Leche, suero de leche, yogurt, queso, algunas variedades de queso cottage	Leche malteada, bebidas lácteas elaboradas con cereales de trigo o derivados de trigo, queso cottage con harina modificada u otros derivados de trigo
Patatas y sustitutos	Patatas y patatas dulces, arroz	Patatas rebozadas, tallarines, espagueti, macarrones y otros productos elaborados con sémola
Sopas	Caldo claro, consomé o caldo espeso, sopas hechas en casa elaboradas sin productos de trigo	Sopas a la crema, a menos que estén elaboradas sin harina de trigo, sopas con tallarines, sopa de letras o espaguetis, sopas espesadas con harina de trigo
Dulces	Jarabe de maíz, miel, mermeladas, conservas, melaza, azúcar	Chocolate, caramelos de chocolate, caramelos con malta, caramelos con extractos de cereales
Vegetales	Todo vegetal fresco, congelado o enlatado, jugos vegetales	Vegetales combinados con productos de trigo, vegetales rebozados o elaborados con harina
Misceláneos	Sal, polvo de chile, condimentos, extractos saborizantes, pastos, nueces, olivas, encurtidos, palomitas de maíz, mantequilla de maní	Productos de malta, salsa Worcestershire, salsas espesadas con harina de trigo, glutamato monosódico (GMS), ablandadores de carnes elaborados con GMS, comida oriental sazonada con GMS, salsa de soja

La alergia al trigo es una respuesta corporal anormal ante la proteína del trigo. Los productos de trigo se encuentran en muchos alimentos; es importante leer detalladamente las etiquetas de los alimentos para conocer bien su composición.

Tabla 2. Información para la utilización de sustitutos de trigo

1 taza de harina de trigo equivale a:	
· 1 taza de centeno sin cáscara	
· 1-1 1/4 tazas de harina de centeno	
· 1 taza de harina de patata	
· 1 1/3 de tazas de copos de avena o harina de avena	
· 1/2 taza de harina de patata más 1/2 taza de harina de centeno	
· 5/8 de taza de almidón de patata	
· 5/8 de una taza de harina de arroz más 1/3 de una taza de harina de centeno	

Tabla 3. Otras fuentes posibles de trigo o de derivados de trigo

Como leer una etiqueta para una dieta sin gluten	
Evítense alimentos que contengan cualquiera de los siguientes ingredientes:	
· Miga de pan	· Harina con alto contenido proteínico
· Salvado	· Spelt
· Extracto de cereal	· Gluten vital
· Cuscús	· Salvado de trigo
· Galletas	· Germen de trigo
· Harina enriquecida	· Gluten de trigo
· Harina	· Malta de trigo
· Gluten	· Almidón de trigo
· Harina para galletas saladas	· Harina de trigo entera
· Harina con alto contenido de gluten	
Entre los ingredientes que podrían indicar la presencia de proteína de trigo se encuentran:	
· Almidón gelatinizado	· Saborizante natural
· Proteína vegetal hidrolizada	· Salsa de soja
· Kalmut	· Almidón vegetal
· Almidón alimentario modificado	· Goma
· Almidón modificado	

En este capítulo hacemos una revisión del poder alergénico entre las proteínas de trigo, los cambios inducidos por calor y el procesamiento industrial en las propiedades alergénicas del trigo, la

reactividad cruzada alérgica entre los cereales, pólenes y otros alimentos vegetales, la posible razón por la que los pacientes con asma del panadero secundaria al trigo toleran la ingestión de trigo, la relación entre cereales de la dieta y síntomas digestivos alérgicos y los mecanismos de la tolerancia inmune a los cereales.

Finalmente, se hizo un resumen de las nuevas tendencias en el diagnóstico (por componentes) y del tratamiento aplicado para los pacientes con alergia al trigo.

2. Poder Alérgico de las Proteínas de Trigo

Con base en las diferencias en la solubilidad, las proteínas de trigo se clasifican en⁵:

- Albúminas y globulinas solubles en agua/sal, principalmente proteínas estructurales y enzimas metabólicas, tales como las α -amilasas y sus inhibidores; están implicadas en los síntomas respiratorios de la alergia.
- Gliadinas y gluteninas insolubles en agua/sal, conocidas en conjunto como prolaminas o gluten. Son las principales proteínas de almacenamiento del trigo, asociadas con otras expresiones clínicas de la alergia.

Entre las proteínas solubles en sal, los miembros de la familia de inhibidores de la α -amilasa parecen ser los principales alérgenos responsables en la aparición del asma del panadero^{6,7}. Estos alérgenos poseen un papel potencial como defensa biológica frente a las infestaciones de insectos en los granos del cereal (Figura 2). También han sido descritos como alérgenos alimentarios del trigo^{8,9}. Otras proteínas solubles en sal, tales como la peroxidasa y la proteína de transferencia de lípidos no específicos (LTP), han sido implicadas también en la alergia al trigo, tanto por inhalación, como por ingestión⁹⁻¹¹. Las gliadinas se hallan relacionadas principalmente con las reacciones al trigo ingerido mediadas por IgE⁹⁻¹², así como recientemente, con el asma del panadero¹³. La alergia al trigo puede causar síntomas digestivos en niños y adultos, aunque su prevalencia real no ha sido publicada aún. Estos pacientes pueden ser erróneamente diagnosticados como síndrome de intestino irritable (SII).

En la enfermedad celíaca existe una información limitada sobre los alérgenos del cereal responsables de las reacciones alérgicas, aunque un mismo paciente puede presentar ambas enfermedades^{14,15}. La enfermedad celíaca es una intolerancia permanente al gluten del trigo, cebada y centeno, determinada genéticamente, al igual que las enfermedades alérgicas. Entre los pacientes con enfermedad celíaca, alrededor del 95% son positivos para los marcadores genéticos HLA-DQ2 o -DQ8. Característicamente, la mucosa yeyunal está dañada por una respuesta autoinmune mediada por células T, la cual está activada por el fragmento del péptido 33-mer, contenido en la gliadina A2; los pacientes con este trastorno presentan niveles elevados de anticuerpos antiendomiso (AEA) y anticuerpos frente a la transglutaminasa tisular (tTG) en sangre. Esta enfermedad es la intolerancia diagnosticable más frecuente y mediante simples pruebas sanguíneas, se estima

que su tasa de prevalencia es aproximadamente del 1:100¹⁵.



*Figura 2. Los miembros de la familia de los α -inhibidores del trigo, son unas proteasas con un papel importante como defensa contra las infestaciones por insectos en el grano. En la parte izquierda, *Eurygaster austriaca* y *Tenebrio molitor* en la derecha. El primero es una peste frecuente del trigo y el segundo, un parásito de la cebada.*

Recientemente, nuestro grupo estudió la reactividad de los alérgenos ingeridos e inhalados en personas alérgicas y celíacas. La sensibilización alérgica a los cereales mediada por IgE ha sido descrita en niños celíacos. Las rutas de inhalación e ingestión que causan alergia al cereal parecen compartir alérgenos similares pero, en la enfermedad celíaca, la respuesta específica al inhibidor de la α -amilasa CM3 podría ser importante¹⁵.

No hay duda de que la mucosa intestinal puede participar en la alergia alimentaria. No obstante, se ha cuestionado la posibilidad de que la colitis ulcerosa pueda ser inducida mediante una alergia alimentaria¹⁶.

Las IgEs específicas para alimentos son más frecuentes en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que en sujetos sanos, pero ello es probablemente debido a la existencia de una mayor absorción de antígenos. Los pacientes con positividad para pruebas intramucosas de provocación de cólicos han sido curados mediante la exclusión de los alimentos dañinos. Adicionalmente, ya no se aconseja el tratamiento específico para la colitis ulcerosa¹⁷.

La intolerancia al gluten fue considerada exclusiva de la enfermedad celíaca, hasta que durante los últimos años, se describieron dos nuevos síndromes digestivos. Estos han sido denominados sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC) y esofagitis eosinofílica (EEo) debida a la ingestión de gluten. La SGNC ha sido incluida en la nueva lista de trastornos relacionados con el gluten, publicada en 2012¹⁸⁻²¹. En otro capítulo de este libro, Molina-infante y cols. realizan una revisión de diferentes aspectos de la epidemiología, diagnóstico e intervenciones dietéticas recomendadas en la SGNC.

La evidencia reciente demuestra que una historia personal de alergia alimenticia durante la infancia, con atopia asociada, junto con la positividad frente a los anticuerpos antigliadina del tipo G (IgG), prueba positiva de activación de los leucocitos basófilos por citometría de flujo, con un recuento aumentado de eosinófilos intraepiteliales y de lámina propia duodenales y/o del íleon-colon, podrían ser de utilidad al identificar un subgrupo de pacientes con SGNC que presentan una alergia alimenticia²⁰. No obstante, es necesaria una mejor comprensión de las presentaciones clínicas de la SGNC, así como de su patogénesis, epidemiología y tratamiento.

Por otro lado, no está claro el papel del trigo en trastornos como el SII. Un cambio de paradigma ha conducido a centrarse sobre la relación entre la dieta, que contiene un grupo de carbohidratos de cadena corta conocidos colectivamente como oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables (FODMAPs) y los mecanismos fisiopatológicos en el SII tales como los efectos sobre la microbiota intestinal, la inflamación, motilidad, la permeabilidad y la hipersensibilidad visceral. Carroccio y cols. llevaron a cabo, en pacientes con síntomas similares al SII, pruebas de activación de basófilos *in vitro* (ABT) para sensibilidad al gluten y proteína de leche de vaca. La ABT fundamentada en la detección de linfocitos CD63 en muestras de sangre completa no funcionó para el diagnóstico de hipersensibilidad a los alimentos y presentó una sensibilidad, especificidad y precisión diagnóstica significativamente menor que las de la prueba basada en leucocitos separados²¹.

La esofagitis eosinófila (Eeo) es un proceso clínico caracterizado por la presencia de una disfunción esofágica e histológicamente, por una inflamación eosinofílica. A pesar de que el tratamiento, que incluye dilataciones esofágicas endoscópicas periódicas, corticosteroides y dietas de restricción, es a menudo efectivo, es difícil seleccionar los alimentos que serán eliminados de la dieta. El tratamiento incluye también el empleo de inhibidores de la bomba de protones y la dieta de eliminación de seis alimentos (DESA) que incluye el trigo. La eliminación empírica a menudo es efectiva, pero requiere la realización de múltiples endoscopias de control y puede afectar negativamente la calidad de vida de los pacientes. Un diagnóstico etiológico definitivo es fundamental para poder determinar cuales alérgenos específicos causan la inflamación eosinofílica de la mucosa esofágica y cuales alimentos deberían ser evitados²². Muy recientemente, el diagnóstico por componentes mediante prueba alérgica de microplaca ha sido también aplicado a la detección de alérgenos que podrían estar involucrados en el proceso inflamatorio. Los alérgenos predominantes en pacientes con EEO han sido las enzimas del polen y entre los alérgenos alimenticios, las proteínas de transferencia de lípidos (PTL) de melocotón y nueces. Las PTL de trigo Tri a 19 solo fueron detectadas solo en unos pocos pacientes²³.

3. Cambios en las Propiedades Alérgicas del Trigo Inducidas Mediante Calor y Procesamiento Industrial

Las proteínas solubles en sal procedentes de la harina de trigo han sido descritas como los prin-

principales alérgenos asociados con el asma del panadero y la alergia alimentaria. No obstante, la mayoría de los estudios han utilizado harina sin procesar, como material básico, obviando así la opción de estudiar cambios potenciales en las propiedades alérgicas inducidas por el calor y otros procesos industriales dirigidos a la producción de alimentos derivados del trigo. Se obtuvieron extractos salinos de diferentes productos comerciales derivados del trigo y sus propiedades alérgicas fueron investigadas mediante inmunodetección IgE, pruebas de ELISA y de punción dérmica (Figura 3)²⁴. La capacidad de ligar con IgE de las proteínas solubles en sal, procedentes de panes comerciales y pastas cocinadas se redujo en un 50%, en contraste con la de la harina sin procesar; la reducción fue menos importante en pastas y galletas no cocinadas. Varios alimentos derivados del trigo presentaron importantes componentes que ligan IgE de 20 y 35 kDa identificadas respectivamente como proteínas similares a la avenina y gliadinas, respectivamente. Estas proteínas, así como la mayor parte de las proteínas solubles en sal procedentes de harina y pan, fueron hidrolizadas al ser sometidas a una digestión gastrointestinal simulada. No obstante, los productos digeridos aún presentaron una capacidad residual de ligar con IgE, en inmunodetección mediante SDS-PAGE.

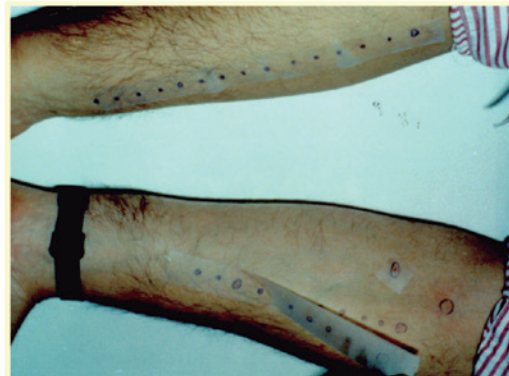


Figura 3. Micropunción (Prick tests) con extractos de proteínas purificadas de cereales.

Por lo tanto, el procesado de la harina de trigo para obtener alimentos derivados disminuye la capacidad de ligar con IgE de las principales proteínas de trigo solubles en sal. Adicionalmente, la digestión gástrica simulada de fluido inactiva aún más a ciertas proteínas resistentes al calor que ligan con IgE²⁵.

4. Reactividad Cruzada de Alérgenos entre Cereales, Polen y Otros Alimentos Vegetales

Se sabe que muchas proteínas vegetales, particularmente las halladas en alimentos y polen, actúan como agentes sensibilizadores en humanos tras exposiciones repetidas. Entre las proteínas de ha-

rina de cereales involucradas en reacciones asmáticas, los miembros de la familia de inhibidores de la alfa-amilasa que incluyen glicosilados, polipéptidos, BMAI-1, BTAI-CMb* y WTAI-CM16, son particularmente reactivos tanto *in vivo*, como *in vitro*. Estos principales alérgenos de glicoproteínas portan un único glicano complejo ligado con asparragina, que contiene beta 1-->2 xilosa y alfa-->3 fucosa. Estos residuos (xilosa y fucosa) son epítomos clave que ligan IgE y en general, son los responsables de la alergenicidad de estas y otras proteínas no relacionadas, procedentes de plantas e insectos (Figura 3). Nuestros resultados²⁶ sugirieron que la participación de glicanos complejos que contienen xilosa y glucosa en respuestas alérgicas podría haber sido previamente subestimada; estos glicanos proporcionan el fundamento estructural que justifica las reactividades cruzadas a menudo observadas entre polen, alimentos vegetales y alérgenos de insectos.

El asma del panadero es un trastorno ocupacional frecuente, causado principalmente por la inhalación de harina de cereales. Las proteínas de transferencia de lípidos (PTLs) constituyen una familia de panalergenos de alimentos de origen vegetal, aunque su papel como inhalante y alérgenos de trigo aún no queda del todo claro. Buscamos explorar la participación de los PTLs de trigo en el asma del panadero causada por sensibilización a la harina de trigo²⁷. La PTL del trigo conocida como Tri a 14, fue purificada utilizando un protocolo cromatográfico de 2 pasos y caracterizada mediante secuenciado del amino ácidos N-terminales y modelados en 3 dimensiones. Su reactividad fue confirmada mediante inmunodetección IgE, pruebas de ELISA y pruebas de inhibición de ELISA, así como mediante pruebas de punción dérmica. Se determinó la presencia de IgE específica para Tri a 14 en 60% de 40 muestras séricas individuales procedentes de pacientes con asma del panadero. El alérgeno purificado generó reacciones positivas en punción dérmica en 62% de 24 de estos pacientes. Tri a 14 y PTL de melocotón, Pru p 3, presentaron una identidad de secuencia del 45%, pero la baja reactividad cruzada entre ambos alérgenos detectada en varios sueros individuales, reflejó grandes diferencias en sus regiones tridimensionales ligadoras de IgE.

Las PTL del trigo son alérgenos inhalantes los cuales son los principales asociados con el asma del panadero provocada por sensibilización a la harina de trigo. Se detectó, en algunos pacientes, baja reactividad cruzada con su homólogo procedente del melocotón. Las PTLs pueden ser consideradas alérgenos inhalantes relevantes vinculados con trastornos respiratorios. Estas proteínas del trigo (Tri a 14) también pueden utilizarse como herramientas para el diagnóstico del asma del panadero.

La proteína de transferencia de lípidos no específica del melocotón (Pru p 3; ns PTL) ha sido caracterizada como el principal alérgeno en la población adulta mediterránea. Su proteína homóloga en trigo, la Tri a 14 posee un alérgeno inhalante que desempeña un papel importante en el desarrollo del asma del panadero ocupacional. Se han hallado diferentes patrones de sensibilización a estos alérgenos en pacientes con este trastorno²⁸.

La reactividad cruzada entre polen de pastos, harinas de cereales y frutas pertenecientes a la familia Rosaceae (Figura 4) son muy comunes entre pacientes que presentan alergia al polen. La sensibilización exclusiva a PTL procedente del melocotón puede asociarse con síntomas más severos, como anafilaxia.



Figura 4. Las frutas de la familia Rosaceae (melocotón, paraguaya, albaricoce, ciruela, cereza, etc) presentan proteínas de reactividad cruzada y son detectadas frecuentemente en pacientes alérgicos al polen.

5. ¿Por qué Toleran la Ingestión de Harina de Trigo los Pacientes con Asma del panadero Debida al Trigo?

El trigo es una potente fuente de alérgenos y es una de las causas del asma del panadero y de alergias alimenticias y al polen. Recientemente hemos realizado un estudio sobre sensibilización al polen en nuestra área, donde el cultivo de cereales es muy importante³⁰. Los datos clínicos de 19.718 pacientes examinados revelaron que el polen de gramíneas fue la principal fuente de síntomas clínicos (6.369 pacientes, 32.3% de asmáticos). Sin embargo, el polen del trigo y cereales presentó muy baja prevalencia. Por otro lado, los pacientes con alergia a la harina de trigo posterior a la ingestión y/o con asma del panadero no estaban sensibilizados al polen de trigo, a pesar de que éste contiene algunos alérgenos comunes. Del mismo modo, todos nuestros panaderos asmáticos (135 pacientes) toleraron la ingestión del pan. La causa detrás de estas sorprendentes observaciones es difícil de explicar.

La mayoría de los pacientes con asma del panadero en diferentes encuestas^{4,31} no presentan alergia alimenticia causada por el trigo. Una vía diferente de sensibilización (inhalación vs. ingestión) y fuente alérgica (harina de trigo versus alimentos de trigo procesados) podría explicar este hecho, a pesar de que algunos alérgenos de trigo, como los inhibidores de la α -amilasa o proteínas de transferencia de lípidos, se hallan implicados en ambos tipos de alergia^{7,8} así como en algunos casos de enfermedad celíaca, como hemos comprobado con anterioridad¹⁵.

Ya hemos demostrado que la alergenidad de alimentos podría ser modificada mediante calor y otros tratamientos. La mayoría de los estudios sobre alergia alimentaria provocada por el trigo han sido llevados a cabo utilizando harina sin procesar, la cual rara vez es consumida. Por lo tanto, el efecto del tratamiento mediante el calor durante el procesamiento o la cocción, no fue tomado

en cuenta debido a la capacidad de ligar IgE de potenciales alérgenos de trigo.

Recientemente, utilizando extractos procedentes de alimentos derivados del trigo (pan francés, pan integral, pan tostado, pasta, galletas, pizza, alimentos de cereales para bebés y cereales para el desayuno), hemos determinado que el procesamiento de estos alimentos parece reducir de forma importante la capacidad de ligar IgE de las principales proteínas solubles en sal. Además la digestión simulada mediante jugos gástricos in vitro, podría inactivar otros alérgenos potenciales resistentes al calor²⁴.

Por otro lado, los panaderos con asma pueden, habitualmente y sin problemas, ingerir pan y alimentos derivados del trigo a lo largo de su vida. Sus síntomas se inician con la inhalación del polvo de harina de trigo, probablemente debido a un cambio en los receptores inmunes de la diana. La sensibilización mediante IgE a la soja y al trigo se clasifica como “primaria” cuando es generada por ingestión de la comida y como “secundaria” cuando es consecuencia de sensibilización primaria a antígenos del polen con reactividad cruzada mediante inhalación.

En un estudio longitudinal multicéntrico llevado a cabo en Alemania, se realizó un seguimiento a 1.314 niños desde su nacimiento hasta la edad de 13 años. Los autores determinaron que la sensibilización al trigo y a la soja no fueron frecuentes. En la infancia temprana, el tipo de sensibilización fue principalmente primario, mientras que se hizo secundario en la edad escolar⁹. En nuestros pacientes, la sensibilización a la harina no pareció ser secundaria a la inhalación del polen de trigo. Tal vez la ingestión del cereal podría actuar como un mecanismo de tolerancia oral de manera similar a la inmunoterapia oral. En un estudio de mecanismos de tolerancia en respuesta a antígenos responsables por el asma del panadero, determinamos que la presencia de mayores niveles de IgG₄, IL10 y sensibilización subclínica al polen de gramíneas podrían haber contribuido a desarrollar un tipo de hiposensibilización natural³².

La elevada exposición al polen no siempre se asocia con condiciones alérgicas más severas. Los estudios sobre la relación entre dieta y asma alérgica presentaron resultados conflictivos³³⁻³⁷. Sería de gran utilidad contar con estudios serológicos que utilicen semilla de trigo y alérgenos de polen de gramíneas en microplacas para la discriminación del asma del panadero, alergia alimentaria inducida mediante trigo y polen de gramíneas³³.

6. Relación entre Alergia al Trigo y Asma

Hemos comentado previamente que la alergia posterior a la ingestión o inhalación de cereales, incluye alérgenos similares a edades diferentes²⁹. Un nuevo estudio planteó el objetivo de evaluar la reactividad de alérgenos de cereal ingeridos o inhalados a diferentes edades, con el fin de investigar si la respuesta a los diferentes alérgenos dependería de la ruta de sensibilización.

Incluimos 66 pacientes en tres grupos. Grupo 1: 40 niños entre 3 y 6 meses de edad que pre-

sentaron diarreas, vómitos, eczema o pérdida de peso posterior a la introducción de cereales de fórmula en su dieta y en los que se descartó la presencia de una enfermedad celíaca. Grupo 2: 18 adultos con alergia alimenticia debida a cereales mediante pruebas de punción, IgE específica y provocación alimenticia. Grupo 3: 8 pacientes previamente diagnosticados de asma del panadero. Se obtuvieron muestras séricas de cada grupo de pacientes y se llevó a cabo un inmunoblotting del tipo IgE.

Hallamos una importante sensibilización a cereales en los 40 niños. Los alérgenos más importantes fueron del trigo, seguidos por los de cebada y centeno. La sensibilización a otros alérgenos fue frecuente en adultos con alergia a cereal, especialmente a polen de *Lolium perenne* (bállica, raigrás o césped inglés). La inmunodetección demostró, en los tres grupos, una similar detección alérgica.

En resumen, la reactividad a cereales clínicamente significativa puede ser observada en los primeros meses de la vida. Las rutas de inhalación e ingestión parecen compartir alérgenos similares. Por lo tanto, no debería subestimarse la posibilidad de presentar una alergia a cereales en una etapa posterior a la introducción de la fórmula de cereal durante la lactancia. Llevamos a cabo otro estudio para investigar este posible factor de riesgo.

Ha habido, durante los últimos 30 años, un incremento en la prevalencia del asma. La relación entre la dieta y el asma es un tema controvertido que nunca ha sido plenamente evaluado. Los intentos de realizar una prevención dietética del asma han producido resultados conflictivos.

Hemos identificado alérgenos de cereales que presentan reactividad cruzada con proteínas del polen de gramíneas⁷. Una ingestión de cereales en la dieta durante los primeros meses de la vida podría causar una sensibilización a cereales, mediada por IgE. No se comprendía si tal sensibilización predispone al desarrollo de alergia al polen. Para someter esta hipótesis a prueba, se llevó a cabo un estudio transversal y un análisis caso-control de los datos para 16.381 pacientes que habían sido admitidos en nuestra Unidad de Alergia a lo largo de diez años. Todos los pacientes se sometieron a pruebas de alergia con el fin de identificar el factor de riesgo del asma. Comprobamos que el asma debida al polen de gramíneas se asoció con una sensibilización a cereales. Se determinó que la introducción temprana de cereales en la dieta de los niños es un factor de riesgo para el desarrollo del asma por polen de gramíneas (OR = 5.95; 95% CI 3.89-9.10). Estos hallazgos documentaron, a largo de diez años, que la progresión del asma alérgico en una muestra grande de personas que fueron influenciadas por condiciones ambientales similares y estudiadas utilizando los mismos métodos diagnósticos. Este estudio representa la mayor base de datos de pacientes en los que se demostró que un alimento común puede ser un factor de riesgo para el asma.

7. Mecanismo de Tolerancia al Cereal y Posibilidades de Tratamiento

A pesar de que el asma del panadero (AP) se encuentra entre las enfermedades ocupacionales más

comunes, no se comprenden bien los factores de riesgo y características inmunes que podrían ser importantes para predecir la tolerancia o el desarrollo de la enfermedad. Intentamos estudiar la evolución de la reactividad antigénica del asma del panadero en España y Francia (el AP es la segunda causa más común de asma ocupacional comunicada en Francia) con el fin de detectar posibles diferencias en su respuesta alérgica y una evidencia acerca de los mecanismos protectores o de riesgo frente a esta enfermedad³².

Dos grupos de sujetos fueron seleccionados aleatoriamente. Un grupo de panaderos con asma procedentes de España y un segundo grupo procedente de Francia, cuya sangre fue obtenida hacía treinta años, con los siguientes subgrupos: panaderos con asma, panaderos sin alergia respiratoria ocupacional y esposas e hijos que estaban viviendo cerca de la panadería. Se efectuaron pruebas cutáneas con cereales, insectos y los alérgenos más comunes en su área. También se efectuó la medición de los niveles séricos de IgE, IgG4 e IL10 específicas (implicadas en los mecanismos de tolerancia). Los pacientes españoles estaban sensibilizados principalmente a alérgenos de cereales y presentaron niveles más elevados de IgE ($p < 0.001$). Los pacientes franceses estaban más frecuentemente sensibilizados a insectos y pestes del cereal que los pacientes procedentes de España: 5.26% frente al 80% ($p < 0.005$). Las personas sin síntomas o sin problemas en el lugar de trabajo presentaron niveles de IgG4 e IL10 específicas más elevados que los otros ($p < 0.01$). Los antígenos implicados en el asma del panadero pueden cambiar a lo largo del tiempo. La presencia de niveles más elevados de IgG4, IL10 y la diversidad de fuentes de sensibilización en pacientes franceses puede haber contribuido a que desarrollaran una clase de hiposensibilización natural³².

8. Tratamiento Médico para la Alergia Relacionada con el Trigo

El tratamiento médico para la alergia relacionada con el trigo, así como para la alergia alimentaria en general, puede incluir lo siguiente: Epinefrina para reacciones alérgicas severas (anafilaxia), anti-histamínicos y corticoides.

Aunque el tratamiento de la alergia al trigo se enfoca sobre medidas preventivas en general, en el caso del asma del panadero es posible una inmunoterapia específica.

Ciento treinta y nueve panaderos y pasteleros fueron incluidos en un estudio sobre prevalencia de hipersensibilidad a la harina de trigo mediada por IgE demostrada por pruebas cutáneas, IgE específica de harina de trigo (RAST) y pruebas de provocación mediante inhalación³⁸. Entre los trabajadores sensibilizados, seleccionamos treinta pacientes asmáticos. Veinte pacientes fueron tratados con un extracto estandarizado de harina de trigo y diez con placebo en una prueba clínica doble-ciego. Previo a la inmunoterapia, así como posterior a ésta, llevamos a cabo pruebas *in vivo* (pruebas cutáneas con harina de trigo y pruebas de metacolina) así como *in vitro* (IgE total e IgE específica para harina de trigo). Hallamos una prevalencia sustancial de alergia a la harina de trigo (25.17% de los trabajadores) y una reducción significativa ($p < 0.001$) en hiper-reatividad a metacolina, sensibilidad cutánea ($p = 0.002$) e IgE específica ($p < 0.005$) a la harina de trigo, al cabo

de veinte meses de inmunoterapia. También hubo una mejoría subjetiva significativa ($p < 0.001$). El grupo placebo no presentó cambios en estas variables.

9. Utilidad Diagnóstica del Diagnóstico por Componentes (Microarrays) en Pacientes con Hipersensibilidad al Trigo

La exposición a las proteínas de trigo puede activar reacciones alérgicas mediadas por IgE, afectando varias poblaciones y grupos de edad en todo mundo. No obstante, el diagnóstico actual de la alergia al trigo presenta varias limitaciones. En lo referente al diagnóstico *in vitro* (pruebas de IgE específicas), todas las estrategias diagnósticas han demostrado poseer una baja predictibilidad y especificidad^{1,2}, pudiendo estar asociadas con la utilización de extractos de trigo de pureza insuficiente, o con falta de inclusión de todos los alérgenos principales en dichos extractos. Por el contrario, la prueba de activación de basófilos se considera una técnica diagnóstica *in vitro* confiable, aunque no se utiliza ampliamente en la práctica clínica diaria.

La introducción de técnicas de microplaca utilizando un amplio panel de alérgenos purificados, ha sido un avance importante en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas. No obstante, esta técnica apenas ha sido aplicada al diagnóstico y caracterización de pacientes con asma ocupacional debida a alergia al trigo o al Asma de los panaderos.

Recientemente probamos la utilidad de realizar un estudio con microplaca en el diagnóstico de la alergia al trigo³⁹. El objetivo de nuestro estudio fue la caracterización de los perfiles alérgicos de pacientes con AP provenientes de tres regiones diferentes de España. El patrón de reconocimiento será comparado con sujetos con alergia al trigo por ingestión y con pacientes con rinitis estacional. Para este fin, se utiliza un panel de alérgenos de trigo purificados y alérgenos de polen provenientes de fuentes naturales e impreso sobre una microplaca de proteínas. Se reclutó a cuarenta y cinco pacientes provenientes de 3 regiones de España (Madrid $n = 17$, Málaga $n = 10$, Valladolid $n = 18$) con diagnóstico de AP confirmado, resultados positivos a la prueba de punción dérmica y con prueba de provocación a la harina de gluten. Se purificaron doce alérgenos de trigo (WDAI-0.19 y WDAI-0.53, WTAI-CM1, WTAI-CM2, WTAI-CM#, WTAI-CM16, WTAI-CM17, Tri a 14, profilina, ω -5-gliadina, Tri a Bd 36 y Tri a TLP). También se analizó, para contrastar, a un grupo de sujetos con rinitis estacional (SR, $n = 41$) y alergia al trigo por ingestión (pacientes con alergia o WFA, $n = 9$).

WTAI-CM16 y Tri 14 fueron definidos como los alérgenos más prevalentes (54 y 45% en promedio, respectivamente) cubriendo un total del 64% de la población con asma del panadero. Por otro lado, ω -5-gliadina y Tri a Bd36 fueron reconocidos por menos del 10% de la población con asma del panadero. Tri a 14 (PTL de trigo) fue reconocida exclusivamente por pacientes con AP (45%, $p = 0.0379$) y no por pacientes con WFA o SR.

Concluimos que la mayor prevalencia de ligamiento con IgE se observó para WTAI-CM16 (54%) y Tri a 14 (45%), con 64% de los pacientes con asma del panadero que reconocieron al menos uno de estos marcadores. Tri a 14 parece ser reconocida exclusivamente por pacientes con AP.

En resumen, el diagnóstico en pacientes con sensibilización al trigo es difícil debido a la relación entre el polen y este alérgeno y la diferente expresión de la enfermedad. El diagnóstico erróneo es causa de una inmunoterapia específica fallida y de la falta de una necesaria evitación de alimentos. El análisis epidemiológico mediante diagnóstico por componentes moleculares es un nuevo método que podría esclarecer la interacción entre el gradiente de exposición a alérgenos y el grado de sensibilización de los pacientes (Figura 5).



Figura 5 . Los análisis moleculares por microarrays (Component resolved diagnosis o CRD), pueden darnos información sobre las moléculas alérgicas que también detectan pacientes celíacos y con esofagitis eosinofílica. En la figura podemos ver la técnica y unos resultados en paciente celíaca sensible a proteínas transportadoras de lípidos.

Referencias

1. Constantin C, Quirce S, Poorafshar M, Touraev A, Niggemann B, Mari A et al. *Micro-arrayed wheat seed and grass pollen allergens for component-resolved diagnosis*. *Allergy*. 2009.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.01955.x>
PMid:19210348
2. Zuidmeer L, Goldhahn K, Rona RJ, Gislason D, Madsen C, Summers C et al. *The prevalence of plant food allergies: a systematic review*. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121(5): 1210-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2008.02.019>
PMid:18378288
3. Morita E, Kunie K, Matsuo H. *Food-dependent exercise induced anaphylaxis*. *J Dermatol Sci*. 2007; 47: 109-17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2007.03.004>
PMid:17507204
4. Brant A. Baker's asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007; 7: 152-5.
<http://dx.doi.org/10.1097/ACI.0b013e328042ba77>
PMid:17351468
5. Palosuo K. Update on wheat hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003; 3: 205-9.
<http://dx.doi.org/10.1097/00130832-200306000-00009>
PMid:12840704
6. Gómez L, Martín E, Hernández D, Sanchez-Monge R, Barber D, Del Pozo V et al. *Members of the alpha-amylase inhibitors family from wheat endosperm are major allergens associated with baker's asthma*. *FEBS Lett*. 1990; 261: 85-8.
[http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80642-V](http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793(90)80642-V)
7. Armentia A, Sánchez-Monge R, Gómez L, Barber D, Salcedo G. *In vivo allergenic activities of eleven purified members of a major allergen family from wheat and barley flour*. *Clin Exp Allergy*. 1993; 23: 410-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.1993.tb00347.x>
PMid:8334538
8. James JM, Sixbey JP, Helm RM, Bannon GA, Burks AW. *Wheat alpha-amylase inhibitor: a second route of allergic sensitization*. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 99: 239-3.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70103-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70103-9)
9. Pastorello EA, Farioli L, Conti A, Pravettoni V, Bonomi S, Iametti S et al. *Wheat IgE-mediated food allergy in European patients: alpha-amylase inhibitors, lipid transfer proteins and low-molecular-weight glutenins*. Allergenic molecules recognized by double-blind placebo controlled food challenge. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007; 144: 10-22.
<http://dx.doi.org/10.1159/000102609>
PMid:17496422

10. Sánchez-Monge R, García-Casado G, López-Otín C, Armentia A, Salcedo G. *Wheat flour peroxidase is a prominent allergen associated with baker's asthma.* Clin Exo Allergy. 1997; 27: 1130-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.1997.tb01149.x>
11. Palacín A, Quirce S, Armentia A, Fernández-Nieto M, Pacios LF, Asensio T et al. *Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma.* J Allergy Clin Immunol. 2007; 120: 1132-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2007.07.008>
PMid:17716720
12. Sandiford CP, Tathman AS, Fido R, Welch A, Jones MG, Tee RD et al. *Identification of the major water/salt insoluble wheat proteins involved in cereal hypersensitivity.* Clin Exp Allergy. 1997; 27: 1120-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.1997.tb01148.x>
PMid:9383251
13. Bittner C, Grassau B, Frenzel K, Baur X. *Identification of wheat gliadins as an allergen family related to baker's asthma.* J Allergy Clin Immunol. 2008; 121: 744-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2007.09.051>
PMid:18036646
14. Uvackova L, Skultety L, Bekesova S, McClain S, Hajduch M. *MS(E) based multiplex protein analysis quantified important allergenic proteins and detected relevant peptides carrying known epitopes in wheat grain extracts.* J Proteome Res. 2013. 12: 4862-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/pr400336f>
PMid:24007624
15. Armentia A, Arranz E, Hernandez N, Garrote A, Panzani R, Blanco A. *Allergy after inhalation and ingestion of cereals involve different allergens in allergic and celiac disease.* Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2008; 2: 47-57.
<http://dx.doi.org/10.2174/187221308783399234>
PMid:19075991
16. Bischoff SC, Mayer JH, Manns MP. *Allergy and the gut.* Int Arch Allergy Immunol. 2000; 121: 270-83.
<http://dx.doi.org/10.1159/000024340>
PMid:10828717
17. Moneret Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G. *Ulcerative colitis possibly due to hypersensitivity to wheat and egg.* Allergy. 2001; 56: 458-9.
<http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.056005458.x>
PMid:11350318
18. Czaja-Bulsa G. *Non celiac gluten sensitivity- A new disease with gluten intolerance.* Clin Nutr. 2014; Aug 29. pii: S0261-5614 (14)00218-0.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.08.012>

19. 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.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-14-26>
20. Mansuelo P, Seidita A, D'Alcamo A, Carroccio A. *Non-celiac gluten sensitivity: literature review.* *J Am Coll Nutr.* 2014; 33: 39-54.
<http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2014.869996>
PMid:24533607
21. Carroccio A, Brusca I, Mansueto P, D'Alcamo A, Barrale M, Soresi M et al. *A comparison between two different in vitro basophil activation tests for gluten and cow's milk protein sensitivity in irritable bowel syndrome (IBS)-like patients.* *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51: 1257-63.
<http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2012-0609>
PMid:23183757
22. Molina-Infante J, Martín-Noguerol E, Alvarado-Arenas M, Porcel-Carreño SL, Jimenez-Timon S, Hernandez-Arbeiza FJ. *Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic oesophagitis.* *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130: 1200-2.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.06.027>
PMid:22867695
23. Armentia A, Martín S, Jesús B, Martín B, Sánchez A, Orcajo P et al. *Value of microarray allergen assay in the management of eosinophilic oesophagitis.* *Allergol Immunopathol.* 2015. In press.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2014.02.006>
PMid:24961955
24. De Gregorio M, Armentia A, Diaz-Perales A, Dueñas-Laita A, Marín B, Salcedo G et al. *Salt-soluble proteins from wheat-derived foodstuffs show lower allergenic potency than those from raw flour.* *J Agric Food Chem.* 2009; 57: 3325-30.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf803475v>
PMid:19275238
25. Kosti RI, Triga M, Tsubouri S, Priftis KN. *Food allergen selective thermal processing regimens may change oral tolerance in infancy.* *Allergologia et immunopathologia.* 2013; 41: 407-17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2012.08.011>
PMid:23253679
26. García-Casado G, Sánchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G, Gómez L. *Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins.* *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 1250-5.
27. Palacín A, Quirce S, Armentia A, Fernández-Nieto M, Pacios LF, Asensio T et al. *Wheat lipid transfer protein is a major allergen associated with baker's asthma.* *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 1132-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2007.07.008>
PMid:17716720

28. Tordesillas L, Pacios LF, Palacín A, Quirce S, Armentia A, Barber D et al. *Molecular basis of allergen cross-reactivity: Non-specific lipid transfer proteins from wheat flour and peach fruit as models*. *Molecular Immunology*. 2009; 47: 534-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2009.07.028>
PMid:19846220
29. Armentia A, Rodriguez R, Callejo A, Martin-Esteban M, Martín-Santos JM, Salcedo G et al. *Allergy after ingestion or inhalation of cereals involves similar allergens in different ages*. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 1216-22.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2745.2002.01456.x>
PMid:12190662
30. Armentia A, Diaz-Perales A, Castrodeza J, Dueñas-Laita A, Palacín A, Fernández S. *Why can patients with baker's asthma tolerate wheat flour ingestion? Is wheat pollen allergy relevant?* *Allergol Immunopathol*. 2009; 37: 203-4.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2009.05.001>
PMid:19775798
31. Baur X, Degens PO, Snader I. *Baker's asthma: still among the most frequent occupational respiratory disorders*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 6863-70.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70337-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70337-9)
32. Panzani R, Armentia A, Lobo R, Postigo I, MArtínez J, Arranz ML et al. *Tolerance mechanisms in esponse to antigens responsible for baker 's asthma in different exposed people*. *J Asthma*. 2008; 45: 333-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/02770900801939294>
PMid:18446599
33. Barber D, de la Torre F, Feo F, Florido F, Guardia P, Moreno C et al. *Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study*. *Allergy*. 2008; 63: 1550-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2008.01807.x>
PMid:18925892
34. Britton J, Pavord I, Richards K. *Dietary magnesium, lung function, wheezing and airway hyper-reactivity in a random adult sample*. *Lancet*. 1994; 344: 357-62.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)91399-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(94)91399-4)
35. Grievink L, Smit HA, Ocke MC, van't Veer P. *Dietary intake of antioxidant pro-vitamins, respiratory symptoms and pulmonary function: The MORGEN-study*. *Thorax*. 1998; 53: 166-71.
<http://dx.doi.org/10.1136/thx.53.3.166>
PMid:9659349 PMCID:PMC1745167
36. de Luis DA, Armentia A, Aller R, Asensio A, Sedano E, Izaola O et al. *Dietary intake in patients with asthma: a case control study*. *Nutrition*. 2005; 21(3): 320-4.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2004.06.027>
PMid:15797673

37. Troisi RJ, Willett WC, Weiss ST, Trichopoulos D, Rosner B. A prospective study of diet and adult onset asthma. *Am J of Respir and Crit Care Medicine*. 1995; 151: 1401-8.
<http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm.151.5.7735592>
PMid:7735592
38. Armentia A, Martin-Santos JM, Quintero A, Fernández A, Barber D, Alonso E et al. *Bakers' asthma: prevalence and evaluation of immunotherapy with a wheat flour extract*. *Ann Allergy*. 1990; 65: 265-72.
PMid:2221484
39. Gómez C, Garrido M, Pereira C, Catarino M, Parro V, Armentia A et al. *Component resolved diagnosis of wheat flour allergy in baker's asthma*. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Apr 30. pii: S0091 6749(14)00437-0.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014.03.016>

CAPÍTULO 15

TAXONOMÍA DE LOS CEREALES: EL PAPEL DE LA DOMESTICACIÓN Y LA MEJORA GENÉTICA EN LA INTOLERANCIA AL GLUTEN.

María J. Giménez¹, Javier Gil-Humanes², Juan B. Álvarez³, Francisco Barro¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba, España.

²Departamento de Genética, Biología y Desarrollo Celular y Centro para Ingeniería del Genoma, Universidad de Minnesota, Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos.

³Departamento de Genética, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

mjga06@ias.csic.es gilxx016@umn.edu jb.alvarez@uco.es fbarro@ias.csic.es

Cómo citar este capítulo:

Giménez MJ, Gil-Humanes J, Álvarez JB, Barro F. *Taxonomía de los Cereales: El Papel de la Domesticación y la Mejora Genética en la Intolerancia al Gluten*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las proteínas de almacenamiento del trigo, centeno, cebada y, en menor grado, la avena, contienen epítomos responsables de la activación de la enfermedad celíaca (EC). Durante las últimas décadas se ha observado un incremento en la frecuencia de EC y aunque las razones de este no son claras, la mejora genética de plantas ha sido objeto de críticas que atribuyen a las nuevas variedades parte de la responsabilidad del aumento observado en su prevalencia. El trigo es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial debido a su alto rendimiento y adaptabilidad a diferentes ambientes. Los trigos cultivados son el resultado de la domesticación de especies originadas mediante hibridación natural interespecífica seguida de la duplicación cromosómica (alopoliploidía), al principio entre especies diploides y, posteriormente, entre especies diploides y tetraploides, dando lugar al trigo hexaploide. Este proceso se inició cuando los primeros agricultores empezaron a seleccionar características más beneficiosas para sus fines mediante un proceso inconsciente. Ha sido en el siglo XX cuando la mejora del trigo ha experimentado grandes avances y se han desarrollado las variedades modernas. En los cereales, los genes relacionados con gliadinas, responsables de la activación de la EC, no poseen valor adaptativo. Por lo tanto, si como resultado de la domesticación y mejora genética los trigos actuales fueran más tóxicos, sería el resultado de una selección inconsciente. La alopoliploidía supuso un incremento en el número de genes relacionados con gliadinas en las nuevas especies. El trigo harinero, el centeno y *Ae. tauschii* son las especies con un mayor número de epítomos de EC por gen, y parece que en el caso del trigo harinero se debe a la contribución del genoma de *Ae. tauschii*. Sin embargo, durante el proceso de domesticación y mejora no hubo incremento en el número de epítomos de EC por gen e, incluso, se redujo en algunos casos.

Palabras clave

Domesticación de cereales, mejora genética del trigo, prolaminas, gluten, inmunotoxicidad.

1. Introducción

El cambio en la dieta humana durante la revolución del Neolítico se ha asociado con un declive general de la salud en algunas áreas¹. La enfermedad celíaca (EC) es una de las enfermedades que emergió durante este período^{2,3} pero, a pesar de ser conocida desde la antigüedad, su historia es relativamente reciente. Las primeras referencias sobre lo dañina que puede resultar la ingestión de ciertos alimentos no aparecen sino hasta fines del siglo XIX, surgiendo el primer avance después de la Segunda Guerra Mundial con la demostración del papel fundamental que desempeña el gluten como agente desencadenante de la enfermedad⁴. Durante los últimos 60 años, el conocimiento sobre la EC ha avanzado significativamente, lo que ha resultado en una mejor comprensión de la patogénesis, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad⁵. El progreso en la comprensión de la enfermedad incluye el reconocimiento de su naturaleza autoinmune, su fundamento genético y la identificación de los fragmentos inmunogénicos del gluten que causan la EC en los pacientes⁶.

La definición de la enfermedad celíaca y sus criterios diagnósticos han evolucionado al aclararse los temas referentes a la misma. Debido a ello, las guías diagnósticas para la EC recomendadas por la Sociedad Europea para la Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN), publicadas por primera vez en 1970, han sido revisadas en dos ocasiones. Tal y como se define en las últimas guías del 2012⁷, “la EC es un trastorno sistémico de naturaleza autoinmune provocado por la ingesta del gluten y prolaminas relacionadas en individuos genéticamente susceptibles, y caracterizada por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos para la EC, haplotipos HLA-DQ2 o HLA-DQ8 y enteropatía. Los anticuerpos específicos para la EC comprenden los autoanticuerpos contra la TG2, incluyendo también los anticuerpos anti-endomisio (EMA) y los anticuerpos contra formas deamidadas de péptidos derivados de la gliadina (DGP)”.

La prevalencia de la EC es del 1% en la población general en países occidentales, pero varía de un país a otro. No obstante, se ha observado un incremento en la frecuencia de la EC en las últimas décadas, lo que puede atribuirse parcialmente al advenimiento de las pruebas serológicas y a la mayor conciencia pública en algunos países⁸. Las razones de este incremento no son claras, pero se han propuesto varias hipótesis sobre factores como la higiene⁹ y el aumento en el consumo de cereales, especialmente trigo (o derivados). En este capítulo se discuten los posibles papeles atribuidos a la domesticación y mejora de plantas en el aumento de la prevalencia de la EC.

2. Taxonomía y Domesticación de los Cereales

El proceso de transición desde los cazadores-recolectores a una sociedad sedentaria basada en la agricultura se inició hace unos 12.000 años¹¹. El cultivo de cereales y sus productos derivados han tenido un papel esencial en el desarrollo de las sociedades humanas en Eurasia y el Norte de África y actualmente representan un elemento importante en la mayoría de las naciones. Los

hallazgos arqueológicos indican que los humanos recolectaron formas silvestres de cereales modernos antes de que empezaran su cultivo deliberado, lo que implicó la selección y modificación de características importantes tales como el tamaño de las semillas y la integridad del raquis. La facilidad para el transporte y almacenamiento de dichos granos, junto con su elevado contenido en carbohidratos y proteínas son algunas de las características asociadas con las primeras plantas domesticadas. Los cereales cultivados son variantes domesticadas de especies de la familia *Gramineae* (*Poaceae*). La evidencia paleobotánica sugiere que esta familia surgió, al menos, hace unos 90 millones de años. Dentro de esta familia, las principales especies con interés agronómico se ubican en tres subfamilias: *Ehrhartoideae* (arroz), *Panicoideae* (maíz, caña de azúcar y sorgo) y *Pooideae* (avena, trigo, centeno y cebada); esta última subfamilia está formada por 15 tribus entre las que las *Avenae* (avena) y *Triticeae* (cebada, centeno y trigo) son las más importantes (Figura 1). Aunque especies de las distintas subfamilias se denominan como “cereales”, sus relaciones filogenéticas sugieren que la separación entre los grupos empezó hace 50-70 millones de años¹². La separación dentro de la tribu *Triticeae* es más reciente y se ha fechado en hace unos 2 millones de años, aunque un estudio reciente sugiere que estos acontecimientos de aparición de nuevas especies ocurrieron en los últimos diez millones de años¹³.

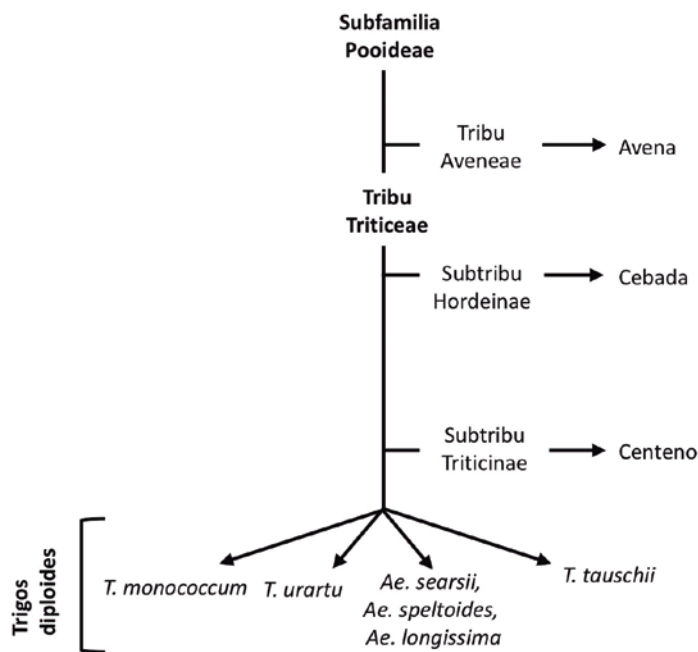


Figura 1. Origen y relación de los principales cereales. La subfamilia *Pooideae* (avena, trigo, centeno y cebada) comprende 15 tribus, siendo las tribus *Aveneae* (avena) y *Triticeae* (cebada, centeno y trigo) las más importantes.

2.1. Avena

El género *Avena* incluye especies cultivadas con diferentes niveles de ploidía. Tres linajes citogenéticamente independientes del género surgieron durante el proceso de domesticación (*A. sativa*, *A. strigosa* y *A. abyssinica*), aunque solamente la especie *A. sativa* se convirtió en un cereal de importancia. La especie hexaploide *A. sativa*, avena común ($2n = 6x = 42$), se cultiva ampliamente sobre todo para el consumo humano (sémola de avena y copos de avena) y alimentación del ganado. La avena probablemente evolucionó en un principio como mala hierba asociada a los campos de trigo y cebada y no como un cultivo¹⁴. La primera evidencia en campos de cultivo de *A. sterilis*, el pariente silvestre de la avena hexaploide *A. sativa*, data de alrededor de 11.400 años, en lo que parece ser una práctica de predomesticación¹⁵. Sin embargo, la primera evidencia de cultivo de *A. sativa* se ha hallado en Sacarova, Moldavia, y data de hace 7.600- 7. 400 años.

2.2. Cebada

La cebada cultivada (*Hordeum vulgare*) ($2n = 2x = 14$; HLA) es una de las primeras especies y una de las más importantes mundialmente. Evolucionó a partir de su progenitor silvestre *H. spontaneum*, que se originó hace 5.5 millones de años. La cebada silvestre ya empezó a ser recolectada por los humanos hace 50.000 años¹⁶ y las principales características asociadas con su domesticación fueron: raquis entero, semillas con mayor peso, espigas con seis hileras y semillas desnudas. De acuerdo con la literatura, la domesticación y cultivo de la cebada silvestre se llevó a cabo en varias áreas geográficas con, por lo menos, tres centros de origen principales: la Creciente Fértil, Asia Central y el Tíbet¹⁷. No obstante, los datos moleculares obtenidos de amplias colecciones de líneas de cebada silvestre y cultivada indican un origen común para todas las variedades modernas y tradicionales^{18,19}, que probablemente tuvo lugar en la región de Israel-Jordania¹⁷. En contraste con el trigo, la cebada posee cualidades inferiores como alimento básico y para la panificación. No obstante, tolera mejor la sequía, los suelos más pobres y un cierto nivel de salinidad¹⁴, lo que la convierte en un cultivo importante en determinadas regiones. Se utiliza en alimentación animal y para consumo humano en sopas, estofados y pan de cebada, aunque su principal uso es en la elaboración de cerveza (malta) y bebidas destiladas.

2.3. Centeno

El centeno cultivado pertenece al género menor *Secale l.* En la literatura, el proceso de domesticación de este cereal ha atraído menos atención que la de otros cereales, ya que el centeno no figura entre los cereales que promovieron la Revolución Agrícola. Evidencias arqueológicas provenientes del Valle del Éufrates en la actual Siria, indican que el origen del centeno cultivado tuvo lugar alrededor de 11.500 años a.C.²⁰ aunque, al igual que otros cereales, el centeno silvestre fue cultivado mucho tiempo antes. Se piensa que el progenitor silvestre del centeno es *S. vavilovii*^{14,21}, que es plenamente interfértil en cruces con *S. cereale* y ha sido hallado en sus hábitats primarios²². El centeno se cultiva particularmente en Europa Septentrional y Oriental. Se adapta bien a terrenos ácidos y arenosos y es resistente a condiciones frías y secas. El grano posee un elevado contenido

de proteínas y la mayoría de la producción mundial se consume en forma de pan¹⁴.

2.4. Trigo

El trigo es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y su gran extensión se debe en parte a su elevada adaptabilidad a diferentes ambientes y alta productividad, pero también a las propiedades viscoelásticas únicas de la masa de trigo, las cuales permiten la captura de CO₂ durante la fermentación, lo que facilita la preparación de panes con levadura y otros productos horneados. La domesticación del trigo se inició hace unos 10.000 años como parte de la Revolución Agrícola y se la ha ubicado en el Cercano Oriente, en la zona conocida como Creciente Fértil²³. El trigo es un complejo poliploide formado por múltiples especies con diferentes niveles de ploidía, consecuencia de la fusión de genomas de diferentes especies de la tribu *Triticeae* (Figura 2). Por lo tanto, existen especies diploides ($2n=2x=14$, AA), tetraploides ($2n=4x=28$, AABB) y hexaploides ($2n=6x=42$, AABBDD).

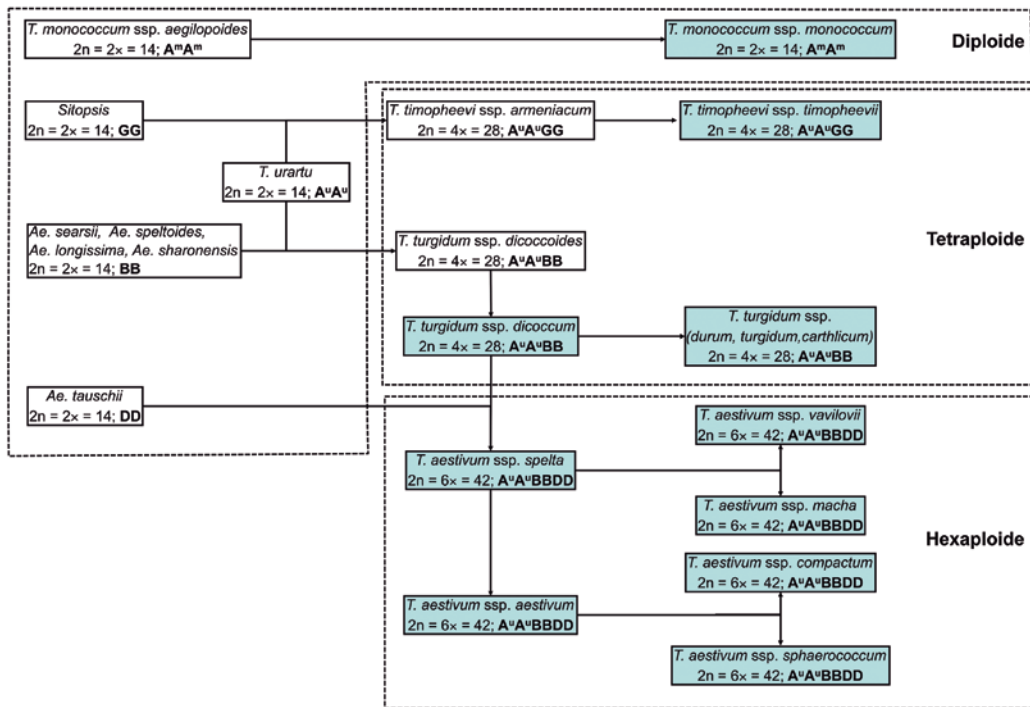


Figura 2. Trigo y sus parientes ancestrales. Eventos de hibridación que condujeron a trigos tetraploides y hexaploides. Las especies en gris son o han sido cultivadas.

El origen de los genomas A y D, es bien conocido. *T. urartu* Thum ex. Gandil ($2n=2x=14$, A^uA^u), una especie diploide silvestre, ha sido propuesta como donante del genoma A, en las especies de trigo poliploide²⁴. No obstante, el origen del genoma B está rodeado por cierta controversia. La hipótesis aceptada actualmente sugiere que *T. urartu* podría haber generado los trigos tetraploides silvestres en dos eventos de alopolidización diferentes. En primer lugar, al cruzarse con una especie de *Aegilops* (sección Sitopsis), probablemente *Ae. speltoides* Tausch. ($2n=2x=14$, posible BB) y una posterior duplicación de cromosomas, generó el emmer o farro silvestre (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* Korn. ex Asch & Graebnar em. Thell., $2n=4x=28$, A^uA^uBB), a partir del cual se domesticó el emmer o farro cultivado (*T. turgidum* ssp. *dicoccum* Schrank Thell., $2n=4x=28$, $AuAuBB$). Los demás trigos tetraploides, incluyendo el trigo duro (*T. turgidum* ssp. *durum* Desf. Em. Husn.), así como los trigos hexaploides, derivan de esta especie²⁵. En segundo lugar, el cruzamiento con otras especies de la sección Sitopsis con *T. urartu* originó el *T. timophevii* ssp. *armeniicum* Jakubz. em Slageren ($2n=4x=28$, A^uA^uGG), cuya forma cultivable (*T. timophevii* ssp. *timophevii*) se halla restringida a Georgia oriental. En lo referente al genoma D, varios estudios sugieren que el donante es el *Aegilops tauschii* Coss. ($2n=2x=14$, DD)^{26,27}. El cruzamiento de esta especie con emmer o farro cultivado (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* Schrank em. Thell., $2n=4x=28$, A^uA^uBB) y la posterior duplicación cromosómica, dio lugar a la espelta (*T. aestivum* spp. *spelta* L. em. Thell., $2n=6x=42$, A^uA^uBBDD), posible ancestro del trigo harinero (*T. aestivum* ssp. *aestivum* L. em. Thell.), actualmente la especie más importante del género *Triticum*.

A pesar de su origen relativamente reciente, el trigo presenta una enorme variabilidad genética, que ha permitido el desarrollo de alrededor de 25.000 tipos diferentes²⁸. El trigo harinero hexaploide (AABBDD) supone el 95% del trigo cultivado actualmente, mientras que el trigo duro, el 5% restante. El cultivo de trigos diploides está relegado a zonas marginales.

3. Proteínas de Almacenaje en Granos de Cereales

Los granos de cereal contienen relativamente pocas proteínas, alrededor del 10-12% en peso seco, en comparación con las semillas de leguminosas. Las proteínas de almacenamiento constituyen aproximadamente la mitad de esta proteína, que puede clasificarse en cuatro diferentes fracciones (albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas) de acuerdo con su solubilidad. Exceptuando el caso de la avena y el arroz, las prolaminas son las principales proteínas de almacenamiento en el endospermo de los granos de los cereales, denominadas de ese modo ya que poseen un elevado contenido de prolina y glutamina. En contraste, en avena y arroz las proteínas de almacenamiento son principalmente globulinas 11-12S, aunque las proteínas de almacenamiento del arroz han sido clásicamente clasificadas como glutelinas, ya que no son fácilmente solubles en soluciones salinas²⁹.

En el trigo, las prolaminas se dividen en dos grupos: gliadinas y gluteninas. Las primeras son monoméricas, mientras que las segundas son poliméricas. Por esta razón, aunque ambas fracciones son solubles en alcohol, las gluteninas fueron originalmente clasificadas como glutelinas (insolu-

bles en alcohol) ya que deben ser desnaturalizadas mediante agentes reductores (β -mercaptoetanol o ditioneitol) para hacerlas solubles en soluciones alcohólicas. Ambos grupos proteínicos son componentes principales del gluten, el cual ha sido definido como “*la masa viscoelástica que queda después de haber lavado completamente el almidón de la harina*”³⁰. Esta estructura es la principal responsable de las propiedades de la harina de trigo que permiten procesos tecnológicos, tales como el horneado de pan.

Estas proteínas conforman una mezcla compleja que puede tener desde 50 componentes en trigo hexaploide, hasta 20 en especies diploides³¹. Las gluteninas se clasifican en subunidades de elevado peso molecular (HMWGs) y subunidades de bajo peso molecular (LMWGs)³². Las HMWGs, con pesos moleculares que oscilan entre 80-140 kDa son codificadas por loci del complejo Glu-1, ubicados en el brazo largo de cada cromosoma del grupo 1, denominados Glu-A1, Glu-B1 y Glu-D1, respectivamente³³. Las LMWGs, por su parte, tienen pesos moleculares que oscilan entre 30-50 kDa y se codifican por los loci Glu-A3, Glu-B3 y Glu-D3 situados en el brazo corto de los cromosomas del grupo 1³⁴. Las gliadinas se clasifican en α/β -, γ - y ω -gliadinas, y son sintetizadas por genes situados en el brazo corto de los cromosomas del grupo 1 (loci Gli-A1, Gli-B1 y Gli-D1, que codifican las γ - y ω -gliadinas), y del grupo 6 de cromosomas (Gli-A2, Gli-B2 y Gli-D2 que codifican para α - y β -gliadinas)³⁵. Otros loci menores de gliadinas y gluteninas también han sido detectadas en el brazo corto de cromosomas del grupo 1³⁶. En un solo genotipo de trigo harinero, las proteínas del gluten podrían estar compuestas de hasta 45 gliadinas diferentes, 7 a 18 de LMW-GS, y 3 a 6 de HMW-GS. Todas esas proteínas son sintetizadas y depositadas en el endospermo amiláceo durante el desarrollo del grano. Wieser³⁷ determinó mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase inversa, utilizando diversas especies de trigo cultivadas, que las α -gliadinas predominan en la mayoría de los casos, seguidas por las γ -gliadinas y las LMW-Gs; las ω -gliadinas y HMW-GS son, por lo general, componentes menores.

El incremento en la disponibilidad de información detallada sobre las estructuras moleculares y la genética de las proteínas presentes en las fracciones de gluteninas y gliadinas ha permitido que sean redefinidas en tres grupos o familias, llamadas prolaminas ricas en azufre (S-ricas), pobres en azufre (S-pobres) y de alto peso molecular (HMW). En el trigo, las prolaminas S-ricas están presentes como monómeros (gliadinas) y polímeros (gluteninas) y las S-pobres de forma predominante (aunque no exclusiva) como monómeros³⁸.

La cebada es una especie diploide y por lo tanto, la genética de sus proteínas de almacenamiento es mucho más simple que la del trigo hexaploide. Las prolaminas de la cebada cultivada consisten en B- y γ -hordeínas S-ricas, C-hordeínas S-pobres y D-hordeínas HMW³⁹. En cebada cultivada todos los genes de hordeínas están ligados en los brazos cortos y largos del cromosoma 5, donde se hallan organizados en loci complejos⁴⁰. Las C-hordeínas se hallan codificadas en el locus Hor 1, del brazo corto del cromosoma 5, mientras que las D-hordeínas se hallan en el locus Hor 3 del mismo cromosoma⁴¹.

Los genes de prolaminas carecen de intrones y consisten de varios dominios, uno de los cuales es

un dominio largo y repetitivo formado por motivos con elevado contenido de prolina y glutamina. Los otros dominios presentes en estos genes muestran una elevada conservación de sus secuencias de nucleótidos y aminoácidos, lo que sugiere que todos estos genes podrían derivarse de un solo gen ancestral⁴². No obstante, las gliadinas y las gluteninas no están presentes en las mismas cantidades en el grano de los cereales; sus proporciones pueden variar dentro de un amplio margen y dependen tanto del genotipo (variedad), como de las condiciones del cultivo (tierra, clima, fertilización, etc.). Se determinó la razón entre gliadinas y gluteninas en distintos cereales⁴³; el trigo común hexaploide presentó la menor proporción (1.5-3.1), seguida por la avena y espelta (1.7.-3.3), la cebada (1.4-5.0), el trigo duro y el kamut (3.1-3.4), el trigo emmer o farro (3.5.-7.6), el centeno (6.3-8.2) y trigo einkorn (4.0-13.9).

4. Mejora del Trigo

En la región Mediterránea, el cultivo está unido a su transformación en harina y su consumo. La harina se consumía originalmente en forma de gachas, sin requerimientos de condiciones especiales para su elaboración⁴⁵. Un uso más elaborado es a elaboración de pan, cuyas primeras referencias escritas se remontan a hace 4.600 años, aunque los hallazgos arqueológicos indican la posibilidad de que ya se conociera en Babilonia hace seis mil años. El proceso de horneado fue desarrollado en el antiguo Egipto donde empezó a utilizarse la levadura de cerveza (*Sacharomyces cerevisiae* L.) para fermentar la masa⁴⁵.

A lo largo de la historia, este proceso ha experimentado pocos cambios. Hasta la revolución industrial, los procesos de horneado eran llevados a cabo manualmente; esto permitía la utilización de variedades de trigo con propiedades reológicas muy diferentes de las de variedades de trigo contemporáneas. Cuando empezó a utilizarse maquinaria industrial, los productores se vieron forzados a buscar variedades con cualidades muy específicas⁴⁶. La masa elaborada con estas harinas debe tener un cierto nivel de tolerancia al mezclado mecánico y al exceso de mezclado, un proceso que difiere mucho del proceso manual. En consecuencia, muchas variedades tradicionales de trigo fueron abandonadas, principalmente debido a su menor productividad y, en muchos casos, debido a su difícil mecanización. La sustitución de variedades tradicionales por otras mejoradas supuso la pérdida de parte de la variabilidad alélica de las prolaminas presentes en estos materiales antiguos, sobre todo en las regiones donde se produjo indiscriminadamente. Este cambio de variedades ha sido particularmente intenso durante el último siglo^{47,48}. Afortunadamente, parte de esta variabilidad perdida en los campos, ha sido preservada en bancos de germoplasma y puede ser utilizada en la actualidad para ampliar la reserva genética de los cultivares modernos.

4.1. El Papel de los Antiguos Agricultores en la Mejora del Trigo

La selección artificial de plantas, es tan antigua como la agricultura. Los antiguos agricultores seleccionaron las plantas más adecuadas a sus necesidades y/o fines. Este proceso empírico hizo posible la generación de diferentes materiales para una misma especie cultivada. Un ejemplo de

esto, citado habitualmente, es el caso de *Brassica oleraceae*, una especie que, en manos de estos agricultores, dio origen a variantes tan distintas como el repollo, la coliflor, las coles de Bruselas, el broccoli y la col rizada. Si se piensa en el trigo, es posible hallar pueblos que a través de su historia, han utilizado trigos vestidos (con glumas protectoras), como emmer o espelta, mientras otros asociaron su dieta con trigos desnudos (sin glumas), como el trigo duro y el trigo común o harinero.

De igual manera, la utilización o no de levadura originó variedades de trigo con diferentes características panaderas. Todos estos procesos podrían haber dado lugar a la selección de diferentes variantes alélicas de prolaminas implicadas en estos procesos tecnológicos, los cuales junto con el papel fisiológico que estas proteínas tienen en la planta de trigo (fuente de aminoácidos durante la germinación), podrían haber permitido la fijación de mutaciones en el dominio repetitivo de estas proteínas, donde se ubican los péptidos reactivos en relación con la EC.

La expansión del cultivo del trigo desde el Creciente Fértil ha sido documentada a partir del quinto milenio a.C. para las especies tetraploides y las hexaploides²³. Esta dispersión ha sido vinculada con migraciones humanas e intercambios comerciales entre grupos del Cercano Oriente y otros grupos de Asia, así como grupos de Europa y el Norte de África. Dentro de este contexto pudieron haberse dado numerosos eventos de deriva genética, debidos a los distintos efectos fundadores, seguidos de sucesivas expansiones. Además, la adaptación a condiciones climatológicas y edafológicas diferentes, junto con la diversificación de sus usos finales, pudo haber generado gran diversidad dentro de la especie. Por esta razón, la posibilidad de que los antiguos agricultores hayan seleccionado conscientemente las prolaminas más tóxicas es muy baja y carente de cualquier fundamento científico.

4.2. Mejora del Trigo con base Científica

Aunque, a lo largo de los siglos XVIII y XIX fueron notables los esfuerzos de los mejoradores, el auge de la mejora genética no tuvo lugar hasta el siglo XX. La introducción del gen de altura reducida (*Rht8*), junto con el gen de insensibilidad al fotoperiodo, tuvieron gran importancia en el desarrollo de nuevas variedades comerciales de trigo durante las primeras décadas del siglo pasado. Estos genes, en combinación con la mayor disponibilidad de fertilizantes de nitrógeno, incrementaron sustancialmente la producción de trigo en todo el planeta⁴⁹.

Una figura clave en la introducción de estas características en el germoplasma europeo fue Nazareno Strampelli, un mejorador de trigo italiano quien, en 1913, desarrolló variedades con un tallo más corto, mayor resistencia a encamado y más precoces, mediante la utilización de la variedad japonesa *Akakomugi* como parental. Los trigos de Strampelli fueron utilizados posteriormente para desarrollar otras variedades a nivel mundial. En 1952, investigadores del Departamento de Agricultura de los EE.UU. (USDA) introdujeron otros genes de enanismo (*Rht1* y *Rht2*) procedentes de otra variedad japonesa (*Norin-10*), que fueron incorporados a las variedades modernas de trigo⁴⁹. *Norin-10* y sus derivados fueron transferidos al Centro Internacional para la Mejora del Maíz y el Trigo (CIMMYT), en México, y utilizados por Norman Borlaug como parte de las va-

riedades clave en la Revolución Verde, que permitieron incrementar la productividad globalmente y, en particular, que algunas naciones en vías de desarrollo, como India o Pakistán, mejoraran su seguridad y producción alimentarias.

Como se mencionó anteriormente, en algunos países la sustitución de las antiguas variedades tradicionales de trigo por otras nuevas fue indiscriminada y generó la pérdida de diversidad genética local. No obstante, a pesar de que algunas características de estas variedades mejoradas proceden de un número reducido de variedades tradicionales o antiguas, los genotipos utilizados en programas de mejora del Programa Global del Trigo del CGIAR (Grupo Consultivo sobre Investigación Agrícola Internacional) estas representan una parte importante de la diversidad genética mundial del trigo.

5. Especies de Cereales y EC

Basándose en los cereales antes mencionados, el trigo ha sido el que más ampliamente se ha estudiado y discutido en relación con el desarrollo de la EC. Las proteínas del gluten del trigo están compuestas por gliadinas monoméricas y gluteninas poliméricas. La mayoría de los epítomos reactivos en la EC han sido hallados en la fracción de gliadina. La inmunotoxicidad de muchos péptidos del gluten ha sido evaluada mediante la activación de células T específicas para el gluten aisladas de biopsias duodenales en pacientes con EC. Se ha confirmado que las α y γ -gliadinas contienen la gran mayoría de los epítomos que activan la EC⁵⁰. Estos análisis demostraron que el número de epítomos inmunotóxicos identificados en proteínas del gluten de trigo y otras gramíneas se ha incrementado de forma significativa en los últimos años. Aunque distintas variedades de trigo con diferentes niveles de ploidía han sido analizadas en busca de diferencias en el contenido de péptidos inmunoreactivos, existe poca información sobre la diversidad genética en el germoplasma del trigo cultivado. La mayoría de los estudios ha incluido pocos genotipos de cada especie (Tabla 1) con la excepción de dos estudios (uno sobre trigo duro y otro sobre trigo harinero), que incluyeron más de treinta entradas. Por otro lado, la metodología utilizada para evaluar su toxicidad no fue idéntica en todos los estudios (Tabla 1) y por lo tanto, son difíciles las comparaciones entre especies y niveles de ploidía.

No obstante, trigos con diferentes niveles de ploidía, presentan diferencias en el contenido de péptidos inmunoreactivos. Algunos autores han identificado trigos diploides y hexaploides, e incluso algunas variedades antiguas de trigo hexaploide, como una fuente potencial de variabilidad para la introducción de baja toxicidad para EC como un nuevo carácter de mejora.⁵¹⁻⁵³ Molberg y cols.⁵⁴ y Spaenij-Dekking y cols.⁵¹ hallaron una gran variabilidad en el número de péptidos estimuladores de células T CD4, presentes en α - y γ -gliadinas y gluteninas entre líneas de trigos diploides, tetraploides y hexaploides. De igual manera, en un estudio que incluyó 43 genotipos se observó que la variabilidad de la inmunotoxicidad en *Ae. tauschii*, determinada mediante cribado para epítomos de proteínas expresadas, era más amplia que la de *T. aestivum*⁵⁵. En dicho estudio, algunos genotipos de *Ae. tauschii* expresaron cantidades de epítomos tóxicos para EC relativamente menores. No obstante, esta variabilidad no implica menor toxicidad, ya que otro estudio deter-

minó un reconocimiento eficiente de los productos de digestión del gluten por parte de los clones de células T, específicos para α - y γ -gliadinas, en todas las líneas estudiadas⁵⁶.

Tabla 1. Revisión de diversos estudios que analizan la inmunotoxicidad de trigos cultivados de diferente nivel de ploidía: número de genotipos incluidos en el estudio, tipo de proteína y método de detección.

Especie	Número de accesiones	Tipo de proteína	Método de detección	Referencia
<i>T. monococcum</i>	15	Alfa y gamma gliadinas	Células T	(54)
<i>T. monococcum</i>	2	Alfa y gamma gliadinas Gluteninas HMW y LMW	mAbs IFN- γ Células T	(51)
<i>T. monococcum</i>	1	Alfa gliadinas	Cribado de epítomos	(69)
<i>T. monococcum</i>	1	NE ^(a)	IFN- γ	(70)
<i>T. monococcum</i>	1	Todas ^(b)	Cribado de epítomos	(71)
<i>T. monococcum</i>	3	Alfa gliadinas	Cribado de epítomos	(72)
<i>T. monococcum</i>	1	Gamma gliadinas	Cribado de epítomos	(73)
<i>T. monococcum</i>	2	NE	IFN- γ Células T IL-15	(74)
<i>T. monococcum</i>	1	NE	Células T	(75)
<i>T. durum</i>	10	Alfa y gamma gliadinas	Células T	(54)
<i>T. durum</i>	4	NE	Células T	(75)
<i>T. durum</i>	6	Alfa gliadinas	mAbs	(76)
<i>T. durum</i>	7	Alfa gliadinas	Cribado de epítomos	(77)
<i>T. durum</i>	51	Alfa gliadinas	mAbs	(52)
<i>T. aestivum</i>	1	Alfa y gamma gliadinas	Células T	(54)
<i>T. aestivum</i>	5	Alfa y gamma gliadinas Gluteninas HMW y LMW	mAbs IFN- γ Células T	(51)
<i>T. aestivum</i>	1	NE	Células T	(75)
<i>T. aestivum</i>	8	Alfa gliadinas	Cribado de epítomos	(77)
<i>T. aestivum</i>	2	Alfa gliadinas	Cribado de epítomos	(78)
<i>T. aestivum</i>	3	Alfa gliadinas	mAbs	(52)

<i>T. aestivum</i>	86	Alfa y gamma gliadinas Gluteninas HMW y LMW	mAbs	(53)
<i>T. aestivum</i>	2	NE	IFN- γ anti-tTG	(79)

(a) NE= No especificado; (b) Todas las fracciones de prolaminas

En la cebada, todas las fracciones de prolaminas son inmunotóxicas, pero se ha comunicado que las D- y C-hordeínas son las más activas para desencadenar la EC⁵⁷. Se han realizado esfuerzos para identificar nuevas variedades de cebada con inmunotoxicidad reducida. Precisamente, Tanner y cols⁵⁷ describieron que líneas de cebada carentes de B- y C-hordeínas, presentaban una inmunotoxicidad 20 veces menor que la de la cebada silvestre.

El centeno también se halla entre los cereales prohibidos para pacientes con EC y se han detectado epítomos estimuladores de células T en este cereal⁵⁸. No obstante, se sabe poco sobre la variabilidad en la toxicidad de diferentes variedades de centeno, incluyendo aquellas utilizadas para la mejora del trigo durante la Revolución Verde.

6. ¿Se ha incrementado la Inmunotoxicidad del Trigo mediante la Domesticación y la Mejora?

Dos tipos de selección operan (y se complementan mutuamente) bajo la domesticación y la mejora: (a) Una selección consciente e intencional, aplicada por los mejoradores para las características de interés; (b) Una selección inconsciente o automática, causada por el hecho de que estas plantas fueron extraídas de su hábitat original e insertadas en nuevos ambientes no naturales, por lo general muy diferentes⁵⁹. Los genes para las proteínas de almacenamiento no poseen valor adaptativo, son neutrales, y ninguno de los genes mayores que regulan las principales características cualitativas sometidas a fuerte presión selectiva durante la domesticación del trigo (raquis entero y facilidad de trillado) se ubican en las regiones cromosómicas que codifican para genes de prolamina, como tampoco lo están la mayor parte de los loci para características cuantitativas (QTL) con pequeños efectos sobre el síndrome de domesticación⁶⁰. Las características agronómicas y la adaptación a estrés biótico y abiótico han sido las dianas de esta selección local. Un análisis de meta-QTLs llevado a cabo para identificar QTL principales y consistentes para la productividad y sus componentes ha demostrado que, entre los loci para prolamina, solamente Glu-A1 y Glu-B1 para HMWGs se ubicaban en la vecindad de dos de estos meta-QTLs⁶¹. No obstante, la selección para resistencia a enfermedades y plagas, grandes limitantes de la productividad en cosechas, podría haber implicado la selección de alelos de prolaminas particulares, ya que los genes para resistencia a enfermedad están distribuidos a lo largo del genoma de trigo, incluyendo aquellos que se hallan en cromosomas de los grupos 1 y 6, donde se codifican los loci de gliadina^{62,63}. Por lo tanto, si el

proceso de domesticación elevó el número de péptidos tóxicos o favoreció genes de gliadina con mayor toxicidad, dicho proceso habría sido llevado a cabo inconscientemente y, en parte, debido al pequeño tamaño de la población seleccionada.

Entre las muchas críticas sin fundamento recibidas por las variedades de trigo de la Revolución Verde, se halla el bajo número de progenitores utilizado por mejoradores durante las primeras fases, lo que implica baja variabilidad en las prolaminas, en particular de las gliadinas.

Los datos proteómicos y genómicos disponibles para el trigo harinero y sus ancestros diploides y tetraploides proporcionan información útil sobre las proteínas de la prolamina, incluyendo el contenido de prolina y glutamina y la abundancia y frecuencia de epítomos relacionados con la EC. Esta información es importante, ya que los genes de gliadina son ricos en los aminoácidos prolina y glutamina y los epítomos del gluten que son altamente antigénicos se localizan principalmente en las regiones ricas en prolina⁵⁰. Por lo tanto, si eventos mutacionales post-domesticación han afectado a las regiones inmunotóxicas de los genes gliadinas, este hecho se reflejaría en la presencia de diferencias en las proteínas de prolamina entre especies de trigo y, en particular, entre trigos diploides y hexaploides.

Las secuencias de proteínas relacionadas con gliadinas de los organismos indicados en la Tabla 2 fueron analizadas para parámetros como longitud de proteínas, contenido de prolina y glutamina, y número de epítomos de EC por secuencia. Los epítomos relevantes de células T restringidos para el gluten por moléculas HLA-DQ fueron tomados en consideración para este análisis⁶.

Las secuencias proteínicas de avena y cebada, las cuales divergieron antes en la evolución de los cereales (Figura 1), son más cortas que las del centeno y el trigo y sus ancestros (exceptuando *T. turgidum* ssp. *turgidum*). Dos ancestros diploides del trigo hexaploide, *Ae. speltooides* (BB) y *Ae. tauschii* (DD), presentan, respectivamente, longitudes de gliadina de 308 y 298 aminoácidos, más largas que la del trigo harinero (Tabla 2). *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*, el ancestro de los trigos tetraploides cultivados, presenta proteínas de gliadina con una longitud promedio de 306 aminoácidos, significativamente más largas que las de *T. turgidum* ssp. *durum* y *T. turgidum* ssp. *turgidum*, con 287 y 259 aminoácidos respectivamente. Parece que en los procesos de domesticación y mejora no se ha incrementado la longitud de las proteínas relacionadas con las gliadinas, en el trigo harinero o duro. En relación con el contenido de prolina (P) y glutamina (Q), existe una buena correlación entre longitud proteínica y contenido de glutamina ($r^2 = 0.8328$), lo que indica que cuanto más larga sea la secuencia, mayor será el contenido de glutamina.

Tabla 2. Análisis proteómico de las proteínas relacionadas con las gliadinas en cereales. Solo se han considerado secuencias de proteínas completas.

Organismo	Nombre común	Genoma	Longitud promedio (1)	Prolina (%)	Glutamina (%)	Epítomos /secuencia (2)
<i>A. sativa</i>	Avena	AACCDD	207 d	8.9	26.9	0.4 e
<i>H. vulgare</i>	Cebada	HH	265 c	16.9	29.2	1.3 de
<i>S. cereale</i>	Centeno	RR	296 ab	18.2	32.9	5.2 a
<i>T. urartu</i>	Forma silvestre	A ^u A ^u	283 abc	15.5	31.6	3.2 bcd
<i>Ae. speltooides</i>	Donante genoma BB	BB	308 a	14.9	34.3	3.0 bcd
<i>T. monococcum ssp. aegilopoides</i>	Escaña silvestre	A ^m A ^m	288 abc	15.4	31.0	3.4 bcd
<i>T. monococcum ssp. monococcum</i>	Escaña menor	A ^u A ^u	281 bc	15.0	31.8	2.7 bcd
<i>Ae. tauschii</i>	Donante genoma DD	DD	298 a	15.7	33.5	5.1 a
<i>T. turgidum ssp. dicoccoides</i>	Farro silvestre	A ^u A ^u BB	306 a	14.7	33.7	4.4 ab
<i>T. turgidum ssp. durum</i>	Trigo duro	AuA ^u BB	287 abc	14.7	32.8	2.2 cd
<i>T. turgidum ssp. turgidum</i>	Trigo inglés	AuAuBB	259 c	16.7	31.9	4.1 ab
<i>T. aestivum ssp. aestivum</i>	Trigo harinero	A ^u A ^u BBDD	291 ab	15.7	32.2	5.1 a

(1) Promedio del número de aminoácidos en péptidos maduros.

(2) e han considerado los epítomos relevantes de células T de gluten restringidos por moléculas HLA-DQ⁶

Los promedios dentro de una columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes con $p < 0.05$, según lo determinado por la prueba de comparaciones LSD de todos los pares.

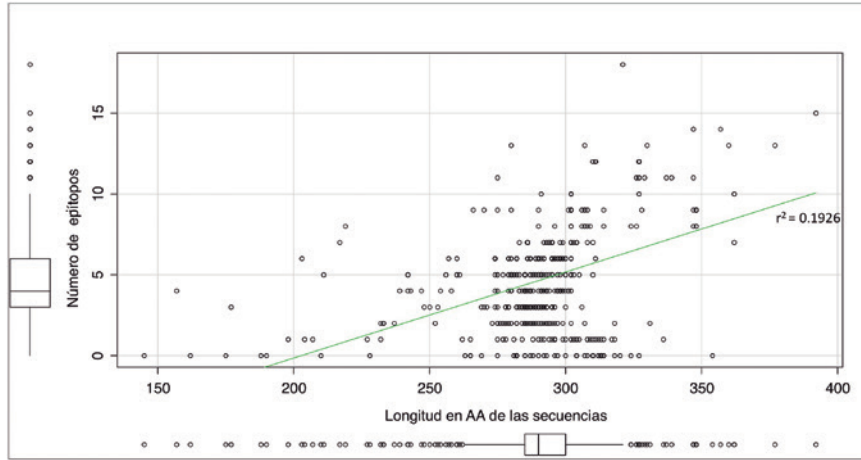


Figura 3. Correlación entre el número de epítomos reactivos en la enfermedad celíaca y la longitud en AA de las proteínas tipo gliadina para las especies indicadas en la Tabla 2.

El número de epítomos relacionados con la EC por secuencia también se indica en la Tabla 2 y está representado en la Figura 3. Como se indicó, el menor número de epítomos por secuencia corresponde a la avena y cebada (Tabla 2). El centeno, *Ae. tauschii* y el trigo harinero poseen el número más elevado de epítomos relacionados con EC por secuencia, 5.2, 5.1 y 5.1, respectivamente. *T. urartu* y *Ae. speltooides*, los donantes de los genomas AA y BB, respectivamente, poseen un número comparable de epítomos por secuencia, significativamente menor que el de *Ae. tauschii*, el donante del genoma DD en trigo harinero. La hibridación natural entre *T. urartu* y *Ae. speltooides* generó *T. turgidum* ssp. *diccoides* (Figura 2), emmer silvestre. De acuerdo con los datos disponibles sobre proteínas, este proceso de hibridación parece haber elevado el número de epítomos de EC por secuencia a 4.4 (Tabla 2). Sorprendentemente, el desarrollo de variedades modernas de trigo duro condujo a una disminución significativa en el número de epítomos por secuencia para esta especie (*T. turgidum* ssp. *durum*), pero no sucedió así para el trigo cultivado en Egipto durante el período faraónico (*T. turgidum* ssp. *turgidum*), el cual posee un número de epítomos por secuencia comparable al de su ancestro silvestre, *T. diccoides*. *Ae. tauschii* proporcionó el genoma DD al trigo harinero y, por lo tanto, a las variedades hexaploides modernas, mediante la hibridación natural con emmer cultivado (*T. turgidum* ssp. *dicoccum*) (Figura 2). El número de epítomos de EC por secuencia es mayor en el trigo harinero (5.1) que en el emmer silvestre (4.4). Una vez más, parece que el proceso de hibridación elevó el número de epítomos por secuencia y ello puede atribuirse a *Ae. tauschii*. En la figura 3 se muestra que existe un elevado número de secuencias que contienen más de 10 epítomos. Dichas secuencias se hallan presentes en una frecuencia comparable en *Ae. tauschii* y trigo harinero (Figura 4A). Por el contrario, las secuencias con un bajo número de epítomos para EC se hallan presentes en una proporción más elevada en *Ae. speltooides*, *T. monococcum* ssp. *monococcum* y *T. turgidum* ssp. *durum* (Figura 4B).

Queda claro que los procesos naturales de especiación descritos anteriormente generaron duplicación del genoma y, como consecuencia, el número de genes de gliadinas y relacionados con ellas se ha elevado de diploides a tetraploides, y de tetraploides a hexaploides. Por lo tanto, no solamente es relevante el número de epítomos por secuencias, sino que también lo es el número de genes que contienen dichos epítomos. Existe poca información acerca del número de copias de los genes de gliadinas. Anderson y cols.⁶⁴ estimaron que el número de copias de genes de α -gliadina está comprendido entre 60 y 150 genes de α -gliadina en dos trigos harineros (cv Chinese Spring y Cheyenne, respectivamente) y 90 en una línea de trigo duro. No obstante, Lafiandra y cols.⁶⁵, resolvieron por lo menos 16 puntos principales de α -gliadina mediante PAGE 2-D de extractos proteínicos de semilla cv. Cheyenne. Este número es considerablemente menor que la estimación de 150 genes para el mismo cultivar. Entre las posibles explicaciones para esta discrepancia se ha propuesto que muchos miembros de la familia son pseudogenes y/o que las bandas/puntos de proteína podrían corresponder al producto de diversos genes.

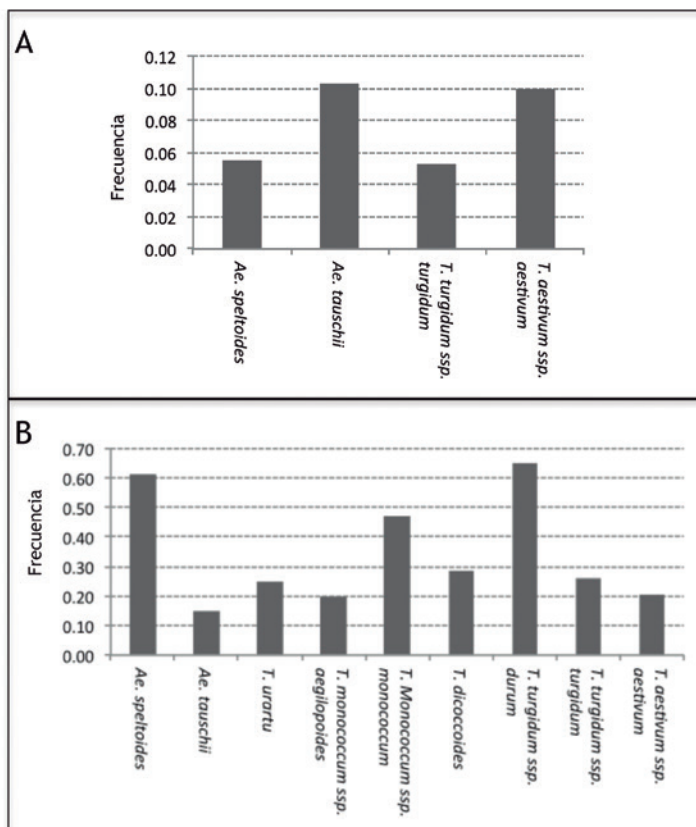


Figura 4. Frecuencia de secuencias que contienen más de 10 (A) o menos de 2 (B) epítomos inmunotóxicos para EC para distintas especies.

Anderson y cols.⁶⁶ publicaron el juego completo de genes distintos para γ -gliadinas del cultivar Chinese Spring, utilizando una combinación de secuencias expresadas etiquetadas (ESTs) y secuencias de ADN obtenidas mediante la tecnología 454 de Roche. Estos autores describieron 11 genes activos y dos pseudogenes. Cuatro de estos genes fueron asignados a *Ae. tauschii* (el donador del genoma D), mientras que los genes para otras γ -gliadinas se asignaron a los genomas A o B⁶⁶.

En lo referente a las ω -gliadinas, aún no se ha determinado el número preciso de genes de estas proteínas en trigo. Sabelli y Shewry⁶⁷ utilizaron Southern blot para sugerir que el trigo harinero contenía cerca de 15-18 genes de ω -gliadina. Anderson y cols.⁶⁸ analizaron todas las secuencias de ADN de ω -gliadina y ESTs disponibles, identificadas a partir de la gran colección de EST de trigo. Hallaron tres grupos de dos secuencias genéticas activas de ω -gliadinas asignados a cada uno de los tres genomas de trigo hexaploide y un cuarto grupo consistente en pseudogenes asignados al genoma A. Esto es interesante por el reducido número de genes activos por genoma y el elevado número de pseudogenes⁶⁸.

7. Conclusiones

El trigo es una de los cultivos más importantes a nivel mundial y su amplia difusión se debe, en parte, a su elevada adaptabilidad a diferentes ambientes y a su elevada productividad. El trigo harinero representa un 95% del total de trigo cultivado, mientras que el trigo duro (trigo para pasta) representa solo alrededor del 5% restante. Los trigos cultivados derivan de especies originadas por hibridación natural interespecífica seguida de la duplicación cromosómica, al principio entre especies diploides y, posteriormente, entre especies diploides y tetraploides, dando lugar al trigo hexaploide. La domesticación de estos trigos se inició cuando los primeros agricultores empezaron a seleccionar granos con características mejor adaptadas a sus fines. Durante el siglo XX, la mejora del trigo experimentó un gran avance y se desarrollaron las variedades modernas. Los genes de gliadinas, responsables de activar la EC no poseen valor adaptativo y, por lo tanto, se habría presentado un incremento en la toxicidad del trigo durante el proceso de domesticación, resultado de una selección inconsciente. Durante el proceso de especiación, aparentemente como consecuencia de duplicación del genoma, hubo un incremento en el número de genes de gliadinas. El trigo harinero, el centeno y *Ae. tauschii* poseen el mayor número de epítomos para la EC por gen, y parece que en trigo harinero este elevado número de epítomos se explica mediante el genoma D procedente de *Ae. tauschii*. El número de epítomos para la EC por gen no se elevó durante los procesos de domesticación y mejora e, incluso, disminuyó en algunos casos. Esta gran variación en la cantidad de péptidos estimuladores de células T CD4 entre líneas de trigo diploides, tetraploides y hexaploides es una valiosa fuente potencial de variabilidad genética para introducir una menor toxicidad en relación con la EC como un nuevo carácter de selección en los programas de mejora de estos cereales.

Reconocimientos

Hacemos reconocimiento del apoyo financiero del Ministerio Español de Economía y Competitividad (Proyectos AGL2013-48946-C3-1-R, AGL2016-80566-P), y del Fondo Europeo para el Desarrollo Regional (FEDER) y la Junta de Andalucía (Proyecto P11-AGR-7920). Javier Gil-Humanes agradece a la Fundación Alfonso Martín Escudero por facilitarle fondos para su programa postdoctoral.

Referencias

1. Richards MP. *A brief review of the archaeological evidence for Palaeolithic and Neolithic subsistence*. Eur J Clin Nutr. 2002; 56: 1270-78.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601646>
PMid:12494313
2. Greco L, Timpone L, Abkari A, Abu-Zekry M, Attard T, Bouguerra F et al. *Burden of celiac disease in the Mediterranean area*. World J Gastroenterol. 2011; 17: 4971-8.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v17.i45.4971>
PMid:22174546 PMCID:PMC3236588
3. Freeman HJ. *The Neolithic Revolution and Subsequent Emergence of the Celiac Affection*. Int J Celiac Dis. 2013; 1: 19-22.
4. Dicke WK, Weijers HA, Van de Kamer JH. *Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease*. Acta Paediatr. 1953; 42: 34-42.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.1953.tb05563.x>
PMid:13050382
5. Troncone R, Auricchio R, Granata V. *Issues related to gluten-free diet in coeliac disease*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008; 11: 329-33.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f795f8>
PMid:18403932
6. Sollid LM, Qiao S-W, Anderson RP, Gianfrani C, Koning F. *Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules*. Immunogenetics. 2012; 64: 455-60.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>
PMid:22322673 PMCID:PMC3349865
7. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R et al. *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54: 136-60.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
PMid:22197856
8. Kang JY, Kang AHY, Green A, Gwee KA, Ho KY. *Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time*. Aliment Pharmacol Ther. 2013; 38: 226-45.
<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12373>
PMid:23782240
9. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F et al. *Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease*. Gastroenterology. 2009; 137: 88-93.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.03.059>
PMid:19362553 PMCID:PMC2704247

10. Kasarda DD. *Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding?* J Agric and Food Chem. 2013; 61: 1155-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf305122s>
PMid:23311690 PMCID:PMC3573730
11. Salamini F, Ozkan H, Brandolini A, Schafer-Pregl R, Martin W. *Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east.* Nat Rev Genet. 2002; 3: 429-41.
PMid:12042770
12. Huang S, Sirikhachornkit A, Faris J, Su X, Gill B, Haselkorn R et al. *Phylogenetic analysis of the acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase loci in wheat and other grasses.* Plant Mol Biol. 2002; 48: 805-20.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1014868320552>
PMid:11999851
13. Marcussen T, Sandve SR, Heier L, Spannagl M, Pfeifer M, Jakobsen KS et al. *Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat.* Science. 2014; 345, 1250092.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1250092>
PMid:25035499
14. Zohary D, Hopf M, Weiss E. *Domestication of plants in the old world.* Oxford: Oxford Univ. Press. 2012.
15. Weiss E, Kislev ME, Hartmann A. *Anthropology. Autonomous cultivation before domestication.* Science. 2006; 312: 1608-10.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1127235>
PMid:16778044
16. Lev E, Kislev ME, Bar-Yosef O. *Mousterian vegetal food in Kebara Cave, Mt. Carmel.* J Archaeol Sci. 2005; 32: 475-84.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2004.11.006>
17. Nevo E. *Evolution of wild barley and barley improvement.* In: Zhang G, Chengdao L, Xu L (Eds.). *Advance in barley sciences: Proceedings of 11th International Barley Genetics Symposium.* Hangzhou: Zhejiang University Press-Springer. 2013; 1-16.
18. Clegg MT, Brown AHD, Whitfeld PR. *Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated barley - Implications for genetic conservation.* Genet Res. 1984; 43: 339-43.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0016672300026112>
19. Neale DB, Saghaimarouf MA, Allard RW, Zhang Q, Jorgensen RA. *Chloroplast DNA diversity in populations of wild and cultivated barley.* Genetics. 1988; 120: 1105-10.
20. Moore AMT, Hillman GC, Legge AJ. *Village on the Euphrates: From Foraging to Farming at Abu Hureyra.* Oxford: Oxford University Press. 2000.

21. Jaaska V. *On the Origin and In Statu Nascendi Domestication of Rye and Barley*. In: Damania AB, Valkoun J, Wilcox G, Qualset CO (Eds.). *The Origins of Agriculture and Crop Domestication*. Aleppo, Syria: ICARDA, IPGRI, FAO and UC/GRCP. 1998; 210-7.
22. Sencer HA, Hawkes JG. *On the origin of cultivated rye*. *Biol J Linn Soc*. 1980; 13: 299-313.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8312.1980.tb00089.x>
23. Zohary D, Hopf M. *Domestication of plants in the Old World*. Oxford, UK: Oxford Science Publications. 1988.
24. Dvořák J, McGuire PE, Cassidy B. *Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences*. *Genome*. 1988; 30: 680-9.
<http://dx.doi.org/10.1139/g88-115>
25. Dvořák J, Zhang HB. *Reconstruction of the phylogeny of the genus Triticum from variation in repeated nucleotide sequences*. *Theor Appl Genet*. 1992; 84: 419-29.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00229502>
 PMid:24203203
26. McFadden ES, Sears ER. *The origin of Triticum spelta and its free-threshing hexaploid relatives*. *J Hered*. 1946; 37: 81-7.
 PMid:20985728
27. Kerber ER, Rowland GG. *Origin of the free-threshing character in hexaploid wheat*. *Can J Genet Cytol*. 1974; 16: 145-54.
<http://dx.doi.org/10.1139/g74-014>
28. Feldman M. *Wheats*. In: Smartt J, Simmonds NW (Eds.). *Evolution of crop plants*. Harlow, UK: Longman Scientific and Technical. 1995.
29. Shewry PR, Halford NG. *Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization*. *J Exp Bot*. 2002; 53: 947-58.
<http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>
30. Mifflin BJ, Field JM, Shewry PR. *Cereal storage proteins and their effect on technological properties*. In: Daussant J, Mossé J, Vaughan J (Eds.). *Seed Proteins*. London, UK: Academic Press. Inc. 1983; 255-319.
31. Shewry PR, Parmar S, Field JM. *Two dimensional electrophoresis of cereal prolamins: applications to biochemical and genetic analyses*. *Electrophoresis*. 1988; 9: 727-37.
<http://dx.doi.org/10.1002/elps.1150091108>
 PMid:3250875
32. Payne PI, Holt LM, Jackson EA, Law CN. *Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding*. *Phil Trans R Soc Lond B*. 1984; 304: 359-71.
<http://dx.doi.org/10.1098/rstb.1984.0031>

33. Payne PI. Genetics of wheat storage proteins and the effects of allelic variation on bread-making quality. *Annu Rev Plant Physiol.* 1987; 38: 141-53.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001041>
34. Liu CY. Identification of a new low *Mr* glutenin subunit locus on chromosome 1B of durum wheat. *J Cereal Sci.* 1995; 21: 209-13.
[http://dx.doi.org/10.1016/0733-5210\(95\)90037-3](http://dx.doi.org/10.1016/0733-5210(95)90037-3)
35. Metakovsky EV, Novoselskaya AY, Kopus MM, Sobko TA, Sozinov AA. Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theo Appl Genet.* 1984. 67: 559-68.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00264904>
PMid:24258847
36. McIntosh RA, Yamazaki Y, Dubcovsky J, Rogers WJ, Morris C, Appels R et al. *Catalogue of gene symbols for wheat.* 2013.
<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/2013/GeneSymbol.pdf>
37. Wieser H. Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *Eur Food Res Technol.* 2000; 211: 262-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002170000165>
38. Shewry PR, Tatham AS. *The characteristics, structures and evolutionary relationships of prolamins.* In: *Shewry PR, Casey R (Eds.). Seed Proteins.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 1999; 11e33.
39. Shewry PR, Tatham AS. *The prolamins storage proteins of cereal seeds: structure and evolution.* *Biochem J.* 1990; 267: 1-12.
PMid:2183790 PMCID:PMC1131235
40. Heidecker G, Messing J. *Structural analysis of plant genes.* *Annu Rev Plant Physiol.* 1986; 37: 439-66.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pp.37.060186.002255>
41. Pelger S, Säll T, Bengtsson BO. Evolution of hordein gene organization in three *Hordeum* species. *Hereditas.* 1993; 119: 219-31.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1993.00219.x>
42. Shewry PR, Napier JA, Tatham AS. *Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis.* *Plant Cell.* 1995; 7: 945-56.
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.7.7.945>
PMid:7640527 PMCID:PMC160892
43. Wieser H, Koehler P. *Is the calculation of the gluten content by multiplying the prolamins content by a factor of 2 valid?* *Eur Food Res Technol.* 2009; 229: 9-13.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1020-5>

44. Harlan JR. *The early history of wheat: earliest traces to the sack of Rome*. In: Evans LT, Peacock WJ (Eds.). *Wheat science: today and tomorrow*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1981; 1-29. PMID:7213279
45. Kemp BJ. *Ancient Egypt: anatomy of a civilization*. 2nd ed. London, UK: Routledge. 2005. <http://dx.doi.org/10.4324/9780203468821>
46. Matz SA. *Bakery technology and engineering*. Westport CT, USA: AVI Publishers Company Inc. 1960.
47. Frankel OH. Genetic conservation in perspective. In: Frankel OH, Bennett E (Eds.). *Genetic resources in plants: their exploration and conservation*. Oxford and Edinburgh: UK Blackwell Publishers. 1970; 469-89.
48. Frankel OH, Hawkes JG. *Genetic resources: the past ten years and the next*. In: Frankel OH, Hawkes JG (Eds.). *Crop genetic resources for today and tomorrow*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1975; 1-11.
49. Borojevic K, Borojevic K. *The transfer and history of "Reduced Height Genes" (Rht) in wheat from Japan to Europe*. *J Hered*. 2005; 96: 455-9. <http://dx.doi.org/10.1093/jhered/esi060> PMID:15829727
50. Arentz-Hansen H, Mcadam SN, Molberg Ø, Fleckenstein B, Lundin KE, Jorgensen TJ et al. *Celiac lesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in proline residues*. *Gastroenterology*. 2002; 123: 803-9. <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.35381> PMID:12198706
51. Spaenij-Dekking L. *Natural variation in toxicity of wheat: Potential for selection of nontoxic varieties for celiac disease patients*. *Gastroenterology*. 2005; 129: 797-806. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.06.017> PMID:16143119
52. van den Broeck H, Chen HB, Lacaze X, Dusautoir JC, Gilissen L, Smulders M et al. *In search of tetraploid wheat accessions reduced in celiac disease-related gluten epitopes*. *Mol Biosyst*. 2010; 6: 2206-13. <http://dx.doi.org/10.1039/c0mb00046a> PMID:20714643
53. van den Broeck HC, de Jong HC, Salentijn EMJ, Dekking L, Bosch D, Hamer RJ et al. *Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease*. *Theor Appl Genet*. 2010; 121: 1527-39. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-010-1408-4> PMID:20664999 PMCID:PMC2963738

54. Molberg Ø, Uhlen AK, Jensen T, Flæte NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H et al. *Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: Implications for celiac disease*. *Gastroenterology*. 2005; 128: 393-401.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.003>
PMid:15685550
55. Chidzanga C. *Analysing the Celiac Disease toxicity in transcribed α -gliadin genes of *Aegilops tauschii* genotypes using deep RNA-amplicon sequencing*. MSc Thesis. Wageningen University. 2012.
56. Tanner GJ, Howitt CA, Forrester RI, Campbell PM, Tye-Din JA et al. *Dissecting the T-cell response to hordeins in coeliac disease can develop barley with reduced immunotoxicity*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 32: 1184-91.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04452.x>
PMid:21039679
57. Spaenij-Dekking EH, Kooy-Winkelaar EM, Nieuwenhuizen WF, Drijfhout JW, Koning F. *A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of alpha/beta- and g-gliadin*. *Gut*. 2004; 53: 1267-73.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.037952>
PMid:15306583 PMCID:PMC1774189
58. Zohary D. *Unconscious selection and the evolution of domesticated Plants*. *Econ Bot*. 2004; 58: 5-10.
[http://dx.doi.org/10.1663/0013-0001\(2004\)058\[0005:USATEO\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1663/0013-0001(2004)058[0005:USATEO]2.0.CO;2)
59. Peng JH, Sun D, Nevo E. *Domestication evolution, genetics and genomics in wheat*. *Mol Breed*. 2011. 28: 281-301.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11032-011-9608-4>
60. Zhang L-Y, Liu D-C, Guo X-L, Yang W-L, Sun J-Z, Wang D-W et al. *Genomic distribution of quantitative trait loci for yield and yield-related traits in common wheat*. *J Integr Plant Biol*. 2010; 52: 996-1007.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00967.x>
PMid:20977657
61. Erayman M, Sandhu D, Sidhu D, Dilbirligi M, Baenziger PS, Gill KS. *Demarcating the gene-rich regions of the wheat genome*. *Nucleic Acids Res*. 2004; 32: 3546-65.
<http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkh639>
PMid:15240829 PMCID:PMC484162
62. Dilbirligi M, Erayman M, Sandhu D, Sidhu D, Gill KS. *Identification of Wheat Chromosomal Regions Containing Expressed Resistance Genes*. *Genetics*. 2004; 166: 461-81.
<http://dx.doi.org/10.1534/genetics.166.1.461>
PMid:15020436 PMCID:PMC1470719

63. Anderson OD, Litts JC, Greene FC. *The a-gliadin gene family. I. Characterization of ten new wheat a-gliadin genomic clones, evidence for limited sequence conservation of flanking DNA, and Southern analysis of the gene family.* Theor Appl Genet. 1997; 95: 50-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s001220050531>
64. Lafandra D, Kasarda DD, Morris R. *Chromosomal assignment of genes coding for the wheat gliadin protein components of the cultivars "Cheyenne" and "Chinese Spring" by two-dimensional (two-pH) electrophoresis.* Theor Appl Genet. 1984; 68: 531-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00285007>
PMid:24257826
65. Anderson OD, Huo N, Gu YQ. *The gene space in wheat: the complete g-gliadin gene family from the wheat cultivar Chinese Spring.* Funct Integr Genomics. 2013. 13: 261-73.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10142-013-0321-8>
PMid:23564033
66. Sabelli PA, Shewry PR. *Characterization and organization of gene families at the Gli-1 loci of bread and durum wheats by restriction fragment analysis.* Theor Appl Genet. 1991; 83: 209-16.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00226253>
PMid:24202360
67. Anderson OD, Gu YQ, Kong X, Lazo GR, Wu J. *The wheat ω-gliadin genes: structure and EST analysis.* Funct Integr Genomics. 2009; 9: 397-410.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10142-009-0122-2>
PMid:19367421 PMCID:PMC2700870
68. Herpen TW van, Goryunova SV, Schoot J van der, Mitreva M, Salentijn E, Vorst O et al. *Alpha-gliadin genes from the A, B, and D genomes of wheat contain different sets of celiac disease epitopes.* BMC Genomics. 2006; 7(1): 1.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-7-1>
PMid:16403227 PMCID:PMC1368968
69. Pizzuti D, Buda A, D'Odorico A, D'Inca R, Chiarelli S, Curioni A et al. *Lack of intestinal mucosal toxicity of Triticum monococcum in celiac disease patients.* Scand J Gastroenterol. 2006. 41: 1305-11.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365520600699983>
PMid:17060124
70. Vaccino P, Becker H-A, Brandolini A, Salamini F, Kilian B. *A catalogue of Triticum monococcum genes encoding toxic and immunogenic peptides for celiac disease patients.* Mol Genet Genomics. 2009; 281: 289-300.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00438-008-0412-8>
PMid:19104838 PMCID:PMC2757618

71. Mitea C, Salentijn EMJ, van Veelen P, Goryunova SV, van der Meer IM, van den Broeck HC et al. *A Universal Approach to Eliminate Antigenic Properties of Alpha-Gliadin Peptides in Celiac Disease*. PLoS ONE. 2010; 5(12).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015637>
PMid:21179575 PMCID:PMC3002971
72. Salentijn EM, Mitea DC, Goryunova SV, Meer IM van der, Padioleau I, Gilissen LJ et al. *Celiac disease T-cell epitopes from gamma-gliadins: immunoreactivity depends on the genome of origin, transcript frequency, and flanking protein variation*. BMC Genomics. 2012; 13(1): 277.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-277>
PMid:22726570 PMCID:PMC3469346
73. Gianfrani C, Maglio M, Aufiero VR, Camarca A, Vocca I, Iaquinto G et al. *Immunogenicity of monococum wheat in celiac patients*. Am J Clin Nutr. 2012; 96: 1339-45.
<http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.112.040485>
PMid:23134879
74. Šuligoj T, Gregorini A, Colomba M, Ellis HJ, Ciclitira PJ. *Evaluation of the safety of ancient strains of wheat in coeliac disease reveals heterogeneous small intestinal T cell responses suggestive of coeliac toxicity*. Clin Nutr. 2013; 32: 1043-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2013.02.003>
PMid:23465776
75. Gregorini A, Colomba M, Ellis HJ, Ciclitira PJ. *Immunogenicity Characterization of Two Ancient Wheat a-Gliadin Peptides Related to Coeliac Disease*. Nutrients. 2009; 1: 276-90.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu1020276>
PMid:22253984 PMCID:PMC3257593
76. Salentijn EM, Goryunova SV, Bas N, van der Meer IM, van den Broeck HC, Bastien T et al. *Tetraploid and hexaploid wheat varieties reveal large differences in expression of alpha-gliadins from homoeologous Gli-2 loci*. BMC Genomics. 2009; 10(1): 48.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-10-48>
PMid:19171027 PMCID:PMC2636828
77. Xie Z, Wang C, Wang K, Wang S, Li X, Zhang Z et al. *Molecular characterization of the celiac disease epitope domains in a-gliadin genes in Aegilops tauschii and hexaploid wheats (Triticum aestivum L.)*. Theor Appl Genet. 2010; 121: 1239-51.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00122-010-1384-8>
PMid:20556595
78. Carroccio A, Di Prima L, Noto D, Fayer F, Ambrosiano G, Villanacci V et al. *Searching for wheat plants with low toxicity in celiac disease: Between direct toxicity and immunologic activation*. Dig Liver Dis. 2011; 43: 34-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2010.05.005>
Pmid:20554485

CAPÍTULO 16

HERRAMIENTAS ANALÍTICAS PARA LA DETECCIÓN DE GLUTEN. POLÍTICAS Y REGULACIÓN.

M^a. Carmen Mena¹, Carolina Sousa²

¹Servicio de Proteómica y Unidad de Gluten. Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, España.

²Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

mcmena@cnb.csic.es csoumar@us.es

Cómo citar este capítulo:

Mena, MC, Sousa C. *Herramientas Analíticas para la Detección de Gluten. Políticas y Regulación*. En: Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las proteínas del gluten son una mezcla de dos grupos de proteínas denominadas prolaminas y glutelinas. Muchas de estas proteínas son resistentes a las enzimas digestivas y por lo tanto, tras la ingestión de alimentos que contienen gluten, se pueden generar péptidos potencialmente tóxicos para la mucosa del intestino delgado en los individuos predispuestos a padecer esta enfermedad. El único tratamiento efectivo para esta patología es evitar, de por vida, la ingesta de alimentos que contienen gluten. Teniendo en cuenta la elevada prevalencia de la enfermedad, es imprescindible contar con métodos fiables para determinar la presencia de gluten y asegurar que los alimentos etiquetados como “sin gluten” sean seguros para las personas celíacas. Varios factores podrían afectar a los resultados del análisis de gluten, tal como modificaciones de las proteínas producidas durante la elaboración de alimentos, interferencia de la mezcla de ingredientes y la utilización de un estándar apropiado para el análisis del gluten. Existen diferentes técnicas disponibles para el análisis de gluten en alimentos. Las más ampliamente utilizadas se basan en técnicas inmunológicas clásicas, que utilizan diferentes anticuerpos, principalmente pruebas inmuno-enzimáticas, western blot y dispositivos de flujo lateral. Adicionalmente, las tecnologías de biosensores pueden aplicarse al análisis del gluten. En lo referente a las herramientas no inmunológicas, las más útiles son las proteómicas y las basadas en PCR cuantitativa en tiempo real. En la mayoría de los países, las regulaciones sobre la composición y etiquetado de alimentos aptos para personas intolerantes al gluten, indican que los valores limítrofes para alimentos “sin gluten” y alimentos “especialmente procesados para reducir el contenido de gluten” son de 20 y 100 mg/Kg de gluten, respectivamente. Por lo tanto, cualquier técnica utilizada, debe tener por lo menos la sensibilidad necesaria para funcionar en este límite inferior.

Palabras clave

Alimentos sin gluten, ELISA, prolaminas, glutelinas

1. Introducción

Las proteínas del gluten son una mezcla extremadamente polimórfica de dos grupos diferentes de proteínas denominadas prolaminas y glutelinas, que se encuentran presentes como monómeros, o como oligómeros y polímeros, unidos por puentes de disulfuro. Estas proteínas poseen un alto contenido en prolina, lo que les otorga resistencia ante la acción de las proteasas gastrointestinales. Por lo tanto, lo que no pueden ser totalmente digeridas y permanecen como péptidos en el tracto digestivo sin sufrir una proteólisis total, a diferencia de la mayoría de proteínas de la dieta. Estos péptidos con un alto contenido en prolina y glutamina se acumulan en la luz intestinal y acceden a la lámina propia, bien por la vía paracelular debido a una permeabilidad aumentada, o bien por la vía transcelular mediante endocitosis. En cualquier caso, una vez en la lámina propia, estos péptidos derivados del gluten inducen una respuesta inmune innata y adaptativa.

Tradicionalmente, solo las prolaminas fueron consideradas inmunotóxicas en adultos; no obstante, en niños y en ciertos adultos, se ha comprobado una respuesta inmune frente a las glutelinas. Las prolaminas constituyen el principal tipo de proteínas de almacenamiento presentes en el trigo, el centeno, la cebada y la avena, tienen como función almacenar nitrógeno, carbono y azufre en el endospermo del grano. Pertenecen a la superfamilia de prolaminas, junto con varios alérgenos de alimentos de origen vegetal, tales como las albúminas 2S, proteínas de transferencia de lípidos no específicas y varios inhibidores de la alfa-amilasa/tripsina en cereales^{1,2}. Osborne fue el primero en sugerir el nombre “prolaminas” para describir este grupo de proteínas de cereales, dado su elevado contenido en prolina y nitrógeno amídico³. También caracterizó las prolaminas del cereal, como fácilmente solubles en alcohol etílico relativamente fuerte, insolubles en alcohol absoluto, ligeramente solubles en agua y fácilmente solubles en ácidos y bases muy diluidas³.

Las prolaminas son diferentes de otras proteínas, debido a su elevado contenido en los aminoácidos prolina (Pro o P) y glutamina (Gln o Q), los cuales representan un 15 y 35% de las proteínas de gluten, respectivamente⁴. Una característica especial de la prolina es su capacidad de realizar giros β . Estos giros forman una hélice más cerrada que una hélice α , y de esta manera, permiten que las proteínas sean almacenadas más eficientemente en un espacio reducido. Esto es conveniente para el almacenamiento de los aminoácidos vitales de la planta, pero dificulta que las enzimas hidrolízen las prolaminas. Como consecuencia, estas proteínas no se degradan por completo por las proteasas gástricas y pancreáticas presentes en el tracto gastrointestinal. Algunos péptidos parcialmente hidrolizados pueden entrar en el epitelio intestinal y tienen acceso a la lámina propia mediante un mecanismo desconocido, causando daño en los pacientes celíacos. Los residuos de glutamina de estos péptidos son deamidados por la enzima transglutaminasa tisular (tTG), transformándolas en ácido glutámico, incrementando el potencial inmunoestimulador de los péptidos, ya que su carga negativa mejora la unión del péptido a los receptores DQ2 o DQ8 de las células presentadoras de antígeno, lo que genera una respuesta por parte de las células T CD4+ y origina el daño a las vellosidades de la mucosa intestinal. No obstante, esta enfermedad no afecta solamente al intestino, ya que es una enfermedad sistémica que puede provocar síntomas extra-digestivos, con lesiones a diversos niveles como la piel, hígado, articulaciones, cerebro, corazón y otros órganos.

Las proteínas del gluten pueden clasificarse de diferentes maneras, considerando sus características y especies en las que están presentes. El trigo, la cebada y el centeno contienen prolaminas activas en celíacos, mientras que el maíz, el arroz, el mijo y el sorgo, carecen de ellas. La avena contiene bajas cantidades de avenina, un tipo de prolamina. Está descrito que la ingesta de derivados de cultivos de trigo, centeno, cebada y algunos de avena activan la enfermedad celíaca, mientras que el maíz, arroz y alforfón, no provocan esta enfermedad.

Las prolaminas pueden dividirse en grupos, con base en su contenido en azufre, su tamaño y homologías de secuencias⁵. Shewry y Tatham dividieron las prolaminas basándose en su contenido de azufre, en prolaminas S-pobres, S-ricas y de alto peso molecular. Wieser⁶ por su lado, dividió las prolaminas en tres grupos con base en su tamaño: Alto peso molecular (HMW, 80.000-120.000 Da), peso molecular medio (MMW, 52.000-80.000 Da) y bajo peso molecular (LMW, 30.000-52.000 Da). El grupo de alto peso molecular consiste en subunidades de trigo de glutenina, secalinas y D-hordeínas, de alto peso molecular. El grupo de peso molecular medio lo conforman gliadinas y secalinas tipo omega y C-hordeínas. El grupo de bajo peso molecular consiste en alfa/beta gliadinas y gamma gliadinas, gamma secalinas (gamma 40 monomérica y gamma 75 polimérica), gamma hordeínas, gluteninas de bajo peso molecular y B-hordeínas.

Las proteínas de almacenamiento de la avena difieren de las del trigo, cebada y centeno. Las aveninas son proteínas monoméricas y poliméricas y pueden dividirse en diferentes grupos, basados en sus pesos moleculares. Los pesos moleculares de las alfa-aveninas son de alrededor de 12.000-18.000 Da y los de las gamma-aveninas, de alrededor 22.000-35.000 Da. Las de alto y bajo peso molecular son similares a las subunidades de gluteninas de bajo peso molecular del trigo^{7,8} (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los tipos de proteínas de almacenamiento del trigo, la cebada, el centeno y la avena.

Grupo	Trigo	Cebada	Centeno	Avena	Tipo
Prolaminas	Alfa/beta gliadinas	Gamma hordeínas	Gamma 40k secalinas	Alfa aveninas	Monomérica
	Gamma gliadinas	C hordeínas	Omega secalinas	Gamma aveninas	
	Omega gliadinas	B hordeínas			

Glutelinas	Gluteninas de alto peso molecular	D hordeínas	Gamma 75k secalinas	Aveninas de bajo peso molecular	Polimérica
	Gluteninas de bajo peso molecular		Secalinas de alto peso molecular		

El cálculo de contenido de gluten se lleva a cabo, por lo general, bajo la suposición de una proporción 1/1 entre gliadinas y gluteninas ya que, tradicionalmente, las proteínas de gluten han sido divididas en dos fracciones aproximadamente iguales, de acuerdo con su solubilidad en soluciones alcohol-agua: Gliadinas solubles y gluteninas insolubles. No obstante, algunos estudios han encontrado leves diferencias en la proporción entre prolaminas y glutelinas, lo que sugiere que sería más correcto emplear una razón de alrededor de 65/35, principalmente para cebada y centeno, dependiendo de la variedad y especie del cereal⁹.

La EC entra en remisión cuando los pacientes siguen una dieta de exclusión del gluten y vuelven a recaer, cuando se reintroduce el gluten en su dieta^{10,11}. El cumplimiento de una dieta sin gluten (DSG) es difícil y afecta la calidad de vida de los pacientes. Una dieta estricta es crítica para reducir tanto la morbilidad como la mortalidad¹². No obstante, ello genera numerosas repercusiones sociales y económicas. No es fácil mantener una dieta con cero contenido en gluten ya que la contaminación cruzada de gluten en la comida suele ser frecuente. Aún los productos específicamente dirigidos al tratamiento dietético de la EC pueden contener pequeñas cantidades de proteínas de gluten, bien sea debido a la contaminación cruzada de alimentos originalmente sin gluten durante la elaboración, como a su almacenaje o manipulación, o debido a la presencia de almidón de trigo como ingrediente principal. Por lo tanto, se necesitan métodos estandarizados de análisis, para poder determinar cuantitativamente el contenido de gluten de los alimentos y fundamentar bien las regulaciones sobre la utilización del término “libre de gluten” en el etiquetado de alimentos.

2. Herramientas analíticas para el análisis de gluten

2.1. Factores que afectan el análisis de gluten

2.1.1. Modificaciones de las proteínas durante la elaboración de alimentos

Las proteínas alimentarias se modifican durante la elaboración de alimentos, mediante diferentes procesos para mejorar su funcionalidad y su uso en diferentes aplicaciones por la industria alimentaria. Estas modificaciones incluyen, principalmente, deamidación, transamidación y degradación mediante diferentes tipos de hidrólisis. Todas estas modificaciones pueden también ocurrir naturalmente debido a la presencia de enzimas en semillas de cereales, liberadas cuando las células se descomponen durante su procesamiento. La hidrólisis puede disminuir la toxicidad

del gluten¹³, pero esta fragmentación de péptidos puede dificultar también el análisis de gluten en estos alimentos¹⁴. La deamidación de proteínas de gluten disminuye la afinidad y reconocimiento de proteínas y péptidos de gluten por parte de anticuerpos, lo que puede conducir a una subestimación cuando se utilizan inmunoensayos para cuantificar el contenido de gluten en los alimentos¹⁵. Durante el procesamiento de algunos alimentos, las proteínas son tratadas a altas temperaturas en un estado seco y a un pH neutro, formando uniones de isopéptidos entre residuos de lisina, asparagina y glutamina. Además, el tratamiento con calor, empleado en la elaboración de productos cocinados y horneados, conduce a la formación de agregados de proteínas en una matriz insoluble que dificulta aún más el análisis. Por lo tanto, es necesario utilizar un sistema de extracción que permita la recuperación completa de prolaminas y glutelinas. La así denominada solución de extracción “cocktail”, combina agentes reductores y disgregantes para extraer completamente las proteínas del gluten, lo que contribuye a la ruptura de los agregados de proteína¹⁶. No obstante, no es compatible con algunas técnicas utilizadas para el análisis del gluten, como el ELISA Competitivo, ya que el compuesto beta-mercapto-etanol incluido en la solución interfiere con la unión específica de anticuerpos. Para resolver este problema, se desarrolló otra solución de extracción llamada UPEX (*Universal prolamin and glutelin extractant solution*, “solución extractora universal de prolaminas y glutelinas”), que permite una extracción completa y es compatible con todos los procedimientos de análisis de gluten¹⁴. Esta solución incluye el agente reductor inodoro Tris (2-carboxietil)- fosfina clorhidrato (TCEP), que es más específico para romper los puentes disulfuro, así como menos tóxico que otros agentes reductores usados habitualmente¹⁷ y el agente disgregante N-Laurilsarcosina, ampliamente utilizado en la lisis de células de plantas, que contribuye a abrir cadenas de polipéptidos y es aún más eficiente que el clorhidrato de guanidina (patente WO 2011/07039 A2).

Recientemente se ha descrito una novedosa solución universal para la extracción del gluten (UGES, *Biomedal Diagnostics*, Sevilla, España). Los componentes de esta solución para la extracción del gluten son un agente solubilizante (arginina) y un agente antiséptico en una solución alcohólica (patente WO 201231612). El procedimiento UGES, proporciona una elevada eficiencia de extracción para matrices simples y complejas, aun cuando hayan sido procesadas previamente mediante el calor.

2.2.2. Interferencia de ingredientes

Existen ciertos alimentos cuyos ingredientes pueden interferir con el análisis, resultando en valores menores o mayores que el verdadero contenido de gluten. Por ejemplo, en el caso del chocolate y otros alimentos que contienen taninos, cuando se analiza una muestra a la que previamente se ha adicionado un valor conocido de gluten la recuperación observada es más baja de lo esperado. Los taninos son polifenoles de origen vegetal, que se unen y precipitan proteínas (como las gliadinas) y producen grandes complejos tánicos de ácido-proteína; de este modo interfieren con la determinación del contenido de gluten en alimentos. Además de las gliadinas, hay otras proteínas que también son susceptibles de unirse con polifenoles. Para resolver este problema, debe aplicarse un procedimiento de extracción modificado que combina la solución UPEX con gelatina de pescado

y polivinilpirrolidona (PVP). Este protocolo modificado debería aplicarse de forma rutinaria, al menos al analizar alimentos que contienen ingredientes desconocidos¹⁴.

Otras proteínas pueden interferir con el análisis, pudiendo resultar en una sobrestimación del contenido de gluten. Este fenómeno se observa cuando se analiza gluten en alimentos basados en soja, tales como bebidas de soja, tras la extracción con 60% etanol. No obstante, cuando se utiliza la solución UPEX para la extracción de proteínas de gluten, los componentes interferentes no permanecen en la solución y no hay sobrestimación. Ya que tales interferencias no han sido observadas en el principal ingrediente de las bebidas de soja (granos de soja), se ha sugerido que el procesamiento de dichos granos para elaborar bebidas de soja podría provocar cambios en la solubilidad de estas proteínas lo que las lleva a permanecer en suspensión en 60% etanol, pero no en UPEX/60% etanol¹⁴.

2.1.3. Estándares para análisis de gluten

Otro punto crítico en el análisis de gluten es el uso de un estándar correcto que sea representativo para analizar este tipo de proteínas, en cualquier tipo de alimentos. El estándar de gliadina elaborado por el *Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity* (“Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de Prolaminas”, PWG) es el más utilizado internacionalmente para el análisis de gluten en alimentos. La preparación del estándar PWG se realizó como parte de un proyecto multi-céntrico, cuyo objetivo fue producir un estándar de referencia internacional que podría permitir la validación de resultados cuantitativos obtenidos utilizando diferentes métodos. Este estándar ha sido obtenido a partir de una mezcla de 28 cultivos de trigo, representativos de los países europeos productores de trigo¹⁸. Se siguió un protocolo convencional para la extracción de prolaminas con algunas modificaciones, con el fin de obtener una gran cantidad con pocos contaminantes. El material que se obtuvo se caracterizó con la metodología disponible, que ofrecía la mayor información posible acerca del mismo (RP-HPLC, electroforesis en gel de poli(acrilamida), electroforesis capilar, MALDI-TOF MS e inmunoensayos). Su estabilidad y solubilidad también fueron evaluadas. De este modo, se obtuvo un material muy estable y completamente soluble, que ha sido extensamente caracterizado y puede ser utilizado como material de referencia¹⁹.

No obstante, los cereales contienen un mayor número de tipos de proteínas que las presentes en el estándar PWG. Algunos investigadores han sugerido que sería más apropiado utilizar un estándar hidrolizado, para cuantificar péptidos de gluten, que se pueden encontrar parcialmente hidrolizados en productos fermentados de trigo, centeno y cebada¹⁹. Los alimentos comerciales, por lo general, solo presentan una hidrólisis parcial de proteínas y cuando éstas han sido hidrolizadas en gran medida, habitualmente desaparece la toxicidad para los pacientes celíacos. La comparación del estándar de gliadina PWG intacta con un estándar de gliadinas digeridas enzimáticamente demostró que las curvas resultantes fueron similares en cada caso cuando se empleaba un inmunoensayo de tipo competitivo y, por lo tanto, el estándar de gliadina PWG intacta puede utilizarse como un “patrón oro” más accesible, ya que es más difícil preparar un estándar hidrolizado repro-

ducible¹⁴.

No obstante, existen otras estrategias basadas en el uso de péptidos de gluten inmunotóxicos como estándar que están siendo desarrolladas para análisis de muestras, utilizando gluten hidrolizado. Este estándar presentó un elevado grado de repetibilidad, reproductibilidad y estabilidad. Los resultados obtenidos fueron correlacionados con la inmunotoxicidad relativa potencial del gluten^{20,21}.

2.2. Técnicas inmunológicas

Los métodos más utilizados para el análisis de gluten en alimentos, se basan en el análisis inmunológico. Estos métodos emplean anticuerpos que presentan afinidad frente a diferentes fracciones de prolaminas o secuencias específicas de proteínas de gluten. Se requiere que las pruebas es que sean capaces de medir las proteínas y péptidos dañinos independientemente del tipo de alimento o los procesos de elaboración²². Existen muchos kits comerciales basados en inmunoensayos, disponibles para la cuantificación de proteínas de gluten, incluyendo equipos de pruebas rápidas (formato de tipo dispositivos de flujo lateral).

2.2.1. Pruebas inmunoenzimáticas

Desde mediados de la década de 1980, se han desarrollado múltiples métodos inmunoquímicos de análisis de gluten. Los métodos iniciales fueron descritos por Howdle y Losowsky²⁴. Actualmente dos formatos de ELISA, sándwich y competitivo, son los métodos recomendados para el análisis del gluten en alimentos etiquetados “sin gluten”. El método sándwich se basa en dos anticuerpos. El primero es llamado anticuerpo de captura y el segundo, anticuerpo de detección. El anticuerpo de captura se inmoviliza en el fondo del pocillo de la microplaca y el anticuerpo de detección, se utiliza para reconocer los antígenos unidos al anticuerpo de captura. El anticuerpo de detección está unido previamente a un enzima como, por ejemplo, la peroxidasa de rábano picante (HRP) o la fosfatasa alcalina (AP). El propósito del enzima es inducir una reacción de color en la que participa un cromógeno, el cual puede medirse mediante métodos espectrofotométricos. Los anticuerpos de captura y de detección pueden ser iguales o diferentes. Para este tipo de análisis, la proteína que se pretende medir, presente en la muestra, debe tener al menos dos epítomos reconocidos para ambos anticuerpos. Por lo tanto, la técnica de sándwich no es apta para proteínas hidrolizadas.

El método competitivo se basa en la competencia entre las proteínas de la muestra a analizar y las proteínas estándar. Se utiliza un único anticuerpo, lo que también la hace apta para detectar pequeñas proteínas y péptidos hidrolizados que presentan un solo epítomo que sea reconocido por el anticuerpo. El ensayo de tipo sándwich presenta una mayor robustez al necesitar que dos epítomos del antígeno sean reconocidos por el anticuerpo, pero también la limitación de no poder usarse en alimentos hidrolizados. En el formato de ELISA de tipo competitivo, la intensidad del color que se produce en la reacción es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra. Existen muchos kits comerciales disponibles en el mercado de ELISA, sándwich y

competitivos (Tabla 2). No obstante, los resultados obtenidos con dichos kits a menudo no son comparables, ya que tienen como diana diferentes secuencias de péptidos de gluten y difieren en la especificidad de anticuerpos, condiciones de extracción y efectos de matriz²⁵⁻²⁷.

También se han desarrollado otros sistemas ELISA inmunológicos, basados en diferentes anticuerpos. McKillop y cols.²⁸ y Troncone y cols.²⁹ desarrollaron ELISAs basados en antisueros policlonales de conejo contra gliadina con límites de detección muy bajos. La prueba de McKillop no fue realizada con muestras sometidas a calor y la de Troncone reaccionó con proteínas de arroz y maíz que no son dañinas para pacientes celíacos. En 1988 Friis³⁰ también desarrolló un ELISA utilizando anticuerpos policlonales de conejos, pero este anticuerpo reconoció proteínas de alforfón. Otros anticuerpos fueron desplegados contra diferentes epítomos de prolaminas, como fue propuesto por Freedman y cols.³¹ y Chirido y cols.^{32,33}. También Ellis y cols.³⁴ desarrollaron un ELISA basado en el anticuerpo PN3 para los péptidos 19-mer tóxicos³⁵. Posteriormente se desarrolló un ELISA competitivo con el mismo anticuerpo³⁶. La prueba competitiva basada en PN3, detectó péptidos igualmente dañinos de trigo, cebada, centeno y avena. Ninguno de los métodos antes mencionados está disponible comercialmente.

Tabla 2. Pruebas inmuno-adsorbentes de enzimas para detección de gluten.

Nombre del anticuerpo	Tipo de anticuerpo*	Anticuerpo desplegado contra	Principal epítomo de reconocimiento	ELISA	LOD**	Referencia
-	pAb	α -gliadina Gliadina	-	Sándwich Competitivo	1-20 ng/ml***	-23
-	pAb	Gliadina	-	Sándwich	22 ng/ml	-28
-	pAb	Gliadina	-	Sándwich	5 ng/ml	-29
-	mAb	Gliadina	-	Sándwich	15 ng/ml	-31
-	pAb	Gliadina	-	Competitivo	13 ng/ml	-30
401/21	mAb	ω -Gliadina	-	Sándwich	100-150 ng/ml	-38
-	pAb	Gliadina	-	Competitivo	1 ng/ml	-33
13B4	mAb	Gliadina	-	Sándwich (12A1)	1 ng/ml	-34
12A1				Competitivo (13B4)		
				Competitivo (12A1)	20 ng/ml	
					5 ng/ml	

R5	mAb	Secalina	QQPFP	Sándwich	1.5 ng/ml	-46
				Competitivo	0.36 ng/ml	-14
PN3	mAb	19-mer	QQQFPF	Sándwich	4 ng/ml	-34
				Competitivo	128 ng/ml	-36
Gliaa-2/9	mAb	α -Gliadina	LQPFPQP	Competitivo	12 ng/ml	-42
Gliay-1		γ -Gliadina	QQQRPFI			
8D4	2 x mAb	Gliadina	QSFPPQQ	Sándwich	5 ng/ml	-40
7C6	1 x pAb		QQTFFQP			-41
			QPFRRPQ			
G12	mAb	33-mer	QPQLPY	Sándwich	0.6 ng/ml	-50
A1			QLPYPQP	Competitivo	0.4 ng/ml	-52
-	pAb	Gliadina	-	Sándwich	0.3 μ g/ml	Morinaga Institute of Biological Science Inc., Crystal Chem Inc.
-	-	-	-	Sándwich	5 μ g/ml	Neogen

Anticuerpo policlonal (pAb)*, *Anticuerpo monoclonal (mAb)*; *Límite de detección (LOD)*; ****Límite de cuantificación*.

2.2.1.1. Elisa ω -gliadina y otros

Skerrit y Hill^{37,38} desarrollaron un formato sándwich, aprobado como método oficial por la AOAC (*Association of Official Agricultural Chemists*, “Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales”) y fue utilizado durante muchos años en el análisis del gluten. Este método se basa en un anticuerpo que reconoce la fracción ω -gliadina que es estable al calor. Esta es una ventaja, ya que dicha fracción permanece inalterada, durante el procesamiento de la preparación de la comida. No obstante la desventaja del método consiste en que el contenido relativo diferente de la ω -gliadina entre especies de cereal genera considerable variación en el resultado cuantitativo^{2,39}. Además la fertilización puede ejercer un fuerte efecto sobre la composición proteínica del grano. Estos cambios en la composición proteica afectan los resultados del análisis inmunológico, especialmente al utilizar anticuerpos ω -específicos. Otra desventaja es que este método solo presenta una respuesta débil ante las hordeínas de cebada. Este método ya no se utiliza ; no obstante, aún puede obtenerse de diferentes compañías.

InmunoTech (Pardubice, República Checa) desarrolló un ELISA para la detección de gliadina, basado en dos anticuerpos monoclonales, frente a dos epítomos diferentes de gliadina, y un anticuerpo policlonal^{40,41}. Reconoce trigo, centeno y espelta con la misma eficacia, pero reconoce cebada

solo en un 20-30% de los casos.

Koning y cols. desarrollaron un método ELISA para la detección de α -gliadinas. Inicialmente, su grupo de investigación desarrolló varios anticuerpos contra epítomos estimuladores de células T. Los anticuerpos fueron obtenidos frente a péptidos sintéticos que presentaban epítomos estimuladores de células T en α -gliadina, γ -gliadina, glutenina LMW y glutenina HMW^{42,43}. Los anticuerpos fueron muy específicos para los epítomos frente a los que fueron obtenidos y fueron capaces de detectar epítomos homólogos en otros cereales (cebada, avena, trigo, centeno y triticale). No obstante, al continuar desarrollando el método, solo el anticuerpo frente a la α -gliadina fue seleccionado para inclusión en el ELISA final. Debido a ello, los resultados del método se expresan como contenidos de α -gliadina.

El método ELISA de *Morinaga Wheat Protein* ha sido validado en un estudio comparativo entre laboratorios, apoyado por el Ministerio Japonés de la Salud, Trabajo y Bienestar y está basado en el uso de un anticuerpo policlonal para la gliadina de trigo que detecta epítomos múltiples. El anticuerpo también presenta reacción cruzada con hordeínas y secalinas en menor grado que con el trigo y, por lo tanto, esta prueba subestima tanto el contenido de proteínas de cebada como el de centeno en los alimentos analizados ⁴⁴.

2.2.1.2. ELISA R5

El ELISA R5 sándwich es el formato de inmunoensayo de enzimas más utilizado en la detección de proteínas de gluten. Es altamente sensible y específico para proteínas de gluten y es especialmente útil para la cuantificación de este tipo de antígenos cuando su concentración es baja, cuando se encuentran en muestras con una elevada cantidad de otras proteínas diferentes a las de gluten, o en ambas circunstancias. Esta prueba se basa en el anticuerpo monoclonal R5 utilizando en la placa dos anticuerpos (anticuerpo R5 y el anticuerpo R5 conjugado) que se unen a diferentes sitios en el antígeno. El anticuerpo R5 reconoce epítomos descritos como tóxicos y otros potencialmente tóxicos para celíacos que se presentan repetidamente en prolaminas, principalmente QPFP, QQQP, PQQP, LQPFP, QQPYP, QLPYP, contenidos dichos epítomos en péptidos tóxicos para celíacos, tales como el péptido 33-mer, el péptido 26-mer y el péptido 25-mer, presentes todos ellos en gliadinas⁴⁵. Este ELISA tiene un límite de cuantificación de 1.56 partes por millón (ppm) de gliadinas y combinando con la solución de extracción denominada “cocktail de extracción”⁴⁶, es aceptado internacionalmente por la Comisión del Codex Alimentarius como el método más recomendable para determinar el contenido de gluten en alimentos designados como “sin gluten”⁴⁷. En alimentos hidrolizados, la cuantificación de gluten mediante ELISA R5 no resulta suficientemente precisa ya que se requieren dos epítomos intactos para cuantificar el contenido de gluten.

El ELISA R5 competitivo, basado también en el anticuerpo monoclonal R5, permite una cuantificación de la proteína de gluten más exacta, ya que detecta tanto gluten intacto como fragmentos del mismo, debido a que esta técnica utiliza un único anticuerpo. El sistema competitivo presenta

como ventaja añadida menor costo y mayor rapidez que el ELISA sándwich¹⁴. La Comisión del Códex Alimentarius indica que una modificación de la prueba R5 (ELISA competitivo) debe ser aplicada para la detección del gluten hidrolizado⁴⁷. La solución de extracción de cocktail no es compatible con esta técnica competitiva, pero la combinación del ELISA de tipo competitivo con la solución UPEX, descrita anteriormente, conduce a un análisis de gluten completo y preciso. Los límites de detección y cuantificación del ELISA R5 competitivo son 0.36 y 1.22 ng/ml de gliadinas respectivamente, siendo éstos menores en muestras líquidas (LOQ de 0.30 ppm en gliadinas). Recientemente, un estudio colaborativo, ha confirmado que dos sistemas de ELISA basados en el anticuerpo R5 pueden detectar gliadina en el rango inferior del límite de detección con buena reproducibilidad y repetibilidad²⁵.

2.2.1.3. ELISA G12 y A1

Un anticuerpo ideal para el análisis de gluten en alimentos debería no solo ser un indicador fiable de la presencia de prolaminas procedentes de especies de cereales conocidas por su toxicidad para pacientes celíacos sino que, además, debería reconocer las regiones intramoleculares específicas responsables de dicha toxicidad. No obstante, existen muchas regiones de esta naturaleza y aún no se ha identificado la totalidad de las mismas.

Avances recientes en el campo de la EC, plantean la importancia de actualizar el concepto de “detección del gluten” y cambiarlo por el de “inmunotoxicidad relativa potencial de gluten”, con el fin de controlar los alimentos de forma segura, antes de ser consumidos por el colectivo celíaco. Dos anticuerpos monoclonales, A1 y G12, fueron obtenidos frente al péptido inmunodominante 33-mer⁴⁸. Este péptido de la α -2-gliadina, es el principal contribuyente de la inmunotoxicidad del gluten⁴⁹. Estos anticuerpos no solo detectan el 33-mer, sino que son capaces de detectar los péptidos inmunogénicos del gluten (GIP, del inglés *Gluten Immunogenic Peptide*) que son los fragmentos del gluten que resisten a la digestión gastrointestinal y que son los principales responsables de la respuesta inmune de los pacientes celíacos. Los anticuerpos G12 y A1, son por lo tanto capaces de cuantificar el potencial tóxico del gluten en alimentos y materias primas destinadas al colectivo celíaco^{50,51}.

Un ELISA sándwich basado en la detección de anticuerpos G12 y A1, mediante una variedad de muestras, proporciona resultados muy prometedores para el análisis del gluten^{52,53}. Este método tiene un límite de detección de 0.6 mg/mL para prolaminas del trigo, cebada y centeno de. La reactividad de estos anticuerpos fue correlacionada con la inmunotoxicidad potencial de los granos dietéticos, de los que se extrajeron las proteínas proporcionando una explicación racional del por qué algunas variedades de cereal activan la respuesta inmunológica, lo que permite evitar su presencia en la dieta sin gluten .

Un método ELISA competitivo basado en el anticuerpo G12, también fue desarrollado para la detección de péptidos tóxicos del gluten en alimentos hidrolizados. Esta prueba es altamente sensible

y reproducible, con un límite de detección de 0.44 ppm de gliadina. El sistema ELISA mostró una elevada reproductibilidad y repetibilidad^{50,51}.

2.2.2 Western blot

La electroforesis en gel de una y dos dimensiones (SDS-PAGE y A-PAGE) ha sido utilizada por diferentes autores para caracterizar las proteínas de trigo, cebada, centeno y avena, procedentes de granos de diferentes especies^{7,54,55}. No obstante, estas técnicas no poseen la suficiente sensibilidad para detectar proteínas de gluten en alimentos, etiquetados como “sin gluten”. Las técnicas de western blot permiten un análisis cualitativo o semicuantitativo de estas proteínas y, por lo tanto, son muy útiles para la confirmación del contenido de gluten en alimentos, contribuyendo a clarificar si existen resultados falsos positivos o negativos. Las proteínas separadas en SDS-PAGE unidimensional son electro-transferidas a una membrana de difluoruro de polivinilideno, donde las proteínas son adsorbidas. Posteriormente se agrega un anticuerpo específico, como el R5¹⁶, el G12 o A1^{51,53} o el alfa-20, anti células T de gliadina⁵⁶.

2.2.3. Dispositivos de flujo lateral y varillas graduadas

Los dispositivos de flujo lateral (LFD) se utilizan para determinar la concentración de gluten en un producto alimenticio cualitativa o semicuantitativamente. Hay dispositivos de LF y varillas graduadas para detección cualitativa rápida y sensible de gluten⁵⁷. Los LFD son lo que habitualmente se conocen como pruebas de “varillas graduadas”. La mayoría emplea metodologías de tipo sándwich. Utilizan una línea de anticuerpos fijados sobre una tira en la superficie y un segundo anticuerpo conjugado con partículas coloreadas de tamaño nanométrico. Cuando se aplica un extracto de muestra líquida a la tira, el conjugado y la muestra empiezan a migrar juntos a través de la superficie de la tira. Si el extracto de muestra tiene proteínas o compuesto presente (gluten), el conjugado puede reconocer su epítipo (sitio de unión) y se unirán en las condiciones correctas. Cuando se hallan “enganchados” al entrar en contacto con la línea de anticuerpos fijos a la tira, estos anticuerpos también ligarán con la proteína, formando un complejo de sándwich “emparedando” a la proteína (gluten) entre ambos anticuerpos. Al empezar a acumularse el complejo conjugado sobre la superficie de la tira, las nanométricas empiezan a hacerse visibles.

2.2.4. Biosensores

Se han desarrollado un número de biosensores para detectar contaminación de gliadina en alimentos sin gluten, pero aún no están disponibles comercialmente. Se han descrito dos biosensores electroquímicos^{58,59}. Uno utiliza un anticuerpo desplegado contra el epítipo inmunodominante de gliadina con un LOD de 5.5 µg/L. El segundo se basa en la adsorción de fragmentos Fab de anti-gliadina sobre superficies de oro. El LOD para gliadina fue evaluado mediante impedancia

(LOD=0.42 mg/L) y amperimetría (LOD=3.29 µg/L).

Un biosensor de microbalance de cristal de cuarzo, que incorpora nanopartículas de oro, fue capaz de detectar gliadina con un LOD de 8 µg/Kg⁶⁰. Otro biosensor utilizó cuentas inmunomagnéticas, conjugadas con anticuerpos anti-gliadina y nanovesículas inmunoliposómicas cargadas con tinción fluorescente (IMLNs) para formar un sandwich⁶¹, el LOD para gliadina fue 0.6 mg/L.

Recientemente, Amaya-González y cols.⁶² han descrito una prueba de enzimas competitiva, electroquímica sobre partículas magnéticas, lo que permite una medición tan precisa como 0.5 ppb del estándar de gliadina.

2.3. Técnicas no inmunológicas

El análisis cuantitativo de prolaminas se basa principalmente en métodos inmunológicos, aunque también se pueden emplear técnicas espectrométricas y cromatográficas^{63,64}. En alimentos no procesados, las técnicas de PCR han tenido un papel interesante para confirmar la presencia de gluten, mediante la detección de ADN. El uso de sistemas no inmunológicos complementarios y alternativos, para confirmar los resultados de los métodos inmunológicos, son esenciales para la validación de métodos y evitar resultados falsos negativos o positivos.

2.3.1. Técnicas proteómicas

La aplicación de técnicas proteómicas al análisis de gluten en alimentos es de gran interés para complementar otras técnicas y obtener la máxima precisión en los resultados. Existen varios estudios que utilizan este tipo de técnicas para la caracterización de proteínas de gluten en granos de cereales para confirmar e incrementar la calidad de la harina⁶⁵⁻⁶⁹. No obstante, en alimentos sin gluten el amplio rango dinámico de las proteínas de gluten (una baja cantidad respecto a otras proteínas principales), representa un problema importante en el análisis⁷⁰.

Los métodos de espectrometría de masas (MS) poseen una elevada sensibilidad y se utilizan actualmente para la identificación, caracterización y cuantificación de proteínas y péptidos. Dependiendo de las diferencias en el método de ionización, separación y detección, existen varias técnicas de MS con diferentes aplicaciones. La MS tipo MALDI-TOF fue la primera técnica utilizada para identificar prolaminas tóxicas y su papel en la enfermedad celíaca y poder observar diferentes patrones de gliadinas, hordeínas, secalinas y aveninas en granos dependiendo del cultivo y variedad estudiada⁷¹. Posteriormente, la técnica fue optimizada para el análisis de gluten en los alimentos⁷².

Aun cuando el análisis mediante el equipo MALDI-TOF es útil no basta con identificar gluten con base en el análisis de proteínas intactas debido a las grandes semejanzas entre las secuencias de proteínas del gluten; los resultados para las proteínas de gluten hidrolizadas también son poco

precisos. Para la identificación de proteínas de gluten sin ambigüedades, es más útil una estrategia proteómica que incluya la espectrometría de masas en tándem (MS/MS). Esta técnica utiliza un proceso en el que, mediante una fuente de ionización, las moléculas se fragmentan en varios iones con una relación masa/carga (m/z) determinada. Posteriormente, en un analizador de masas, se separan los distintos iones que pasan por él en función de su relación m/z . En el detector se produce la identificación de los iones, con base en su carga, masa o velocidad. La estrategia de flujo de trabajo clásica consiste en separar de la muestra las mezclas de proteínas mediante electroforesis, digerir estas proteínas utilizando la enzima tripsina, la cual hidroliza las proteínas en péptidos y finalmente, identificarlos mediante MS. Aunque el empleo de la electroforesis previa ha sido la estrategia clásica empleada por la mayoría de los investigadores que trabajan en el campo de la proteómica ⁷³ cada vez más es factible evitar la etapa de separación de proteínas mediante estrategias proteómicas más avanzadas de muy amplio rango, al digerir la mezcla de proteínas en péptidos y separarlos mediante uno o dos pasos de cromatografía líquida. Además de los métodos clásicos de 2-DE y DIGE, el empleo de los métodos basados en MS es cada vez más habitual. Existen dos grandes grupos de métodos cuantitativos basados en ella: la proteómica cuantitativa relativa y la absoluta. Además, la proteómica cuantitativa puede clasificarse en dos estrategias principales: proteómica diferencial empleando marcaje con isótopos estables y técnicas sin marcaje, conocidas como *label-free* (Figura 1).

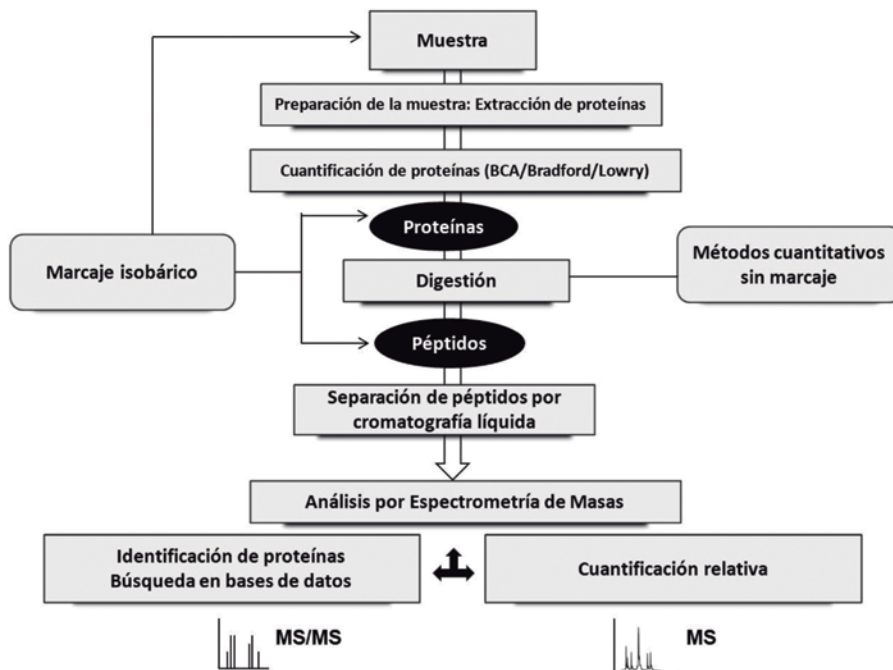


Figura 1. Flujo de trabajo para el análisis de proteínas mediante técnicas proteómicas.

Existen varias dificultades asociadas con el análisis proteómico de prolaminas y glutelinas ya que éstas son una compleja mezcla de proteínas. Entre ellas, hay un número limitado de secuencias de trigo, cebada y centeno secuenciadas y registradas en bases de datos públicas, especialmente para cebada y centeno, de las que se dispone de menos información sobre sus secuencias que sobre el trigo, lo que dificulta el proceso de identificación de proteínas y péptidos. Para el correcto análisis de muestras, también resulta esencial poder contar con procedimientos de preparación de muestras apropiados. Las estrategias de enriquecimiento son fundamentales para la correcta identificación de proteínas⁷⁴ debido a que en alimentos sin gluten existen grandes diferencias en los rangos dinámicos de este tipo de proteínas, encontrándose las proteínas de interés presentes en cantidades sustancialmente menores que las de las otras proteínas mayoritarias de estos alimentos. El hecho de que el gluten esté formado por un elevado número de diferentes proteínas es otro factor que limita el porcentaje de identificación de proteínas de gluten cuando se emplean técnicas proteómicas⁷⁵. La digestión de proteínas mediante endoproteasas es un paso clave en la identificación de proteínas mediante MS⁷⁶. La tripsina que es la enzima más ampliamente utilizada para este fin; fragmenta las secuencias de las proteínas en lisina y arginina, pero en el caso de las proteínas de gluten, al existir un número limitado de puntos de escisión, se generan péptidos que no resultan fácilmente identificables mediante estas técnicas, ya que el tamaño de los fragmentos tripticos obtenidos es demasiado grande o pequeño para ser analizado correctamente mediante espectrómetros de masas. Por lo tanto, es necesario utilizar enzimas diferentes, con otros puntos de corte para poder obtener otros fragmentos de gluten más apropiados y conseguir una caracterización completa. Estas otras enzimas presentan el problema que su digestión es menos reproducible que la tripsina⁷⁷.

El análisis de los péptidos hidrolizados como; por ejemplo en cervezas, es también de gran interés para analizar los posibles péptidos tóxicos remanentes para personas con enfermedad celíaca, pero el análisis del proteoma de cervezas representa un reto, tanto por el alto rango de concentración de las diferentes proteínas, como por un elevado grado de modificaciones inducidas por el procesamiento, que no siempre son reproducibles en función del tipo de fabricación empleada⁷⁸. Algunos investigadores han caracterizado el contenido de prolaminas en la cerveza mediante técnicas proteómicas, hallando diferentes péptidos en distintos tipos de cerveza⁷⁹.

La aplicación del análisis de péptidos proteotípicos en la detección de proteínas de gluten es muy prometedora. El primer paso para desarrollar un método eficaz para la detección de gluten, mediante la identificación de péptidos proteotípicos por MS, consiste en la selección de los mejores péptidos proteotípicos que representen las prolaminas y glutelinas que vayan a ser cuantificados, seleccionando aquellos con inmunogenicidad y toxicidad comprobadas⁵³. Además, los péptidos deben presentar secuencias únicas y características de las proteínas de gluten y deben ionizarse eficientemente para ser analizadas por cromatografía, de manera estable y reproducible. Previo al análisis por MS, las proteínas deben ser fragmentadas en péptidos mediante digestión enzimática. Los péptidos que sean comunes para el trigo, cebada y centeno, constituyen los mejores péptidos representativos para el análisis de gluten en todo tipo de alimentos cuando no se pueda definir el origen de la contaminación.

2.3.2. PCR cuantitativa en tiempo real (Q-PCR)

Se han descrito varios métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección y cuantificación del ADN de cereales con gluten. Estos métodos son muy útiles para caracterizar diferentes cultivos y seleccionar la codificación de genotipos para proteínas de gluten con las mejores cualidades para la panificación^{17,80-83}. No obstante, existen pocos estudios sobre la aplicación de esta técnica para el análisis de gluten en alimentos. Uno de los primeros estudios utilizó PCR en combinación con geles de agarosa, para detectar contaminación por trigo en la avena⁸⁴. Posteriormente, se desarrolló un sistema de PCR cuantitativo en combinación con geles de agarosa para detectar simultáneamente la contaminación por trigo, cebada y centeno, en alimentos sin gluten⁸⁵. No obstante, la utilización de geles de agarosa tiene ciertas desventajas y la mayoría de los esfuerzos para la detección y cuantificación del ADN de trigo, cebada y/o centeno, han sido llevados a cabo mediante Q-PCR⁸⁶⁻⁸⁸.

Se ha desarrollado un sistema de Q-PCR para la cuantificación fiable y rápida de ADN del trigo en alimentos sin gluten y en materias primas basado en la tinción fluorescente con el reactivo SYBR® *Green I* empleando previamente un protocolo de extracción del ADN, mediante SDS/Guanidina-HCl/Proteinasa K modificada. Este es un sistema altamente específico y sensible que presenta un límite de cuantificación de 20 pg ADN/mg. Al comparar este sistema de Q-PCR con los niveles de prolamina determinados empleando el kit comercial disponible de ELISA R5 se observó que con la excepción de algunas muestras de alimentos procesados con tratamientos hidrolíticos y las altamente procesadas (cervezas, jarabes, extractos de malta, cereales para el desayuno...), el resto de los alimentos con niveles de prolamina superiores al límite de cuantificación ELISA R5 (1.5 mg/kg) presentaron señales positivas con el sistema Q-PCR. Por lo tanto, este sistema Q-PCR puede utilizarse como herramienta no inmunológica para confirmar mediante la vía ADN la presencia del trigo en alimentos, tanto para celíacos, como para pacientes con alergia al trigo⁸⁹. Otros investigadores han desarrollado un método de amplificación de sondas dependientes de la unión con multiplexación alergénica basado en ADN que incluye la determinación del gluten en alimentos. Este podría constituir un método complementario a los métodos tradicionales basados en proteínas⁹⁰.

3. Herramientas analíticas para la selección de variedades de avena sin toxicidad para los enfermos celíacos

La avena es un cereal hexaploide, perteneciente al género *Avena L.*, que se encuentra presente a nivel mundial en casi todos los ambientes agrícolas⁹¹. La avena ha recibido cada vez una mayor atención como alimento humano, principalmente porque este cereal podría ser apropiado para el consumo por parte de pacientes celíacos. Existen diversas variedades de avena y todas poseen propiedades nutricionales de interés.

La presencia de avena en una DSG es aún un tema controversial. La avena difiere de otros cereales en su contenido en prolaminas. El porcentaje de prolina y glutamina (amino ácidos abundantes

en regiones tóxicas) en la avenina es menor que en otros cereales tóxicos. Algunos investigadores clínicos indican que pacientes con enfermedad celíaca toleran avena sin presentar signos de inflamación intestinal⁹². Por el contrario, otros estudios confirmaron la toxicidad de la avena en algunos pacientes con enfermedad celíaca. Arentz-Hansen y cols.⁹³ describieron el deterioro intestinal en ciertos pacientes con enfermedad celíaca después del consumo de avena, mientras seguían con una DSG. La avenina puede activar una respuesta inmunológica en estos pacientes, similar a la respuesta producida por el gluten del trigo, centeno o cebada. El seguimiento de 19 pacientes adultos con enfermedad celíaca que consumieron 50 g/día de avena durante 12 semanas demostró que uno de los sujetos era sensible a la avena. Por lo tanto, es muy importante tratar de aclarar la inmunotoxicidad potencial de la avena, para pacientes con enfermedad celíaca, tanto en términos cualitativos como cuantitativos^{94,94}.

La comparación de diferentes estudios se complica debido los diferentes diseños de estudio, distintas condiciones utilizadas para las pruebas, número de sujetos incluidos en cada estudio y evaluación del control de pureza del material de avenas utilizado en las pruebas clínicas. Otro factor importante en los diferentes diseños es la ausencia de información sobre la variedad de avena utilizada. Silano y cols.⁹⁴ investigaron el efecto inmunogénico de las aveninas procedentes de cuatro cultivares de avena, utilizando linfocitos periféricos de pacientes celíacos. Todas las variedades de avena analizadas (Lampton, Astra, Ava y Nave) por estos investigadores fueron inmunogénicas, con diferencia en su capacidad para inducir una respuesta. No obstante, otros estudios confirmaron que las avenas genziana y potenza no presentaron actividad *in vitro* relacionada con la patogenicidad de la EC⁹⁵.

Se ha publicado un estudio sobre la utilidad de la medición del anticuerpo G12 para identificar variedades de avena potencialmente tóxicas⁹⁶ (Patente No.: WO2013098441 A1), utilizando variedades de avena de distintas fuentes comerciales. La pureza del material de avena fue cuidadosamente controlada y mostró estar libre de contaminación. El análisis de los productos de amplificación de ADN confirmó que las muestras de avena no estaban contaminadas con trigo, cebada, centeno o mezclas de estos cereales. Basándose en su grado de afinidad por el anticuerpo G12, las variedades de avena se clasificaron en tres grupos: uno con reactividad elevada, otro de reactividad intermedia y otro sin reacción detectable⁹⁶. Estos resultados fueron confirmados mediante MALDI-TOF, SDS-PAGE y western blot, al demostrar que el número, intensidad relativa de los picos y perfil proteínico obtenido para nueve variedades de avena difieren entre sí. La inmunotoxicidad potencial de los diferentes tipos de avena se determinó mediante proliferación de células T y liberación de interferón γ . La reactividad exhibida por células T aisladas de pacientes celíacos, ante tres variedades de avena (una de cada uno de los grupos clasificados) se correlacionó directamente con la reactividad frente al G12 moAb. La diversidad observada en relación con la reactividad ante diferentes cultivos de avena, sugiere variaciones en la composición de la avenina y por lo tanto, en la cantidad de epítomos inmunotóxicos similares al 33-mer, presentes en estas variedades. Esto proporciona una explicación clara para el hecho de que solamente algunas variedades de avena activen una reacción inmunológica.

En comparación con las gliadinas del trigo, las aveninas han sido poco estudiadas y el número total de genes de aveninas presentes actualmente en las bases de datos es limitado y procede de pocos genotipos, de modo que la variabilidad de los genes de avenina en la avena no está bien representada. Recientemente se ha sabido que, al igual que el trigo, los granos de avena contienen aveninas monoméricas y poliméricas⁷. Se ha detectado una correlación directa entre la inmunogenicidad de diferentes variedades de avena y la presencia de péptidos específicos con potencial inmunotóxico superior/inferior, lo que podría explicar por qué ciertas variedades de avena son tóxicas para los pacientes celíacos mientras que otras no lo son⁷. La incorporación de determinadas variedades de avena en productos alimenticios podría mejorar la calidad nutricional y la calidad de la DSG para los pacientes celíacos (Patente No.: WO2013098441 A1).

4. Políticas y regulación

La presencia de un elevado número de tipos de proteínas de gluten, la variación en la eficiencia de extracción y la carencia de materiales de referencia representativa de todo tipo de alimentos son algunos de los problemas que dificultan la implementación de leyes equivalentes a nivel nacional y la comparación de datos entre diferentes métodos⁹⁷.

En Enero de 2009, la Comisión Europea publicó un nuevo Reglamento sobre la composición y etiquetado de alimentos aptos para personas intolerantes al gluten. Los “alimentos sin gluten” fueron definidos como alimentos que contienen o están elaborados con uno o más ingredientes libres de trigo, centeno, cebada o avena y cuyo contenido de gluten no supera los 20 mg/kg cuando son vendidos al consumidor⁹⁸. Además los alimentos especialmente procesados para reducir su contenido de gluten de 20 a 100 mg /Kg, fueron definidos como alimentos que consisten de uno o más ingredientes procedentes del trigo, centeno, cebada, avena o sus derivados, o de sus variedades híbridas que han sido especialmente procesados para reducir el contenido de gluten a dichos niveles. Con base en ello, el etiquetado, la publicidad y la presentación de estos productos deberá indicar los términos “sin gluten” o “libre de gluten” (no excede 20 mg/Kg) o “muy bajo en gluten” (no excede 100 mg/Kg). Esta regulación es de aplicación desde el 1 de Enero de 2012. En lo referido al contenido de avena en alimentos, de acuerdo con el Codex Alimentarius sobre alimentos para uso dietético especial para personas con intolerancia al gluten, el CODEX STAN118-1979 (revisado 2008, http://www.codexalimentarius.net/web/more_info.jsp?id_sta=291) la avena puede ser tolerada por la mayoría, pero no por todas, de las personas intolerantes al gluten. Además el Reglamento de la Comisión Europea (EC) No. 41/2009 (<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:016:0003:0005:EN:PDF>) sobre la composición y etiquetado de los alimentos aptos para personas intolerantes al gluten, también indica que el posible efecto adverso de la avena es un tema de estudio e investigación constante por parte de la comunidad científica. Una preocupación importante es la contaminación de avena con trigo, centeno o cebada que pueda ocurrir durante la cosecha, transporte, almacenamiento y procesamiento que debería tenerse en cuenta en a lo referido al etiquetado de dichos productos.

Actualmente, el método aceptado internacionalmente por la Comisión del Codex Alimentarius para determinar el contenido de gluten en alimentos sin gluten es el ELISA sándwich basado en el anticuerpo R5. Como se mencionó anteriormente, la principal limitación del ELISA R5 sándwich, es que es imprescindible que al menos dos epítomos de las secuencias reconocidas por el anticuerpo monoclonal R5 se hallen presentes en una proteína o péptido. No obstante, en alimentos hidrolizados (alimentos para bebé, jarabes o cervezas), las proteínas de gluten se fragmentan durante el procesamiento de los alimentos y se convierten en péptidos en los que puede aparecer solo un péptido tóxico. En este caso, la cuantificación de las proteínas de gluten mediante ELISA R5 sándwich sería incorrecta, determinando un valor inferior al verdadero contenido de gluten. La Comisión del Codex Alimentarius indica que “para la detección del gluten hidrolizado debe aplicarse una modificación de la prueba R5 (ELISA competitivo)”.

En 2013 el Comité Técnico de Proteínas y Enzimas de la AACC International inició un estudio colaborativo sobre un método para cuantificación de gluten en alimentos seleccionados, utilizando un sistema ELISA sándwich de anticuerpos G12. Recientemente, este método ha sido aprobado como el Método de AACC International (AACCI 38-52.01; Boletín 2014; 5(1): 1-5). En marzo de 2014, en la reunión de mitad del año de AOACI, el ELISA sándwich G12 ha sido adoptado como el Método AOACI de Primera Elección⁹⁹.

En Agosto de 2013, las regulaciones sobre etiquetado para alimentos sin gluten fueron establecidas por primera vez por la *Food and Drug Administration* (FDA) en los Estados Unidos. Estos límites de gluten se basan en los estándares del Codex y definen el término “sin gluten” para utilización voluntaria en el etiquetado de alimentos cuando la presencia de gluten es inferior a 20 ppm. En general, los alimentos pueden estar etiquetados como “libres de gluten” si el alimento está libre de gluten o bien no contiene un ingrediente que sea: 1) un grano que contenga gluten; 2) derivado de un grano que contenga gluten que no haya sido procesado para eliminar gluten; o 3) derivado de un grano que contenga gluten que ha sido procesado para eliminar gluten (por ejemplo, almidón de trigo), si la utilización de dicho ingrediente tiene como resultado 20 ppm o más de gluten en el alimento. La regla se aplica a todos los alimentos regulados por la FDA, incluyendo suplementos dietarios. La regla excluye aquellos alimentos cuyo etiquetado es regulado por el Departamento de Agricultura de los EE.UU. (USDA) y el Departamento de Impuestos al Alcohol y el Trabajo y el Comercio (TTB). Generalmente, la USDA regula el etiquetado de carnes, aves y ciertos productos derivados de huevos (la FDA regula el etiquetado de huevos con cáscara). El TTB regula el etiquetado de la mayoría de las bebidas alcohólicas, incluyendo las bebidas destiladas, vinos que contengan un 7% o más de alcohol por volumen y bebidas de malta elaboradas con cebada malteada y lúpulo. Todos los alimentos importados a Estados Unidos deben cumplir con estos requerimientos para cumplir con la afirmación de carecer de gluten. Los productores que opten por analizar sus alimentos en busca de gluten pueden seleccionar los métodos de análisis más adecuados, considerando el tipo de alimentos que elaboren, la FDA recomienda utilizar métodos científicamente válidos para obtener resultados fiables y consistentes (<http://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/allergens>).

En Australia y Nueva Zelanda se prohíben hacer afirmaciones en relación con el contenido de gluten en los alimentos, a menos que se trate de casos expresamente permitidos. Una afirmación sobre la ausencia de gluten en un alimento no debe hacerse, a menos que el alimento no contenga gluten detectable, avena o sus derivados, o cereales que contengan gluten o sus derivados. No debe hacerse la afirmación de que un alimento presenta bajo contenido en gluten, a menos de que no contenga más de 20 mg de gluten por 100 g de alimentos (Estándar 1.2.8. Registro Federal de Instrumentos Legislativos F2012c00218).

5. Conclusiones

La EC es un proceso autoinmune que tiene componentes genéticos, ambientales e inmunológicos. La ingestión de proteínas con gluten contenidas en el trigo, cebada, centeno y en algunos casos en la avena, conduce a la inflamación, atrofia vellositaria e hiperplasia de criptas características en el intestino delgado en los pacientes con EC. La seguridad de los alimentos sin gluten solo puede estar garantizada proporcionando métodos fiables de detección y cuantificación de las proteínas de gluten. La gran variedad de componentes del gluten y otros ingredientes en alimentos en fases posteriores a su elaboración dificultan en gran medida la eficiencia en la extracción y detección.

Los métodos para el análisis de gluten están disponibles para el control de productos sin gluten. Se utilizan diferentes técnicas inmunológicas y no inmunológicas, para aumentar la sensibilidad y proporcionar información suplementaria sobre la identificación de las proteínas del gluten, teniendo en cuenta que los métodos para análisis de gluten deben ser lo suficientemente sensibles para cuantificar bajos niveles del gluten en alimentos de modo que puedan cumplir con las regulaciones alimenticias.

El análisis cuantitativo del gluten se lleva a cabo principalmente mediante métodos de ELISA. Las técnicas proteómicas son herramientas prometedoras para la cuantificación del gluten, mientras que métodos basados en la detección del ADN son herramientas útiles para detectar contaminación cruzada y confirmar los resultados. Los valores límite de 20 y 100 mg/Kg en alimentos “sin gluten” y “muy bajos en gluten” respectivamente, ayudan a manejar con más eficiencia y seguridad, la dieta de la mayoría de pacientes celíacos.

Referencias

1. Breiteneder H, Radauer C. *A classification of plant food allergens*. J Allergy Clin Immunol. 2004; 113(5): 821-30
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2004.01.779>
PMid:15131562
2. Shewry PR, Tatham AS. *The characteristics, structures and evolutionary relationships of prolamins*. In: Shewry PR, Casey R (Eds.). *Seed Proteins*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1999; 11-34.
http://dx.doi.org/10.1007/978-94-011-4431-5_2
3. Osborne TB. *The proteins of the wheat kernel*. Publication no. 84 Carnegie Institution of Washington, Press of Judd & Detweiler, Inc, Washington DC, USA. 1907.
<http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.22763>
4. Stern M, Ciclitira PJ, van Eckert R, Feighery C, Janssen FW, Mendez E et al. *Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease*. European journal of gastroenterology & hepatology. 2001; 13(6): 741-7.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200106000-00023>
5. Shewry PR, Tatham AS. *The prolamins storage proteins of cereal seeds: structure and evolution*. Biochem J. 1990; 267(1): 1-12.
PMid:2183790 PMCID:PMC1131235
6. Wieser H. *Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types*. EurFood Res Technol. 2000; 211(4): 262-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002170000165>
7. Real A, Comino I, de Lorenzo L, Merchan F, Gil-Humanes J, Gimenez MJ et al. *Molecular and immunological characterization of gluten proteins isolated from oat cultivars that differ in toxicity for celiac disease*. PloS one. 2012; 7(12): e48365.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048365>
PMid:23284616 PMCID:PMC3524229
8. Chesnut RS, Shotwell MA, Boyer SK, Larkins BA. *Analysis of avenin proteins and the expression of their mRNAs in developing oat seeds*. Plant Cell. 1989; 1(9): 913-24.
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.1.9.913>
PMid:2535531 PMCID:PMC159827
9. Wieser H. *Chemistry of gluten proteins*. Food Microbiol. Review. 2007; 24(2): 115-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
PMid:17008153
10. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
PMid:12209133

11. Bernardo D, Pena AS. *Developing strategies to improve the quality of life of patients with gluten intolerance in patients with and without coeliac disease*. Eur J Intern Med. Editorial. 2012; 23(1): 6-8.
12. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, Brusco G, Ciacci C, Cottone M et al. *Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study*. Lancet. 2001; 358(9279): 356-61.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05554-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05554-4)
13. Greco L, Gobetti M, Auricchio R, Di Mase R, Landolfo F, Paparo F et al. *Safety for patients with celiac disease of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing*. Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2011; 9(1): 24-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2010.09.025>
PMid:20951830
14. Mena MC, Lombardia M, Hernando A, Mendez E, Albar JP. *Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody*. Talanta. 2012; 91: 33-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.073>
PMid:22365676
15. Kanerva P, Brinck O, Salovaara H, Lopenen J. *Deamidation of gluten proteins and peptides decreases the antibody affinity in gluten analysis assays*. J Cereal Sci. 2011; 53(3): 335-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2011.02.003>
16. Garcia E, Llorente M, Hernando A, Kieffer R, Wieser H, Mendez E. *Development of a general procedure for complete extraction of gliadins for heat processed and unheated foods*. European journal of gastroenterology & hepatology. 2005; 17(5): 529-39.
<http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200505000-00010>
17. Han Z, Wu F, Deng G, Qian G, Yu M, Jia Y. *Structural and expressional analysis of the B-hordein genes in Tibetan hull-less barley*. Genetica. 2010; 138(2): 227-39.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10709-009-9415-6>
PMid:19856114
18. van Eckert R, Berghofer E, Ciclitira PJ, Chirido F, Denery-Papini S, Ellis HJ et al. *Towards a new gliadin reference material— isolation and characterisation*. J Cereal Sci. 2006; 43: 331-41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.009>
19. Gessendorfer B, Koehler P, Wieser H. *Preparation and characterization of enzymatically hydrolyzed prolamins from wheat, rye, and barley as references for the immunochemical quantitation of partially hydrolyzed gluten*. Analytical and bioanalytical chemistry. 2009; 395(6): 1721-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-3080-6>
PMid:19763549

20. Comino I, Real A, Gil-Humanes J, Piston F, de Lorenzo L, Moreno ML et al. *Significant differences in coeliac immunotoxicity of barley varieties*. *Mol Nutr Food Res*. 2012; 56(11): 1697-707.
<http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200358>
PMid:22968973
21. Comino I, Real A, Moreno ML, Montes R, Cebolla A, Sousa C. *Immunological determination of gliadin 33-mer equivalent peptides in beers as a specific and practical analytical method to assess safety for celiac patients*. *Journal of the science of food and agriculture*. 2013; 93(4): 933-43.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5830>
PMid:22886585
22. Denery-Papini S, Nicolas Y, Popineau Y. *Efficiency and Limitations of Immunochemical Assays for the Testing of Gluten-free Foods*. *Journal of Cereal Science*. 1999; 30(2): 121-31.
<http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1999.0268>
23. Windemann H, Fritschy F, Baumgartner E. *Enzyme-linked immunosorbent assay for wheat alpha-gliadin and whole gliadin*. *Biochimica et biophysica acta*. 1982; 709: 110-21.
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838\(82\)90428-9](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838(82)90428-9)
24. Howdle PD, Losowsky MS. *Review of methods for measuring gliadins in food*. *Gut*. Review. 1990; 31(6): 712-3.
25. Immer U, Haas-Lauterbach S. *Gliadin as a measure of gluten in foods containing wheat, rye, and barley-enzyme immunoassay method based on a specific monoclonal antibody to the potentially celiac toxic amino acid prolamins sequences: collaborative study*. *Journal of AOAC International*. 2012; 95(4): 1118-24.
http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.CS2012_01
PMid:22970580
26. van Eckert R, Bond J, Rawson P, Klein CL, Stern M, Jordan TW. *Reactivity of gluten detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material*. *Journal of Cereal Science*. 2010; 51(2): 198-204.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2009.11.012>
27. Diaz-Amigo C, Popping B. *Accuracy of ELISA detection methods for gluten and reference materials: a realistic assessment*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013; 61(24): 5681-8.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf3046736>
PMid:23713744
28. McKillop DF, Gosling JP, Stevens FM, Fottrell PF. *Enzyme immunoassay of gliadin in food*. *Biochem Soc Trans*. 1985; 13: 486-7.
29. Troncone R, Vitale M, Donatiello A, Farris E, Rossi G, Auricchio S. *A sandwich enzyme immunoassay for wheat gliadin*. 1986: 0022-1759.
30. Friis SU. *Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of cereal proteins toxic in coeliac disease*. *Clin Chim Acta*. 1988; 178(3): 261-70.
[http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(88\)90234-3](http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(88)90234-3)

31. Freedman AR, Galfre G, Gal E, Ellis HJ, Ciclitira PJ. *Monoclonal antibody ELISA to quantitate wheat gliadin contamination of gluten-free foods*. J Immunol Methods. 1987; 98(1): 123-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(87\)90445-5](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(87)90445-5)
32. Chirido FG, Añón MC, Fossati CA. *Development of high-sensitive enzyme immunoassays for gliadin quantification using the streptavidin-biotin amplification system*. Food and Agricultural Immunology. 1998; 10(2): 143-55.
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109809354977>
33. Chirido FG, Añón MC, Fossati CA. *Optimization of a competitive ELISA with polyclonal antibodies for quantification of prolamins in foods*. Food and Agricultural Immunology. 1995; 7(4): 333-43.
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109509354893>
34. Ellis HJ, Rosen-Bronson S, O'Reilly N, Ciclitira PJ. *Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of A gliadin*. Gut. 1998; 43(2): 190-5.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.43.2.190>
PMid:10189843 PMCID:PMC1727224
35. Sturgess R, Day P, Ellis HJ, Lundin KE, Gjertsen HA, Kontakou M et al. *Wheat peptide challenge in coeliac disease*. Lancet. 1994; 343(8900): 758-61.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)91837-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(94)91837-6)
36. Bermudo Redondo MC, Griffin PB, Garzon Ransanz M, Ellis HJ, Ciclitira PJ, O'Sullivan CK. *Monoclonal antibody-based competitive assay for the sensitive detection of coeliac disease toxic prolamins*. Analytica Chimica Acta. 2005; 551(1-2): 105-14.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.07.023>
37. Skerritt JH, Hill AS. *Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods: collaborative study*. J Assoc Off Anal Chem. 1991; 74(2): 257-64.
PMid:2050607
38. Skerritt JH, Hill AS. *Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods*. Journal of agricultural and food chemistry. 1990; 38(8): 1771-8.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf00098a029>
39. Thompson T, Mendez E. *Commercial assays to assess gluten content of glutenfree foods: why they are not created equal*. J Am Diet Assoc. Review. 2008; 108(10): 1682-7.
40. Gabrovská D, Rysov J, Filov V, Plicka J, Cuhra P, Kubk M et al. *Gluten Determination by Gliadin Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit: Interlaboratory Study*. Journal of AOAC International. 2006; 89(1): 154-60.
PMid:16512241

41. Sánchez D, Tučková L, Burkhard M, Plicka J, Mothes T, Hoffmanová I et al. *Specificity Analysis of Anti-gliadin Mouse Monoclonal Antibodies Used for Detection of Gliadin in Food for Gluten-free Diet*. Journal of agricultural and food chemistry. 2007; 55(7): 2627-32.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0630421>
PMid:17335223
42. Spaenij-Dekking EH, Kooy-Winkelaar EM, Nieuwenhuizen WF, Drijfhout JW, Koning F. *A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of alpha/beta- and gamma-gliadin*. Gut. 2004; 53(9): 1267-73.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.037952>
PMid:15306583 PMCID:PMC1774189
43. Mitea C, Havenaar R, Drijfhout JW, Edens L, Dekking L, Koning F. *Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease*. Gut. 2008; 57(1): 25-32.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.111609>
PMid:17494108
44. Sharma GM. *Immunoreactivity and detection of wheat proteins by commercial ELISA kits*. Journal of AOAC International. 2012; 95(2): 364-71.
http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Sharma
PMid:22649920
45. Kahlenberg F, Sanchez D, Lachmann I, Tuckova L, Tlaskalova H, Méndez E et al. *Monoclonal antibody R5 for detection of putatively coeliac-toxic gliadin peptides*. Eur Food Res Technol. 2006; 222(1-2): 78-82.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-005-0100-4>
46. Valdes I, Garcia E, Llorente M, Mendez E. *Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2003; 15(5): 465-74.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.meg.0000059119.41030.df>
PMid:12702901
47. Codex Alimentarius Commission. *Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Food Standards Program. Report of the Twenty- Seventh Session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling*. 2006; ALINORM 06/29/23.
48. Morón B, Cebolla Á, Manyani H, Álvarez-Maqueda M, Megías M, Thomas MC et al. *Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide*. The American journal of clinical nutrition. 2008; 87(2): 405-14.
PMid:18258632
49. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM et al. *Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue*. Science. 2002; 297(5590): 2275-9.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074129>
PMid:12351792

50. Moron B, Bethune MT, Comino I, Manyani H, Ferragud M, Lopez MC et al. *Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: characterization of monoclonal antibodies to a main immunogenic gluten peptide*. PloS one. 2008; 3(5): e2294.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002294>
PMid:18509534 PMCID:PMC2386552
51. Ehren J, Moron B, Martin E, Bethune MT, Gray GM, Khosla C. *A food-grade enzyme preparation with modest gluten detoxification properties*. PloS one. 2009; 4(7): e6313.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006313>
PMid:19621078 PMCID:PMC2708912
52. Moron B, Cebolla A, Manyani H, Alvarez-Maqueda M, Megias M, Thomas MC et al. *Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide*. The American journal of clinical nutrition. 2008; 87(2): 405-14.
PMid:18258632
53. Mena MC, Hernando A, Lombardía M, Albar J. *The application of proteomics in gluten analysis: Identification and characterization of prolamins and glutelins through mass spectrometry*. Proceeding of the 23rd Meeting Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. 2009; 23-8.
54. Salmanowicz BP, Nowak J. *Diversity of monomeric prolamins in triticale cultivars determined by capillary zone electrophoresis*. Journal of agricultural and food chemistry. 2009; 57(6): 2119-25.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf803326z>
PMid:19228059
55. Shuaib A, Hussain MS. *The past and future of neuroprotection in cerebral ischaemic stroke*. European neurology. 2008; 59(1-2): 4-14.
<http://dx.doi.org/10.1159/000109254>
PMid:17917451
56. van den Broeck HC, America AH, Smulders MJ, Bosch D, Hamer RJ, Gilissen LJ et al. *A modified extraction protocol enables detection and quantification of celiac disease-related gluten proteins from wheat*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2009; 877(10): 975-82.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.02.035>
PMid:19282254
57. Immer U, Haas Lauterbach S. *Gluten detection in molecular biological and immunological techniques and applications for food chemist*. In: Propping B, Diaz-Amigo C, Hoenicke K (Eds.). Molecular Biological and Immunological Techniques and Applications for Food Chemists. John Wiley & Sons, Inc. 2010: 359-75.
<http://dx.doi.org/10.1002/9780470637685.ch19>
58. Nassef HM, Bermudo Redondo MC, Ciclitira PJ, Ellis HJ, Fragoso A, O'Sullivan CK. *Electrochemical immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin in foodstuff*. Anal Chem. 2008; 80(23): 9265-71.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac801620j>
PMid:19551990

59. Nassef HM, Civit L, Fragoso A, O'Sullivan CK. Amperometric immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin based on Fab fragments. *Anal Chem.* 2009; 81(13): 5299-307.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac9005342>
PMid:19469538
60. Chu PT, Lin CS, Chen WJ, Chen CF, Wen HW. *Detection of gliadin in foods using a quartz crystal microbalance biosensor that incorporates gold nanoparticles.* *Journal of agricultural and food chemistry.* 2012; 60(26): 6483-92.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf2047866>
PMid:22694361
61. Chu PT, Wen HW. *Sensitive detection and quantification of gliadin contamination in gluten-free food with immunomagnetic beads based liposomal fluorescence immunoassay.* *Analytica Chimica Acta.* 2013; 787: 246-53.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.05.014>
PMid:23830446
62. Amaya-Gonzalez S, de-Los-Santos-Alvarez N, Miranda-Ordieres AJ, Lobo-Castanon MJ. *Aptamer binding to celiac disease-triggering hydrophobic proteins: a sensitive gluten detection approach.* *Anal Chem.* 2014; 86(5): 2733-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac404151n>
PMid:24502317
63. Sealey-Voyksner JA, Khosla C, Voyksner RD, Jorgenson JW. *Novel aspects of quantitation of immunogenic wheat gluten peptides by liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry.* *J Chromatogr A.* 2010; 1217(25): 4167-83.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.067>
PMid:20181349
64. Wieser H. *Investigations on the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour.* *Z Lebensm Unters Forsch A.* 1998; 207: 128-32.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002170050306>
65. Hurkman WJ, Tanaka CK, Vensel WH, Thilmony R, Altenbach SB. *Comparative proteomic analysis of the effect of temperature and fertilizer on gliadin and glutenin accumulation in the developing endosperm and flour from Triticum aestivum L. cv. Butte 86.* *Proteome science.* 2013; 11(1): 8.
<http://dx.doi.org/10.1186/1477-5956-11-8>
PMid:23432757 PMCID:PMC3599944
66. Pompa M, Giuliani MM, Palermo C, Agriesti F, Centonze D, Flagella Z. *Comparative Analysis of Gluten Proteins in Three Durum Wheat Cultivars by a Proteomic Approach.* *Journal of agricultural and food chemistry.* 2013. 61(11): 2606-17.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf304566d>
PMid:23414385

67. Guo G, Lv D, Yan X, Subburaj S, Ge P, Li X et al. *Proteome characterization of developing grains in bread wheat cultivars (Triticum aestivum L.)*. BMC plant biology. 2012; 12: 147.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-12-147>
PMid:22900893 PMCID:PMC3480910
68. Altenbach SB, Vensel WH, Dupont FM. *Analysis of expressed sequence tags from a single wheat cultivar facilitates interpretation of tandem mass spectrometry data and discrimination of gamma gliadin proteins that may play different functional roles in flour*. BMC plant biology. 2010; 10: 7.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-10-7>
PMid:20064259 PMCID:PMC2827424
69. Mamone G, De Caro S, Di Luccia A, Addeo F, Ferranti P. *Proteomic-based analytical approach for the characterization of glutenin subunits in durum wheat*. Journal of mass spectrometry: JMS. 2009; 44(12): 1709-23.
<http://dx.doi.org/10.1002/jms.1680>
70. Mamone G, Picariello G, Addeo F, Ferranti P. *Proteomic analysis in allergy and intolerance to wheat products*. Expert review of proteomics. 2011; 8(1): 95-115.
<http://dx.doi.org/10.1586/epr.10.98>
PMid:21329430
71. Camafeita E, Alfonso P, Mothes T, Mendez E. *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric micro-analysis: the first non-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples*. Journal of mass spectrometry: JMS. 1997; 32(9): 940-7.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9888\(199709\)32:9<940::AID-JMS550>3.0.CO;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9888(199709)32:9<940::AID-JMS550>3.0.CO;2-2)
72. Hernando A, Valdes I, Mendez E. *New strategy for the determination of gliadins in maize- or rice-based foods matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: fractionation of gliadins from maize or rice prolamins by acidic treatment*. Journal of mass spectrometry: JMS. 2003; 38(8):862-71.
<http://dx.doi.org/10.1002/jms.502>
PMid:12938107
73. Granvogl B, Ploscher M, Eichacker LA. *Sample preparation by in-gel digestion for mass spectrometry-based proteomics*. Anal Bioanal Chem. Review. 2007; 389(4): 991-1002.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00216-007-1451-4>
PMid:17639354
74. Gao M, Deng C, Zhang X. *Magnetic nanoparticles-based digestion and enrichment methods in proteomics analysis*. Expert Rev Proteomics. 2011; 8(3): 379-90.
<http://dx.doi.org/10.1586/epr.11.25>
PMid:21679118

75. Vaezzadeh AR, Deshusses JM, Waridel P, Francois P, Zimmermann-Ivol CG, Lescuyer P et al. *Accelerated digestion for high-throughput proteomics analysis of whole bacterial proteomes*. J Microbiol Methods. 2010; 80(1): 56-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2009.10.019>
PMid:19913576
76. Zhang K, Wu S, Tang X, Kaiser NK, Bruce JE. *A bifunctional monolithic column for combined protein preconcentration and digestion for high throughput proteomics research*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007; 849(1-2): 223-30.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.11.029>
PMid:17150420
77. Salplachta J, Marchetti M, Chmelik J, Allmaier G. *A new approach in proteomics of wheat gluten: combining chymotrypsin cleavage and matrix-assisted laser desorption/ionization quadrupole ion trap reflectron tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom. 2005; 19(18): 2725-8.
<http://dx.doi.org/10.1002/rcm.2092>
PMid:16124027
78. Picariello G, Mamone G, Nitride C, Addeo F, Camarca A, Vocca I et al. *Shotgun proteome analysis of beer and the immunogenic potential of beer polypeptides*. Journal of proteomics. 2012; 75(18): 5872-82.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.038>
PMid:22868252
79. Colgrave ML, Goswami H, Howitt CA, Tanner GJ. *What is in a beer? Proteomic characterization and relative quantification of hordein (gluten) in beer*. Journal of proteome research. 2012; 11(1): 386-96.
<http://dx.doi.org/10.1021/pr2008434>
PMid:21999962
80. Salmanowicz BP, Dylewicz M. *Identification and characterization of high-molecular-weight glutenin genes in Polish triticale cultivars by PCR-based DNA markers*. Journal of applied genetics. 2007; 48(4): 347-57.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF03195231>
PMid:17998591
81. Huang XQ, Cloutier S. *Molecular characterization and genomic organization of low molecular weight glutenin subunit genes at the Glu-3 loci in hexaploid wheat (Triticum aestivum L.)*. TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik. 2008; 116(7): 953-66.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00122-008-0727-1>
PMid:18305921
82. Liu SW, Gao X, Lu BR, Xia GM. *Characterization of the genes coding for the high molecular weight glutenin subunits in Lophopyrum elongatum*. Hereditas. 2008; 145(1): 48-57.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0018-0661.2008.2029.x>
PMid:18439233

83. Zhang X, Liu D, Jiang W, Guo X, Yang W, Sun J et al. *PCR-based isolation and identification of full-length low-molecular-weight glutenin subunit genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)*. TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik. 2011; 123(8): 1293-305.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00122-011-1667-8>
PMid:21830110
84. Köppel E, Stadler M, Lüthy J, Hübner P. *Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A. 1998; 206(6): 399-403.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002170050281>
85. Dahinden I, von Büren M, Lüthy J. *A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients*. Eur Food Res Technol. 2001; 212(2): 228-33.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002170000252>
86. Hernandez M, Esteve T, Pla M. *Real-time polymerase chain reaction based assays for quantitative detection of barley, rice, sunflower, and wheat*. Journal of agricultural and food chemistry. 2005; 53(18): 7003-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf050797j>
PMid:16131102
87. Zeltner D, Glomb M, Maede D. *Real-time PCR systems for the detection of the gluten-containing cereals wheat, spelt, kamut, rye, barley and oat*. European Food Research and Technology A. 2009; 228(3): 321-30.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0937-4>
88. Rønning SB, Berdal KG, Andersen CB, Holst-Jensen A. *Novel Reference Gene, PKABA1, Used in a Duplex Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection and Quantitation of Wheat- and Barley-Derived DNA*. Journal of agricultural and food chemistry. 2006; 54(3): 682-7.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf052328n>
PMid:16448168
89. Mujico JR, Lombardía M, Mena MC, Méndez E, Albar JP. *A highly sensitive real-time PCR system for quantification of wheat contamination in gluten-free food for celiac patients*. Food Chemistry. 2011; 128(3): 795-801.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.061>
90. Mustorp SL, Dromtorp SM, Holck AL. *Multiplex, quantitative, ligation-dependent probe amplification for determination of allergens in food*. Journal of agricultural and food chemistry. 2011; 59(10): 5231-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf200545j>
PMid:21452891
91. Suttie JM, Reynolds SG. *Fodder oats: A world overview, 2004*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Accessed on 16 October 2012.
<http://www.fao.org/docrep/008/y5765e/y5765e00.htm>

92. Pulido OM, Gillespie Z, Zarkadas M, Dubois S, Vavasour E, Rashid M et al. Introduction of oats in the diet of individuals with celiac disease: a systematic review. *Adv Food Nutr Res. Review.* 2009; 57: 235-85.

93. Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, Scott H, Koning F, Jung G et al. *The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease.* *PLoS Med.* 2004; 1(1): e1.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0010001>

PMid:15526039 PMCID:PMC523824

94. Silano M, Di Benedetto R, Maialetti F, De Vincenzi A, Calcaterra R, Cornell HJ et al. *Avenins from different cultivars of oats elicit response by coeliac peripheral lymphocytes.* *Scandinavian journal of gastroenterology.* 2007; 42(11): 1302-5.

PMid:17852883

95. Maglio M, Mazzarella G, Barone MV, Gianfrani C, Pogna N, Gazza L et al. *Immunogenicity of two oat varieties, in relation to their safety for celiac patients.* *Scandinavian journal of gastroenterology.* 2011; 46(10): 1194-205.

<http://dx.doi.org/10.3109/00365521.2011.603159>

PMid:21843037

96. Comino I, Real A, de Lorenzo L, Cornell H, Lopez-Casado MA, Barro F et al. *Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease.* *Gut.* 2011; 60(7): 915-22.

<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2010.225268>

PMid:21317420 PMCID:PMC3112367

97. Diaz-Amigo C, Popping B. *Gluten and gluten-free: issues and considerations of labeling regulations, detection methods, and assay validation.* *Journal of AOAC International.* 2012; 95(2): 337-48.

http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Diaz-Amigo

PMid:22649917

98. Commission Regulation (EC) No 41/2009 of 20 January 2009 concerning the composition and labelling of foodstuffs suitable for people intolerant to gluten. 2009.

99. Codex Alimentarius International Food Standards. Accessed on 28 August 2013.

http://www.codexalimentarius.net/web/more_info.jsp?id_sta=291

CAPÍTULO 17

PRODUCTOS DE PANADERÍA Y PASTA SIN GLUTEN.

Manuel Gómez¹, Lorena S. Sciarini²

¹Área de Tecnología de Alimentos, Colegio de Ingeniería Agrícola (ETSIIAA). Universidad de Valladolid, Palencia, España.

²Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICYTAC), Concejo Nacional Científico y Técnico (CONICET), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

pallares@iaf.uva.es losciarini@agro.unc.edu.ar

Cómo citar este capítulo:

Gómez M, Sciarini LS. *Productos de Panadería y Pasta sin Gluten*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Los productos de panadería basados en harina de trigo son un componente básico de la dieta, en la mayor parte de países del mundo. La obtención de productos de panadería sin gluten con características similares a las de los productos elaborados con harina de trigo es una tarea difícil; debido a ello, durante las últimas décadas se han llevado a cabo intensas investigaciones para crear panes sin gluten con una buena textura y estructura alveolar. Basándose en estas investigaciones, este capítulo se centrará en las posibles estrategias a seguir para el desarrollo de productos de panadería sin gluten con buenas propiedades tecnológicas, sensoriales y nutricionales. En productos sin gluten, la harina de trigo debe ser remplazada por una mezcla de harinas y almidón provenientes de diferentes fuentes. No obstante, para productos como el pan, la pasta y algunos tipos de galletas, se requiere un desarrollo de una red de gluten; en este caso, debe adicionarse a la fórmula un sustituto del gluten (normalmente hidrocoloides). Algunos otros productos, tales como bizcochos, obleas, la mayor parte de las galletas o las crepas no requieren de esta red proteica y, por lo tanto, es más fácil crear sus homólogos sin gluten. Los productos sin gluten son normalmente muy ricos en almidón y contienen pocas proteínas y fibras. Para resolver este problema es habitual incorporar proteínas y fibras en estos productos. Cada vez es más frecuente incorporar otros aditivos y enzimas a los productos sin gluten; pero su funcionalidad debe ser investigada, ya que se observan algunas discrepancias en su papel entre productos basados en trigo y productos sin gluten.

Palabras clave

Harinas sin gluten, sustitución del gluten, pan sin gluten, bizcochos sin gluten, galletas sin gluten, pasta sin gluten.

1. Introducción

Entre los diferentes cereales, el trigo posee unas proteínas específicas que lo hacen ideal para ciertas aplicaciones. De ese modo, las gliadinas y las gluteninas del trigo, en presencia de agua y fuerzas mecánicas, forman una fase continua llamada red de gluten. Esta red es la responsable de las propiedades de extensibilidad y cohesividad de la masa, al mismo tiempo que reduce su adhesividad. La masa del trigo se caracteriza por su tenacidad (resistencia de la masa a ser estirada) y elasticidad (capacidad de la masa para recuperar su forma original tras ser estirada). Estas características permiten la retención del gas producido durante la fermentación, lo que provoca un incremento en el volumen y el desarrollo de una estructura alveolar, responsables de la obtención de un producto esponjoso tras el horneado. Aún no está claro por qué se desarrolla esta red con la harina de trigo, ni por qué está ausente en las masas preparadas con otros cereales; pero se sabe que una gran cantidad de variables, tales como el tipo y proporción de amino ácidos, que influyen en la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas, influyen sobre su desarrollo. Para explicar la formación de esta red se han sugerido distintos tipos de uniones, tales como los puentes de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y particularmente los enlaces disulfuro entre los grupos sulfhidrilo. La fortaleza de la red de gluten dependerá de la cantidad, y proporción, de gliadina, su peso molecular y, en general, de la calidad global de las proteínas del trigo. Las características de estas proteínas determinarán la fortaleza, elasticidad y extensibilidad de la masa. Este capítulo también analizará el modo en el que los distintos productos necesitan un gluten con características específicas.

Es importante aclarar el concepto de “gluten”, ya que este término se utiliza en diferentes contextos en los que posee diferentes significados. En la industria del pan, el gluten se relaciona con la proteína que hace que la masa sea cohesiva y extensible, fácilmente laminada y formada, y que sea capaz de retener los gases producidos durante la fermentación y el horneado. De acuerdo con los panaderos, el único cereal que posee gluten es el trigo. Bajo ciertas circunstancias, el gluten se refiere a la red formada por proteínas de trigo, bajo condiciones húmedas y tras la aplicación de trabajo mecánico, lo que ocurre durante el amasado. De acuerdo con este concepto, el trigo no contendría gluten, pero la masa, el pan y la pasta, si lo contendrían. Finalmente, en la industria alimentaria, el gluten puede referirse a las proteínas de maíz obtenidas tras la molienda húmeda. Este gluten de maíz podría ser consumido por pacientes celíacos, a menos que estuviera contaminado con cereales tóxicos, y no podría formar una red continua, necesaria para los procesos de panadería. En este capítulo se utilizará la palabra “gluten” para referirse a la red proteica del trigo.

Otro tema importante que debe considerarse es la necesidad de desarrollar una red de gluten en ciertos procesos. Los productos en los que la red de gluten posee un papel fundamental deberían incorporar un sustituto del gluten en su formulación. Los hidrocoloides suelen desempeñar esta función. No obstante, si el gluten no posee una función básica, o si su formación es incluso negativa, la producción de los homólogos sin gluten será más sencilla. Como regla general, el gluten tiene un papel fundamental en la formación de masas que requieren una consistencia mínima, por ejemplo para ser laminadas y/o en las masas que deben retener los gases generados en la fer-

mentación, como el pan, la pizza, los cruasanes, el hojaldre y las galletas tipo Maria, entre otros productos. La red de gluten también es necesaria en la producción de pasta, sin embargo, en las masas, más líquidas o batidas esta no suele desarrollarse. Ejemplos de este tipo de batidos son los bizcochos, magdalenas, las obleas, las crepas y los gofres. Durante el procesamiento de algunos tipos de galletas el tiempo de amasado se reduce para evitar la formación de gluten, ya que la red proteica que se genera no es deseable. Finalmente, en ciertos productos, tales como las masas escaldadas y los churros (no analizados en este capítulo), el proceso incluye la adición de agua caliente. En estos casos la incorporación del agua caliente incrementa la temperatura de la masa, produciendo la gelatinización parcial del almidón y la desnaturalización de las proteínas, evitando de ese modo la formación de una red de gluten.

En la primera parte de este capítulo se analiza la elaboración de productos de panadería que requieren la producción de una red de gluten. Posteriormente, en la sección 3, se discute el desarrollo de productos de pastelería, considerando que en ciertos procesos no se requiere la red de gluten. Finalmente, en la sección 4, se profundiza sobre la producción de pasta sin gluten.

2. Desarrollo de Productos de Panadería sin Gluten

2.1. Materia Prima: Harinas y Almidones

Cuando se elimina la harina de trigo de cualquier formulación de panadería se prescinde de una gran cantidad de almidón que debe ser remplazada por algún otro ingrediente. Entre las materias primas sin gluten que pueden ser utilizadas para este fin, las más importantes son las harinas de cereales sin gluten, así como algunos almidones nativos. Las harinas presentan una composición más compleja, incluyendo almidón, una cantidad variable de proteínas, baja cantidad de lípidos y algunos componentes menores, tales como fibra, vitaminas y minerales.

La harina de arroz es una de las materias primas más adecuadas debido a sus propiedades hipoalergénicas, bajo contenido de sodio, sabor neutro y color blanquecino¹, así como por su gran disponibilidad en el mercado. Las harinas de maíz², principalmente las procedentes de las variedades blancas, así como las harinas de sorgo y mijo³, también son utilizadas, aunque con menor frecuencia. Las harinas de estos cereales tienen un tamaño de partícula variable, habitualmente comprendido entre 0-200 μm , mientras que los almidones presentan, en general, partículas menores que las de las harinas así como una composición más simple (casi 100% de la materia seca, son carbohidratos). Entre los almidones más utilizados para la elaboración de productos sin gluten se encuentran los de maíz y patata debido a sus características funcionales, precio y disponibilidad, pero los almidones de mandioca y otros cereales como el arroz y el sorgo, también pueden ser utilizados. Hace algunos años que se han estado mercadeando panes sin gluten basados en almidón de trigo, ya que este posee la ventaja de presentar un sabor similar al de la harina de trigo, pero la posible presencia de trazas de gluten ha resultado en que este almidón fuera descartado para la elaboración de productos sin gluten. No obstante, en los últimos años los procedimientos de sepa-

ración del almidón y la proteína han mejorado significativamente y desde 2008 se halla disponible en el mercado un almidón de trigo con un contenido de gluten menor de 20 mg kg⁻¹ (el límite fijado por el Codex alimentarius). Este producto no tiene efectos dañinos para la mayoría de los pacientes celíacos⁴. No obstante, los pacientes celíacos aún mantienen una cierta desconfianza a la hora de consumir productos con ingredientes provenientes de trigo.

Tradicionalmente, la avena ha sido considerada dañina para los pacientes celíacos. Investigaciones recientes, no obstante, la consideran segura para la población celíaca siempre que se evite la contaminación cruzada con cereales tóxicos^{5,6}. Un pequeño porcentaje de pacientes celíacos, no obstante, no tolera las aveninas (proteínas presentes en avena). Existen diferencias entre las legislaciones nacionales sobre la incorporación de avena en productos sin gluten. Así, mientras su consumo está permitido y es habitual en Finlandia, en algunos países se aconseja a los pacientes celíacos que busquen consejo médico antes de consumirlas, mientras que en otros aún existe gran una gran resistencia a su consumo por parte de la población celíaca. La masa preparada con harina de avena no desarrolla una red de proteínas continua y debe agregarse algún sustituto del gluten. Los panes obtenidos con harina de avena tienen un contenido más elevado de proteínas y beta-glucanos, así como una mejor valoración sensorial que aquellos obtenidos mediante harinas de otros cereales libres de gluten⁷, por lo tanto, su incorporación es una alternativa a considerar en la producción de panes sin gluten.

En lo referente a los productos basados en el trigo, se sabe que cada caso particular requiere un tipo específico de harina y, por lo tanto, las harinas óptimas para la producción de galletas no serán apropiadas para la fabricación de pan de molde, y viceversa. No obstante, la información es escasa en lo referente a requerimientos de harinas para productos sin gluten. Estas harinas difieren principalmente en la cantidad de proteína que contienen, las características del almidón, como, por ejemplo, el ratio amilosa/amilopectina, y la distribución de tamaño de partículas. Se sabe que la variedad de maíz o el proceso de molienda afectan a las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del pan². En el caso del arroz, las harinas con menor contenido en amilosa producen un pan con mejor textura, pero las variedades cereas (sin amilosa) no son apropiadas por si solas para la producción de pan sin gluten⁸. Ylimaki y cols.⁹ también observaron que, para obtener panes con mejores propiedades sensoriales, las variedades de granos de tamaño medio son preferibles a las variedades de granos largos. A su vez, se sabe que el tamaño de partículas de la harina de arroz influye en la elaboración de pan sin gluten^{10,11}. De acuerdo con lo anterior, estudios llevados a cabo con harinas de arroz y maíz han demostrado que la variable más importante que afecta a la calidad del pan es el tamaño de partícula^{12,13}. Por lo tanto, es preferible un mayor tamaño de partícula, mientras que deberían descartarse fracciones inferiores a 80-100 µm para la producción de pan sin gluten, si se desea un mayor volumen y una miga más suave. No obstante, utilizar harinas con partículas extremadamente grandes podría generar panes con textura arenosa, por lo que las partículas no deberían exceder las 200 µm. Las harinas con mayor tamaño de partícula reducen la capacidad de retención de gas de la masa y el batido, así como el volumen final del pan, efecto que se ha atribuido a diferencias en la estructura interna de la masa.

Cuando se añaden almidones a formulaciones sin gluten se obtienen panes con mayor volúmen y estructura de miga más cerrada, aunque la corteza es más clara, ya que las reacciones Maillard se reducen debido a la falta de proteínas. La adición de almidón genera panes con una miga más suave, cohesiva y elástica. Estas conclusiones se pueden aplicar a panes basados en harina de arroz^{14,15} y otras harinas de cereales¹⁶. El tipo de almidón también influye en la calidad del pan, pero las conclusiones obtenidas mediante diferentes estudios son, en ocasiones, contradictorias. Así, mientras Sánchez y cols.¹⁵ obtuvieron una formulación óptima utilizando contenidos de almidón de maíz más altos que de almidón de mandioca; Onyango y cols.¹⁶ observaron que los panes basados en almidones de mandioca y arroz presentaban mejor textura de miga, en contraste con los de almidón de maíz o patata. En consecuencia, diferentes mezclas de harina y almidón deberían optimizarse de acuerdo con la formulación básica específica.

Durante los últimos años la investigación se ha enfocado sobre el estudio sobre materias primas novedosas, tales como pseudocereales (cultivos andinos, como la quinoa y el amaranto, y el alforfón o trigo sarraceno) y cereales menores, como el teff. Por lo general estas harinas son nutricionalmente más balanceadas que las harinas y almidones de maíz o arroz, especialmente si se trata de harinas integrales. Además tienen mayores contenidos de proteínas, fibra, vitaminas y minerales¹⁷⁻¹⁹, pero su disponibilidad en el mercado es limitada y su precio más elevado que el de la mayoría de harinas y almidones disponibles actualmente. Debido a lo anterior, su uso comercial se restringe a suplementar formulaciones basadas en almidón y harina de arroz. Las harinas de alforfón, o trigo sarraceno, bien como ingrediente principal, bien combinado con almidón²⁰ o harina de arroz^{21,21}, o bien como suplemento de otras mezclas²³, están entre las harinas más utilizadas para esta finalidad. El amaranto y la quinoa, ambos provenientes de América del Sur, también han atraído la atención, al igual que el teff, un cereal menor cultivado en Etiopía. Generalmente, la incorporación de estas harinas afecta al proceso panario²⁴ y a las propiedades sensoriales⁷, como el color y el sabor.

La harina de soja también ha sido considerada para la elaboración de panes sin gluten, bien como suplemento²⁵ o como ingrediente principal, de la misma forma que otras harinas provenientes de leguminosas, tales como la harina de garbanzo²⁷. La harina de soja contiene mayores cantidades de isoflavonoides y proteínas que las harinas de cereales. Estas harinas suelen modificar la estructura interna y propiedades reológicas de la masa, lo que afecta a la textura y el volúmen de las piezas y a las propiedades sensoriales del pan. No obstante el efecto dependerá de la formulación utilizada. Así, cuando se utiliza como componente principal, es preferible la harina de soja con pretratamiento térmico (y como consecuencia con menor actividad de lipoxigenasa) ya que se reduce el sabor a leguminosa cruda típico de estas harinas. No obstante, la calidad de pan disminuye y su apariencia sufre un efecto negativo al compararla con la harina de soja sin tratar. Por su parte el volúmen específico del pan hecho con harina de soja como ingrediente principal suele ser menor que el del pan hecho con harina de arroz y/o almidón. Otra materia prima con interés es la harina de castaña²⁸, la cual también es utilizada como suplemento a almidones u otras harinas sin gluten. Esta harina no debería exceder del 30% de la fórmula, ya que niveles más elevados podrían afectar negativamente a la calidad de pan. Además, la harina de castaña tiene un sabor caracterís-

tico y podría cambiar bastante las propiedades sensoriales y la aceptación del producto final por parte del consumidor.

2.2. Sustitutos del Gluten

En la harina de trigo, la red de gluten formada durante el amasado, se sitúa rodeando a los gránulos del almidón y confiere cohesión al sistema, posibilitando la retención de gas en la fermentación. Durante el procesado del pan sin gluten, las proteínas presentes en harinas libres de gluten no son capaces de formar esta red, por lo que deben agregarse otros productos de modo que las masas o los batidos puedan retener gases y expandirse. De este modo, Jongh²⁹, en uno de los primeros estudios sobre las masas sin gluten, ya había sugerido que cualquier agente que uniera los gránulos de almidón podría favorecer estos procesos; con este fin, se utilizó glicerol monoestereato. Actualmente, esta función es llevada a cabo por los hidrocoloides. Estos se clasifican nutricionalmente como fibras solubles y poseen una elevada capacidad de absorción de agua. Durante el mezclado se combinan con el agua y forman una fase continua que rodea las partículas de la harina, de manera que se incrementa la cohesividad de la masa. No obstante, no todos los hidrocoloides se comportan del mismo modo y sus efectos sobre las características del pan son distintos. Se ha propuesto el uso de la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) para obtener pan sin gluten con características físicas apropiadas^{9,30}. Se prefiere este hidrocoloide a otros hidrocoloides, ya que puede formar geles termo-reversibles al ser calentado, debido a los mayores volúmenes específicos resultantes de pan y a sus mejores características sensoriales³¹⁻³⁴. La utilización de goma de xantano (GX) también se halla muy extendida entre las tecnologías para elaborar alimentos sin gluten. Acs y cols.^{35,36} han estudiado el efecto de diferentes hidrocoloides sobre las propiedades del pan de almidón de trigo y lograron mayores volúmenes al usar GX frente a goma guar, goma de algarrobo o tragacanto. Actualmente, la mayor parte del pan sin gluten comercial, así como las formulaciones utilizadas en diferentes trabajos de investigación, contienen uno de estos dos hidrocoloides. No obstante, los resultados de su incorporación suelen ser contradictorios en la literatura. Mientras la GX incrementa el volumen específico en algunos estudios³⁵⁻³⁷, de acuerdo con otros investigadores no modifica este parámetro³¹. Estas diferencias pueden surgir de la adición de diferentes cantidades de hidrocoloides o del tipo de harina utilizado³³, así como de las diferencias en la formulación y proceso de panificación en cada investigación individual. Otro efecto importante de los hidrocoloides es que modifican la estructura alveolar del pan. La GX y la carboximetilcelulosa (CMC) son los que producen una estructura más fina y un mayor número de alveolos frente a agar o MC (metilcelulosa)³⁹. Estos cambios en la consistencia de la miga también modifican su estructura.

Ya que los hidrocoloides aumentan la consistencia de las masas y los batidos, debería agregarse una elevada cantidad de agua durante la elaboración del pan. En realidad, la mayor parte de los investigadores efectúan esta corrección, pero el modo en que esta se lleva a cabo es muy variable y no siempre está bien explicado. Este punto puede ser una de las razones para explicar las diferencias observadas en el efecto de los distintos hidrocoloides en la literatura. Entre los hidrocoloides más

comunes, la GX genera masas y batidos de mayor consistencia^{31,37,38}, por lo que debería agregarse una mayor cantidad de agua. La utilización de diseños de superficie de respuesta, y en particular el nivel de hidrocoloides y cantidad de agua puede ser útil para optimizar las formulaciones de pan sin gluten^{9,40,41}. Algunas veces se agregan otros hidrocoloides, como la CMC, goma guar, goma de algarrobo o psyllium, junto con GX o HPMC, para mejorar la textura del pan o su vida útil (no para incrementar el volumen específico de pan), ya que retienen niveles elevados de agua, afectan a la retrogradación de almidón y retrasan su endurecimiento. En este contexto el psyllium es una alternativa interesante, ya que es un producto natural obtenido de la molienda de cáscaras de semilla de *Plantago ovata*, mejora las propiedades sensoriales del pan y presenta propiedades beneficiosas frente a los problemas de estreñimiento⁴², así como un efecto complementario con el HPMC⁴³.

2.3. Proteínas y Fibras

La utilización de almidón y harinas con bajos contenidos de proteína y fibra para la elaboración de productos de panadería sin gluten, resulta en una baja calidad nutricional de estos productos en contraste con homólogos con gluten. Como consecuencia, se ha producido un incremento en las investigaciones sobre el efecto de las proteínas y la incorporación de fibras en panes sin gluten durante los últimos años. Tanto las fibras como las proteínas mejoran las propiedades nutricionales del pan y poseen un importante papel funcional.

Entre las proteínas propuestas para la elaboración de pan sin gluten son particularmente notables las proteínas lácteas (proteína séricas y caseínas)⁴⁴⁻⁴⁸, las ovoproteínas^{45,46,49-51} y las proteínas de soja⁴⁶⁻⁵¹. También se han estudiado proteínas de otras diversas fuentes, tales como colágeno o altramuz⁴⁹, guisantes^{48,49,51}, levaduras, o inclusive proteínas estructuradas a partir de maíz⁵³ o suero lácteo⁵⁴. Estos estudios presentan resultados contradictorios debido a la utilización de diferentes formulaciones o diferentes niveles de incorporación de proteínas. En general, puede decirse que la adición de proteínas genera cortezas más oscuras⁴⁴, debido a las reacciones Maillard producidas durante el horneado, reduce la densidad alveolar⁴⁹ y modifica la reología de la masa. También se ha observado que la utilización de proteínas animales, especialmente ovoproteínas, genera panes con un mayor volumen específico en contraste con las proteínas vegetales, tales como las proteínas de la soja^{46,49,50}. Además la mayor parte de los estudios sobre la incorporación de proteínas animales observan un incremento en el volumen de las piezas, mientras que las proteínas vegetales no modifican este parámetro o, en todo caso, lo reducen. Estos resultados podrían relacionarse con el efecto de estas proteínas sobre la reología de las masas o batidos, ya que las proteínas animales (ovoproteínas) reducen la consistencia de los batidos, mientras que las proteínas vegetales (proteínas de soja) la aumentan⁴⁹⁻⁵¹. Este efecto sobre la consistencia de los batidos podría, a su vez, ser explicado en función de cambios en la estructura de la masa. La relación entre consistencia de masa y volumen de pan ya ha sido descrita en otros estudios⁵⁷.

El efecto de la adición de fibra así como el de proteínas, dependerá del tipo de fibra utilizada. Los

estudios sobre adición de fibra en panes sin gluten se han enfocado principalmente en el efecto de un solo tipo de fibra y fructo-oligosacáridos^{49,58,59}, almidón resistente o fibras de cereal^{61,61}. Los resultados son una vez más contradictorios, y mientras en algunos casos el enriquecimiento de fibras reduce el volumen del pan, en otros se observa el efecto contrario. No obstante, no puede hacerse una comparación directa entre los distintos estudios debido a las diferentes formulaciones, el procedimiento de elaboración del pan, la corrección de la cantidad de agua y la cantidad de adición de fibra utilizada en cada caso. Hager y cols.⁶³ compararon el efecto de la inulina y los β -glucanos de avena, pero ambas fibras fueron agregadas en cantidades diferentes. En general, la adición de fibras solubles, tales como inulina, povidexosa o nutriose, mejora la calidad del pan al aumentar el volumen y producir una corteza más oscura, mientras que las fibras insolubles, tales como las celulosas, normalmente reducen el volumen del pan. No obstante, estudios inéditos llevados a cabo por Gómez “coautor” demuestran que, entre las celulosas, aquellas con un menor tamaño de partículas y forma más alargada permiten la producción de piezas con mayor volumen y menor firmeza. El efecto general de las fibras insolubles puede relacionarse con el hecho de que permanecen intactas durante la mezcla e interrumpen la estructura de la masa. Esta interrupción es menos importante cuando se utilizan fibras alargadas. Las fibras solubles, por otro lado, interactúan con agua, hidrocoloides e ingredientes solubles en la fase continua, aumentan su cohesión, y, como consecuencia, la capacidad de retención del gas. Estos estudios demuestran que las fibras cambian la estructura de las masas y batidos, y modifican su reología, de manera que aquellas fibras que reducen la consistencia incrementan el volumen específico de los panes. Adicionalmente, en el caso de fibras como la povidexosa y la inulina se produce una hidrólisis parcial durante la elaboración del pan, y los azúcares simples generados dan lugar a cortezas más oscuras a través de las reacciones de Maillard.

2.4. Aditivos y Enzimas

Los aditivos y enzimas utilizados en la elaboración del pan de trigo suelen actuar sobre el almidón o sobre las proteínas y la red de gluten. Las que actúan sobre el almidón también pueden ser apropiados para producción de pan sin gluten, ya que su funcionalidad será similar. Por lo tanto, las alfa-amilasas que producen azúcares fermentables a partir del almidón, o las enzimas y aditivos que retrasan la retrogradación del almidón (efecto anti-envejecimiento), tales como ciertas amilasas o emulgentes (como monoglicéridos) también son aptos para elaboración de pan sin gluten.

Por otro lado, los aditivos que actúan sobre la red de gluten no necesariamente poseen un efecto positivo sobre los panes sin gluten. Así, se ha demostrado que DATEM o SSL (emulsificantes utilizados para fortalecer masas de gluten) no tienen el mismo efecto sobre los sistemas libres de gluten, no modifican el volumen de las piezas, e incluso reducen la calidad del pan al generar migas más duras, una estructura alveolar más basta⁶⁴, o muy ligeros incrementos de volumen⁶⁵. No obstante, otros emulsificantes con mejores propiedades espumantes, tales como monoglicéridos o lecitinas, permiten incrementar el volumen de los panes⁶⁵.

A diferencia de lo que ocurre en los panes de trigo, se han obtenido buenos resultados con el uso de proteasas en los sistemas libres de gluten⁶⁶. Sin embargo estos resultados pueden variar en función del tipo y reactividad de proteasa empleada⁶⁷, así como con el tipo de harina utilizada⁶⁸. Así, en este último estudio el efecto de la proteasa es negativo. Parece que la dosis de aplicación de la enzima también afecta la calidad del pan.

Se ha estudiado el uso de la transglutaminasa en masas sin gluten^{69,70}, a veces en combinación con proteínas exógenas^{45-48,51,71}. A pesar de que los resultados son variables y dependen del sustrato, el nivel de transglutaminasa, y la formulación utilizada, se ha demostrado que la transglutaminasa actúa sobre las proteínas incrementando su peso molecular y modificando las propiedades reológicas de las masas^{48,51,69}. A pesar de estos hallazgos, la mejora de la calidad de panes sin gluten es poco importante, incluso puede producirse un descenso de la calidad. Esto demuestra que la responsable del incremento de volumen durante la fermentación de masas sin gluten no es solo la creación de una red continua de proteínas, y que sus propiedades también son altamente relevantes. También se ha propuesto la utilización de glucosaoxidasa (enzima capaz de incrementar los puentes disulfuro entre moléculas de proteínas) para incrementar el volumen del pan de arroz⁷², pero, nuevamente, el efecto de esta enzima depende de la harina utilizada⁶⁸, y en algunos casos no afecta significativamente al volumen del producto⁶⁴.

Los almidones o harinas con un pretratamiento hidrotérmico (proceso durante el cual se gelatiniza el almidón) presentan una elevada capacidad de absorción de agua y buenas propiedades espesantes, incluso a temperatura ambiente. Su efecto es, por lo tanto, comparable al de los hidrocoloides, y se ha sugerido su utilización para mejorar la calidad de los panes sin gluten, incrementando su volumen y extendiendo su vida útil^{73,74}, aunque los resultados todavía son variables y es importante ajustar la humedad de la masa para lograr propiedades reológicas óptimas.

También se han propuesto algunas enzimas que no son empleadas en el proceso de elaboración de pan de trigo para mejorar los panes sin gluten. Tal es el caso de la ciclodextrina glicosiltransferasa (CGTasa)⁷⁵. Su efecto positivo sobre el volumen específico de los panes podría relacionarse con la reducción de la consistencia de las masas, debido a la hidrólisis del almidón. Esta enzima, al igual que las amilasas, ha sido empleada para reducir el endurecimiento en panes sin gluten⁷⁶, probablemente uno de los problemas más importantes de estos productos. Ambas enzimas hidrolizan el almidón y reducen su retrogradación. De forma similar, la utilización de lipasas, las cuales producen emulgentes *in situ*, reduce este fenómeno⁷³, ya que los emulgentes también presentan propiedades anti-endurecimiento.

2.5. Procesado

Como se mencionó anteriormente, la incorporación de hidrocoloides incrementa la consistencia de las masas y batidos, y la cantidad de agua necesaria. Por lo tanto, el nivel de humedad en las formulaciones suele ser superior al 80%, y en la mayoría de los casos incluso superior al 100%,

mientras que el nivel normal de agua en masa de harina de trigo es inferior a 60%. En general se confirma que mayores cantidades de agua conducen a la elaboración de panes con mayores volúmenes específicos^{11-13,30}, pero se pueden presentar grandes oquedades entre corteza y miga cuando la incorporación de agua es demasiado elevada o se alarga la fermentación de la masa. Además los panes con hidratación excesiva presentan una estructura final débil, que es difícil de cortar sin que se rompa. Una mayor cantidad de agua también requiere una modificación en el proceso de horneado. Así, en el caso de la producción de pan sin gluten, el horneado es más prolongado y normalmente se realiza a temperaturas inferiores a las usadas para panes de trigo convencionales.

Se sabe que existe una relación inversa entre la consistencia de las masas o batidos y el volumen de los panes sin gluten⁵⁷. Así, puede obtenerse una consistencia menor adicionando mayores cantidades de agua, pero también utilizando aceite en la formulación. La incorporación de aceite produce panes con mayor volumen, así como miga más cohesiva y jugosa. Vale la pena tener en cuenta este efecto, ya que la baja cohesividad y textura excesivamente seca son defectos típicos de los panes sin gluten.

Durante la elaboración del pan, el proceso de amasado es esencial para el desarrollo de la red de gluten, ya que es en este punto cuando se genera la energía necesaria para este proceso. Por lo tanto, el tiempo de amasado se define en función del desarrollo del gluten. En la elaboración de pan sin gluten, el proceso de mezclado de los ingredientes es diferente debido a dos motivos principalmente. En primer lugar, las formulaciones sin gluten presentan una consistencia inferior que las de formulaciones de trigo y son consideradas batidos en lugar de masas, por lo que los accesorios para el mezclado también son diferentes. En segundo lugar, la mezcla de ingredientes es más rápida que en sistemas convencionales. No obstante, un tiempo de mezclado muy breve puede conducir a volúmenes inferiores⁷⁷, ya sea porque la levadura no se adapta al medio, o porque la incorporación y distribución del aire en la masa resulta insuficiente. Tras el mezclado, la masa se coloca en moldes y fermenta. La fermentación es crítica en la producción de pan sin gluten, ya que la estructura de esta masa es, por lo general, más débil que la de la masa de trigo, y una fermentación prolongada podría producir un colapso y una reducción de volumen de masa, especialmente en masas con excesivos contenidos de agua^{12,13}. Esto daría lugar a panes planos, o panes que presentan una depresión en la región central, con bajo volumen y estructura de alveolar más grosera. Por lo tanto, el tiempo de fermentación debería definirse para cada formulación y proceso de elaboración de panes, considerando la cantidad de levadura y temperatura de fermentación. Por regla general, el tiempo de fermentación para sistemas sin gluten es más breve que para las formulaciones de trigo convencionales. El comportamiento de la masa durante la fermentación puede ser estudiado mediante un reofermentómetro, un instrumento utilizado para estudiar sistemas de gluten, evitando la utilización de pesas sobre las masas, debido a la debilidad de las masas sin gluten.

2.6. Masa Madre

Este proceso consiste en fermentar una mezcla de harina y agua, durante un período de tiempo relativamente prolongado, a una temperatura moderada. Esta técnica, empleada casi desde el principio de la historia del pan, permite que los microorganismos presentes en la harina de manera natural, como bacterias acidolácticas y levaduras, fermenten la masa. Para facilitar la producción continua, los panaderos empezaron a guardar una porción de masa fermentada para actuar como semilla, o pie, en masas posteriores. Este procedimiento continuó hasta el siglo XIX. Durante la fermentación las bacterias acidolácticas asociadas con el cereal (LAB), producen ácidos láctico y acético, normalmente reduciendo el pH a menos de 5, y las levaduras producen CO₂ y etanol. Estas condiciones favorecen la activación de enzimas beneficiosas para elaboración del pan. Se sabe que, en panes de trigo y cebada, esta técnica mejora el volumen, la textura, el sabor, el valor nutricional y la vida útil del pan, ya que retrasa su endurecimiento y protege al pan contra el enmohecimiento^{78,79}.

Aunque la aplicación de masa madre fue reemplazada durante el siglo XIX por otras tecnologías que redujeron el tiempo de producción y, por lo tanto, costos globales, su uso ha vuelto a ser popular durante la última década debido a los beneficios nutricionales y tecnológicos obtenidos mediante este procedimiento. En el pan sin gluten la incorporación de masa madre en la formulación también ha dado lugar a panes con mejores propiedades tecnológicas y nutricionales. El pH puede activar las enzimas amilolíticas y proteolíticas. Así, Moore y cols.⁸⁰ han demostrado una reducción en el tamaño de las proteínas y el almidón tras 24 horas de fermentación de la masa, obteniendo panes más suaves y con una tasa de endurecimiento menor. En el caso de panes basados en avena, se ha observado un mayor volumen específico al utilizar masa madre⁸¹. Este efecto se ha atribuido a la reducción en la consistencia de la masa, producida por un cambio en el perfil de viscosidad del almidón, probablemente causada por la acidez y la hidrólisis enzimática. Como resultado del cambio en el comportamiento del almidón, se produce un gel más fuerte durante el calentamiento, lo que incrementa la estabilidad de la masa para obtener panes con mejor textura⁸².

Otro efecto del cambio en el pH es la activación de fitasas que degradan el ácido fítico, normalmente presente en la mayoría de harinas de cereales, como se ha descrito para panes elaborados con harina de sorgo⁸³. El ácido fítico forma complejos con algunos minerales presentes en la masa, reduciendo su biodisponibilidad. La masa madre, por tanto, posee beneficios nutricionales, ya que favorece la disponibilidad de estos minerales. La producción *in situ* de exo-polisacáridos que actúan como hidrocoloides es otra posible ventaja de las masa madre en panes sin gluten que es objeto de una intensa investigación^{84,85}. La importancia de los hidrocoloides en la producción de pan sin gluten ya ha sido comentada previamente. Además, al aplicar masas madre se ha observado una reducción en la tasa de deterioro por enmohecimiento, mejorando la vida útil de los panes⁸⁶.

Hasta la fecha la mayoría de los estudios llevados a cabo se han enfocado en la flora autóctona presente en el sistema, con la clara ventaja de que esta está adaptada al medio. Por lo tanto, esta

flora muestra una clara ventaja competitiva frente a otras cepas. No obstante, la industria prefiere obtener masa madre utilizando iniciadores comerciales que favorecen la producción de panes de calidad constante. Es necesaria la selección de cepas de LABs y levadura para ser utilizadas como iniciadoras, con el fin de asegurar la calidad constante del producto final. En particular, dicha selección debe orientarse a detectar aquellos microorganismos adaptados al sustrato y capaces de dominar el proceso de fermentación, inhibiendo el desarrollo de contaminantes o cepas autóctonas⁸⁷.

3. Repostería sin Gluten

3.1. Elaboración de Bizcochos

La elaboración de bizcochos se basa en la mezcla de ingredientes para producir un batido que finalmente será horneado. Durante el horneado se observa un incremento en el volumen del batido, en parte debido a la expansión de las burbujas de gas presentes en la masa, como consecuencia del aumento en la temperatura, y en parte debido al efecto de los agentes leudantes (en caso de que estén presentes en la formulación).

El incremento en volumen se produce durante las primeras etapas del horneado hasta la gelatinización del almidón, fenómeno que incrementa la rigidez de la estructura y dificulta, o inclusive imposibilita, la expansión posterior.

El batido es una emulsión compuesta de aire (fase discontinua) en una mezcla de ingredientes (fase continua). En este sistema, la incorporación de aire es fundamental, tanto como su distribución, así como la viscosidad de la fase continua que rodea las burbujas de gas. En consecuencia, cuanto menores sean las burbujas de gas, mayor será su estabilidad en el batido y el volumen final del bizcocho. Además, la viscosidad de la fase continua debería ser lo suficientemente alta como para evitar la coalescencia de las burbujas y, simultáneamente, permitir el incremento de volumen durante el horneado. Existe una enorme variedad de formulaciones de bizcochos que conducen a productos muy diferentes. Pero en general, pueden dividirse en dos grupos. El primero incluye formulaciones sin grasa o aceites añadidos, y habitualmente sin agente impulsor, en las que el bizcocho se genera incorporando una gran cantidad de pequeñas burbujas de gas durante el batido. En este grupo podemos situar los bizcochos más esponjosos y secos, en los que es clave la función de la albúmina de huevo como agente espumante. El segundo grupo está compuesto por bizcochos más densos y jugosos en los que es fundamental la presencia de aceite o grasa. En estos casos, es frecuente la utilización de un agente impulsor, o levadura química, durante el horneado.

Vale la pena recordar que el gluten no posee un papel clave en la producción de bizcochos y que, en la mayoría de los casos, no se desarrolla del todo una red de gluten. En los batidos los accesorios utilizados para el mezclado de los ingredientes no llegan a aplicar suficiente fuerza mecánica como para desarrollar la red de gluten. Por otro lado, el almidón presente en el batido posee una función

básica, ya que confiere viscosidad. Este, a su vez, estabiliza la emulsión y tras la gelatinización, confiere la estructura, lo que impide que la masa colapse. Por lo tanto, la elaboración de bizcochos sin gluten es, en la mayoría de los casos, relativamente simple. Es un asunto de intercambiar harina de trigo por otra harina sin gluten, como harina de arroz o maíz, o por un almidón. No obstante, algunos factores deberían tomarse en consideración al realizar esta sustitución. En primer lugar, las proteínas presentes en la harina de trigo, aunque no poseen propiedades funcionales, actúan en las reacciones Maillard, produciendo el típico color marrón de la superficie del bizcocho. Si se sustituye la harina de trigo por almidón, el color del producto probablemente no será satisfactorio, y se modificará la viscosidad del batido. Por lo tanto, su capacidad de obtener una buena emulsión con aire también se verá alterada. Cuando se incrementa el contenido de almidón en el batido, y en consecuencia, se reduce el contenido de proteínas, la viscosidad del sistema también cambia, junto con la capacidad de producir emulsiones apropiadas⁸⁸. Otro aspecto a considerar es la temperatura de gelatinización del almidón, ya que este parámetro varía de acuerdo con la fuente botánica del almidón. El final de la expansión del batido en el horno depende de la temperatura de gelatinización. Esta temperatura de gelatinización también dependerá de otros factores, tales como el tipo o cantidad de azúcar presente en la formulación.

Normalmente la formulación de los diferentes bizcochos se optimiza para la utilización de harina de trigo, por lo que su sustitución con almidón debería acompañarse con la adición de algún tipo de proteína (vegetal o animal) o la completa reformulación de la receta. El resultado final dependerá del tipo y cantidad del almidón y proteínas empleadas⁸⁸. Las proteínas normalmente absorben más agua que el almidón y esto debería considerarse cuando sustituyen al almidón de trigo. Existe mayor disponibilidad de agua en el sistema por lo que la masa final será más húmeda. Adicionar proteínas es una estrategia útil cuando se utilizan harinas tales como la harina de arroz, en la que el contenido de proteína es inferior al de la harina de trigo⁸⁹. Estos investigadores han demostrado que la cantidad de proteína que se agrega es importante, como también lo es el tipo de proteína. En este contexto, obtuvieron mejores resultados al incorporar proteína animal (caseínas y proteínas de huevo) que al incorporar proteínas vegetales (soja y guisantes).

Cuando se sustituye harina de trigo por harina sin gluten, es necesario considerar el efecto de esta sustitución en la calidad sensorial, ya que las distintas harinas poseen un color y sabor muy diferentes. La harina de arroz suele tener un sabor neutro y color pálido, lo que la hace similar a la harina de trigo. La harina de maíz posee un sabor más fuerte y su color es amarillento, lo que influye en las características del producto final. En países occidentales se prefiere la utilización de harina de arroz en sustitución de harina de trigo. No obstante, las preferencias de los consumidores pueden diferir de un país a otro con base en distintos aspectos culturales y tradicionales, y la utilización de harinas diferentes, como las de maíz o sorgo, no solo es posible sino que a veces es aconsejable. La selección del agente impulsor también es importante, ya que debe producir gases cuando el batido tiene la estructura necesaria para retenerlos y expandirse. Este punto crítico depende de la temperatura de gelatinización del almidón. Como regla general, las diferencias en la temperatura de gelatinización para el almidón de trigo y las harinas sin gluten no son muy importantes, pero cualquier problema que pueda surgir durante el desarrollo de estos productos

debería poder resolverse cambiando el agente impulsor o la cantidad de azúcar en la formulación.

Uno de los temas más importantes al escoger el tipo de harina sin gluten para la elaboración de bizcochos probablemente sea el tamaño de partícula. El tamaño de partícula de la harina suele ser menor de 200 μm , pero el tamaño de partículas es mayor en el caso del maíz y el arroz, granos más duros y que requieren más energía en el proceso de molienda. Los granos de arroz de variedad japónica por lo general son más suave que los de la indica, y producen harinas más finas. Cuando se utiliza harina de trigo para la elaboración de bizcochos se prefieren harinas más finas, ya que estas permiten obtener una emulsión más estable, con mayor cantidad de burbujas de menor tamaño. Al utilizar harinas gruesas, tales como las de arroz y maíz, las emulsiones son inestables, por lo que se obtienen mejores resultados si se eliminan las partículas mayores (superiores a 100-140 μm). El tamaño óptimo de partícula dependerá del tipo de bizcocho, que se desea elaborar. Así es preferible utilizar harinas más finas para bizcochos esponjosos y harinas algo más gruesas para los más jugosos⁹⁰. También es posible someter esta fracción de harina a un proceso de remolituración, pero esto presenta el inconveniente de que puede generar un mayor contenido de almidón dañado, afectar a la calidad del producto final.

Cuando se sustituye harina de trigo por una harina sin gluten adecuada pueden utilizarse los mismos aditivos que se emplean para bizcochos basados en trigo, con resultados satisfactorios al estabilizar la emulsión⁹¹, reduciendo el enmohecimiento o mejorando la viscosidad del batido (hidrocoloides y almidones modificados). También se ha propuesto la utilización de harinas extruidas con una elevada capacidad espesante⁹². La calidad de los bizcochos podría mejorar al utilizar una pequeña cantidad de hidrocoloides, tales como la GX⁹¹⁻⁹⁴. No obstante, estos no son indispensables y su adición no debe exceder del 0.5-1%.

Las recomendaciones hechas en esta sección también son aplicables a la producción de magdalenas, ya que éstas son muy similares a los bizcochos aun cuando se hornean en moldes más pequeños. No obstante, en productos en los que la viscosidad de la masa líquida es mayor, la fuerza mecánica aplicada durante la mezcla puede llegar a desarrollar la red de gluten (en productos basados en gluten). Para sus homólogos sin gluten podría ser útil seguir las mismas recomendaciones dadas para panes sin gluten, incluyendo la adición de hidrocoloides en la formulación.

3.2. Otros Productos Obtenidos a Partir de Masas Batidas

Existe una gran cantidad de productos elaborados a partir de masas batidas, la cual es vertida en moldes y horneada, (como las pastas de té), colocada entre dos placas de metal calientes, (como las obleas o los gofres), o incluso calentada sobre una superficie metálica, como los creps. En estos productos de este tipo, al igual que ocurrió en el caso de los bizcochos, la red de gluten no llega a desarrollarse, y es fácil producir homólogos sin gluten. Es suficiente sustituir la harina de trigo por una harina sin gluten, tomando en consideración los aspectos mencionados para la elaboración de bizcochos. Para este tipo de productos, las diferencias en la temperatura de gelatinización no son

relevantes. No obstante, es importante seleccionar la harina sin gluten de acuerdo con el tamaño de partícula, ya que este parámetro ejerce gran influencia sobre la calidad del producto y sus propiedades sensoriales, como el sabor y el color. No es posible establecer recomendaciones generales debido a las diferencias entre productos, preferencias regionales, y diferentes harinas utilizadas en cada caso. Es esencial, no obstante, utilizar harinas con características regulares, como el tamaño de partícula, color y propiedades de almidón para obtener productos homogéneos de manera regular.

3.3. Elaboración de Galletas

Considerando que la mayoría de las galletas son elaboradas con masas en las que no se desarrolla la red de gluten, la elaboración de galletas sin gluten no debería ser una labor difícil. En este grupo de galletas, en las que no es importante la red de gluten, se hallan las galletas elaboradas con masas batidas, como las pastas de té (extrudadas) o las obleas (discutidas anteriormente en la sección 3.2), y aquéllas en las que se reduce el tiempo de amasado para evitar la formación de la red de gluten, como las galletas rotativas o las galletas de masa corta o masa quebrada. De nuevo es importante seleccionar cuidadosamente la harina sin gluten o el almidón a utilizar. Como en el caso de la elaboración de panes y bizcochos, varios investigadores han sugerido la utilización de diferentes harinas sin gluten, como harinas de arroz^{1,95}, alforfón^{1,96}, amaranto⁹⁷, teff⁹⁸ o guisantes⁹⁹, además de harinas y almidones procedentes de maíz y patata¹⁰⁰. Las características sensoriales y el tamaño de partícula son aspectos a tomar en consideración. Las harinas más finas facilitan la hidratación de las partículas, pero también afectan a la textura final de las galletas, ya que las propiedades de la masa/masa líquida también se modifican.

Además existen galletas en las que si se forma una red de gluten continua, tales como las galletas saladas (crackers), o las tipo María. En estos casos la masa debe laminarse y troquelarse y, en el caso de las crackers, fermentar. Estas galletas presentan una textura menos quebradiza debido a la formación de la red de gluten.

Las galletas tipo María sin gluten no suelen incluir sustitutos de gluten (como hidrocoloides) en su formulación, y están elaboradas del mismo modo que otras galletas sin gluten, sin desarrollo de esta red, con forma circular o rectangular, similar a sus homólogas basadas en trigo, pero con una textura ligeramente diferente. Si se agregan hidrocoloides debe corregirse la cantidad de agua en la formulación, ya que las galletas son productos con baja humedad (normalmente menos del 5% y habitualmente menos del 2% para galletas tipo María) y la adición de grandes cantidades de agua puede tener un efecto negativo durante el proceso de secado (horneado). Por lo tanto, agregar hidrocoloides hace más difícil reducir la humedad y obtener la textura típica de este producto.

3.4. Elaboración del Hojaldre

La elaboración de hojaldre se basa en la formación de múltiples capas intercaladas de masa y grasa, de manera que cuando se evapora el agua, durante el horneado, se obtiene una estructura laminar. La primera etapa en la elaboración del hojaldre consiste en preparar la masa (similar a la masa de pan), colocar una porción de grasa en su interior y recubrirla. El producto se lamina posteriormente y se realizan pliegues sucesivos para incrementar la cantidad de capas. En primer lugar, la grasa debería presentar un elevado punto de fusión que impida que se derrita durante el laminado, ya que si esto sucediera se mezclaría con la masa, lo que no es deseable. En segundo lugar, la masa debe ser cohesiva, extensible (fácil de laminar) y poseer una baja adhesividad. Este tipo de masa requiere de una red de gluten que le confiera cohesión y permita que la masa pueda estirarse sin romperse. De esta manera, para la formulación del hojaldre sin gluten debería incorporarse un sustituto de gluten. Para hojaldre pueden utilizarse los mismos hidrocoloides utilizados para elaborar el pan sin gluten, tales como la goma xantano, goma guar, goma de garrofín, o derivados de celulosa. No obstante, tras la adición de hidrocoloides este tipo de masa tiende a ser demasiado pegajosa. Para reducir esta pegajosidad es importante limitar la incorporación de agua. En ocasiones también es importante que la masa no sea demasiado consistente, de modo que pueda laminarse fácilmente. Una alternativa es la utilización de aceite en la formulación. También se puede espolvorear harina sobre la superficie de la masa, o permitir que el aire fluya para secar la superficie de la masa y reducir su pegajosidad. No obstante, a pesar de estas técnicas alternativas, no es posible laminar hojaldre sin gluten de la misma forma en que se consigue con harina de trigo. Los productos finales presentan una textura diferente, son menos crujientes y poseen capas más gruesas.

Algunos hojaldres incluyen levadura en su formulación y se fermentan tras el laminado. Durante la fermentación se registra un incremento en el volumen de las unidades. Los croissants son un ejemplo de lo anterior, para los que se aplican las recomendaciones dadas para la elaboración de pan sin gluten en lo referido a la selección de harina/almidón, sustitutos de gluten y aditivos. La pegajosidad debería reducirse al mínimo y la extensibilidad debería mejorarse, lo que facilitaría el proceso de laminado.

4. Elaboración de Pasta

La pasta es, probablemente, el producto con base en cereales más simple. Desde el punto de vista de su formulación, consiste en una mezcla de harina o semola con agua, pudiendo contener huevo. En lo referido al procesado, la pasta se prepara mediante hidratación, mezclado, formado/cortado y secado. La pasta puede clasificarse de acuerdo con uno de los siguientes parámetros: contenido de agua o proceso de formado. De acuerdo con el contenido de agua el producto final puede ser fresco o seco. En lo referente a la tecnología empleada para darle forma, la pasta puede ser extruída o laminada. También puede ser corta, larga o rellena. Esta sección se centrará en la pasta seca extrusionada, ampliamente consumida en todo el mundo.

Para producir una pasta que se cocine adecuadamente es necesario utilizar harinas con un alto contenido proteico y una fuerte red de gluten. Durante la cocción de la pasta se producen dos fenómenos. En primer lugar, la red de gluten, desarrollada durante el amasado, se hidrata y, al elevarse la temperatura, coagula y se vuelve insoluble, creando así una fuerte red que atrapa los gránulos de almidón. En segundo lugar la difusión de agua hacia el interior de la pasta y el aumento de la temperatura provocan la gelatinización del almidón. Durante esta parte de la amilosa se lixivia hacia el exterior del gránulo de almidón, se difunde hacia la superficie de la masa y, en caso de que la estructura de la pasta sea inadecuada, también al agua de cocción. Una vez en la superficie de la pasta, la amilosa es responsable del incremento de pegajosidad, con un efecto adverso sobre la calidad sensorial.

La gelatinización del almidón y la coagulación de las proteínas son fenómenos competitivos, ya que suceden en el mismo rango de temperaturas y ambos dependen de la disponibilidad de agua¹⁰¹. Cuanto más rápida sea la coagulación de las proteínas, menos se hinchará el almidón y menor será la cantidad de amilosa que se filtra desde los gránulos, asegurando una textura más firme y una menor pegajosidad del producto final. La pasta con buenas propiedades tecnológicas presenta alta resistencia al exceso de cocción, textura firme, baja pegajosidad y una escasa pérdida de materia orgánica en el agua de cocción. Estos parámetros son de vital importancia cuando la pasta es escogida por los consumidores.

En la pasta sin gluten, que carece de la red proteínica, la función estructural puede ser asumida por el almidón. La retrogradación de la amilosa solubilizada durante la gelatinización implica la formación de una doble hélice, estabilizada mediante uniones de hidrógeno, formando así una fase continua alrededor de los gránulos de almidón hinchados y deformados. Esta amilosa retrogradada es estable térmicamente y solo puede disociarse bajo temperaturas superiores a 100°C. El conocimiento empírico de este fenómeno ha sido utilizado en Asia durante largo tiempo, donde el proceso tradicional para obtener tallarines basados en arroz incluye múltiples y complejos, pasos de calentamiento y enfriamiento de la harina de arroz que conducen a la pre-gelatinización, y posterior retrogradación del almidón. Esta harina se mezcla con el resto de la harina y el agua para completar la elaboración de la pasta. De esta manera se genera una red tridimensional con propiedades viscoelásticas¹⁰². Por lo tanto, la harina ideal para la producción de pasta sin gluten debería presentar una elevada tendencia a la retrogradación, tal como ocurre con los almidones con alto contenido en amilosa o los almidones de leguminosas. En esta última sección del capítulo se cubrirán las principales materias primas empleadas para elaborar pasta sin gluten.

Tradicionalmente la pasta sin gluten se elabora con harina de arroz. Se ha obtenido pasta con buenas propiedades tecnológicas utilizando esta harina^{103,104}. Suele funcionar mejor la harina procedente de granos largos ya que presenta un elevado contenido de amilosa. Además, los granos sancochados presentan buenas características para la elaboración de la pasta, ya que durante el sancochado el almidón se gelatiniza y se forman los complejos amilosa-lípidos. Estos cambios en la estructura del almidón limitan el hinchado de los gránulos y la pérdida de amilosa durante la cocción de la pasta.

En relación con la harina de maíz, Dexter y Matsuo¹⁰⁵ han demostrado que cuanto menor sea su contenido de amilosa menor será la calidad de la pasta oriental. No obstante, existe un término medio entre el contenido de amilosa y las características positivas de la harina, ya que un maíz con más de 40% de amilosa no gelatiniza completamente durante el calentamiento, y esto limita la posterior retrogradación¹⁰⁶.

Además del contenido de amilosa, se ha observado que el tamaño de partícula de la de harina, así como el pretratamiento hidrotérmico de la harina (calentamiento mediante microondas), ejercen una considerable influencia sobre la calidad de la pasta oriental¹⁰⁷. La presencia de grandes partículas retrasa la dispersión de proteínas y almidón durante el calentamiento en agua (en el pretratamiento). Las temperaturas más elevadas y la humedad durante el pretratamiento favorecen, en primer lugar, la gelatinización y retrogradación y, en segundo lugar, la interacción de las proteínas una vez que se haya alcanzado la temperatura de transición vítrea. No obstante, las proteínas de maíz presentan una estructura débil, incapaz de estabilizar el producto final. Por lo tanto, el papel fundamental se encuentra, nuevamente, en el almidón¹⁰⁷.

Como se ha comentado, los pseudocereales han recibido una gran atención debido a su elevado valor nutricional. Una rápida búsqueda a través de la literatura sugiere que el alforfón, o trigo sarraceno, es el pseudocereal favorito para la elaboración de pasta sin gluten. Se ha demostrado que este grano posee un efecto menos negativo sobre la calidad de la pasta, en contraste con la quinoa y el amaranto¹⁰⁸, en términos de firmeza, tiempo de cocción y pérdidas en la cocción. Al utilizar quinoa, y particularmente amaranto, se reduce sustancialmente la firmeza de la pasta, así como su tolerancia al exceso de cocción. No obstante, también se ha descrito que el alforfón favorece las reacciones de Maillard durante el proceso de secado, debido a su elevado contenido en lisina y azúcares reductores, lo que puede dar lugar a producto con un color marrónáceo poco agradable¹⁰⁹. Las características positivas de estas harinas también dependerán del pretratamiento al que hayan sido sometidas antes de la elaboración de la pasta. Así, la cocción mediante extrusión de una mezcla de harinas de arroz y amaranto, genera una pasta con buenos parámetros de calidad, mientras que la misma mezcla de harinas sin pretratamiento da lugar a pasta de baja calidad¹¹⁰.

El sorgo presenta algunas características interesantes, tales el hecho de que es una fuente de antioxidantes y compuestos reductores de colesterol³. Se ha sugerido que el principal factor que determina el buen rendimiento de este cereal es la dureza del grano¹¹¹, lo que determina el tamaño de partícula de la harina y la cantidad de almidón dañado. En general, se obtiene pasta con mayor firmeza y resistencia a la tracción cuando se utilizan harinas y granos con un endospermo duro sometidos a una molienda más intensa. Por lo tanto, estas harinas presentan un menor tamaño de partícula y mayor cantidad de almidón dañado^{112,113}. Liu y cols.¹¹² han comprobado que la calidad de la pasta no se relaciona con el contenido proteínico de la harina. Además, se ha demostrado que el pretratamiento de la harina, tal como el calentamiento mediante microondas, ejerce un efecto positivo sobre la calidad final de la pasta. También se ha estudiado la harina de sorgo céreo, pero las pérdidas en la cocción son demasiado elevadas y la pasta resultante presenta una elevada pegajosidad debido a la menor retrogradación del almidón tras el pretratamiento¹¹³.

Los aditivos más utilizados en la elaboración de pasta son, sin duda, los hidrocoloides y emulgentes. Con la adición de hidrocoloides se logra una mayor consistencia, así como una mayor firmeza y una sensación en boca más agradable^{114,115}. Por lo tanto, el efecto negativo de adicionar ingredientes funcionales a las harinas sin gluten de uso tradicional (maíz y arroz) puede ser compensado con la adición de hidrocoloides, los cuales confieren cohesión al conjunto. Así, la calidad nutricional de la pasta basada en maíz puede mejorarse mediante la adición de harina de avena y su efecto negativo es contrarrestado mediante los hidrocoloides obteniendo los mejores resultados con la adición de CMC y quitosano¹¹⁵.

Los emulgentes lubrican el sistema durante el proceso de extrusión, lo que incrementa la consistencia y reduce la pegajosidad de la pasta¹¹⁶. Además, cuando se añade el emulgente, se reduce la expansión del almidón y el lixiviado de la amilosa cuando se aplica calor¹¹⁷ y de ese modo, se reducen las pérdidas en la cocción¹¹⁸.

No obstante, a pesar del efecto positivo de la adición de emulgentes e hidrocoloides, algunos investigadores¹¹⁹ sugieren que los consumidores suelen asociar su presencia en la pasta sin gluten con alimentos más artificiales. En este contexto, la búsqueda de alternativas al seleccionar la materia prima y/o las condiciones de procesado parecen ser opciones útiles para poder obtener una pasta de buena calidad.

Como se ha comentado, el pretratamiento de las materias primas ejerce un efecto importante sobre la calidad de la pasta. Los tratamientos que inducen gelatinización y subsecuente retrogradación, tales como el sancochado¹²⁰, la pregelatinización¹²¹, y los tratamientos hidrotérmicos¹²², entre los más importantes, favorecen el desarrollo de la estructura de la pasta, incrementando la firmeza del producto final y reduciendo las pérdidas en la cocción.

En lo referente al proceso de elaboración de pasta en sí, la cocción-extrusión probablemente representa la mejor alternativa para la pasta sin gluten, ya que unifica dos procesos: pregelatinización y formado. Wang y cols. produjeron pasta basada en harina¹²³ y almidón¹²⁴ de guisantes, empleando dos métodos de extrusión: el método clásico que consiste en darle forma a la pasta a la temperatura ambiente y presión atmosférica, y la cocción-extrusión (doble tornillo), en la que la masa es sometida a altas temperaturas durante un lapso breve de tiempo. Utilizando este método el almidón gelatiniza parcialmente y las proteínas se desnaturalizan, también parcialmente, y por lo tanto se lleva a cabo una re-estructuración de la masa extrusionada. Estos investigadores observaron una reducción del tiempo de cocción, un menor peso de la pasta cocinada, una notable disminución de la pérdida por cocción y una textura más agradable en la pasta producida mediante cocción- extrusión, en contraste con la extrusión a temperatura ambiente. La cocción-extrusión ha sido empleada en mezclas de harinas de maíz, habas¹²⁵, arroz¹⁰³ y en mezclas de harinas de arroz y amaranto¹¹⁰, entre otras materias primas.

5. Observaciones Finales

Algunos productos elaborados con harina de trigo, como el pan, el hojaldre o la pasta, se obtienen a partir de una masa donde se ha desarrollado una red proteica continua (la red de gluten), mientras que otros productos, como bizcochos, pasteles y galletas, se obtienen con una masa que no ha llegado a desarrollar esta red de gluten (su desarrollo puede ser incluso negativo). Por lo tanto, en el primer caso, la obtención de productos similares sin gluten es más difícil que en el segundo. No obstante, existen opciones para solucionar este problema. En cuanto a los productos en los que se requiere una red de gluten, normalmente se adiciona un “sustituto” del mismo en las formulaciones sin gluten, por lo general un hidrocoloide. En la elaboración de pasta el papel del gluten suele realizarlo el almidón pregelatinizado. También es importante analizar los parámetros de procesado (por ejemplo, amasado, fermentación, horneado) adaptándolos a las nuevas necesidades. Varias harinas y almidones sin gluten procedentes de diferentes fuentes han sido estudiadas para su utilización en formulaciones sin gluten. Una gran cantidad de materias primas disponibles, así como sus diferentes combinaciones, pueden ser utilizadas para la elaboración de productos sin gluten, siendo casi imposible generalizar sobre su comportamiento en una masa o batido sin gluten. Por otra parte, la disponibilidad en el mercado de harinas obtenidas a partir de fuentes diferentes del trigo no es regular, y harinas provenientes de un solo origen botánico y comercializadas por diferentes proveedores pueden presentar propiedades diferentes, tales como tamaño de partícula, propiedades de empastado, contenido de fibra y proteínas, lo que conduce a productos de calidades variables. Por lo tanto, es importante esforzarse por comprender, en primer lugar, las propiedades funcionales de las mezclas de harina/almidón apropiadas para cada producto sin gluten y, en segundo lugar, las condiciones más apropiadas para procesado en continuo.

Muchos aditivos y enzimas utilizados para mejorar la calidad tecnológica de los productos obtenidos también son analizadas en la literatura. Es importante advertir que las funcionalidades de dichos aditivos podrían ser diferentes en un sistema sin gluten en contraste con uno tradicional, que contenga gluten, particularmente cuando los aditivos interactúan con la red de gluten. En este caso debería estudiarse el efecto de los aditivos para cada producto particular.

En lo referente al procesado, algunas alternativas para mejorar la calidad del producto final también son posibles, como utilizar masa madre para elaborar pan, o la cocción-extrusión de la harina para elaborar pasta.

Reconocimientos

Los autores desean hacer patente su agradecimiento a la Universidad de Valladolid (España), al CONICET y a la Universidad de Córdoba (Argentina) por su apoyo financiero.

Referencias

1. Torbica A, Hadnadev M, Dapčević Hadnadev T. *Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality*. Food Res Int. 2012; 48: 277-83.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.001>
2. Brites C, Trigo MJ, Santos C, Collar C, Rosell CM. *Maize-Based Gluten-Free Bread: Influence of Processing Parameters on Sensory and Instrumental Quality*. Food Bioprocess Tech. 2010; 707-15.
3. Taylor JRN, Schober TJ, Bean SR. *Novel food and non-food uses for sorghum and millets*. J Cereal Sci. 2006; 44: 252-71.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.009>
4. Houben A, Höchstötter A, Becker T. *Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview*. Eur Food Res Technol. 2012; 235: 195-208.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1720-0>
5. Hüttner EK, Arendt EK. 2010. *Recent advances in gluten-free baking and the current status of oats*. Trends Food Sci Tech. 2010, 21: 303-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.03.005>
6. Pawlowska P, Diowksz A, Kordialik-Bogacka E. *State-of-the-Art Incorporation of Oats into a Gluten-Free Diet*. Food Rev Int. 2012; 28: 330-42.
<http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2012.660715>
7. Hager A-S, Wolter A, Czerny M, Bez J, Zannini E, Arendt EK et al. *Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts*. Eur Food Res Technol. 2012B; 235: 333-44.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1763-2>
8. Nishita KD, Bean MM. *Physicochemical properties of rice in relation to rice bread*. Cereal Chem. 1979; 56: 185-9.
9. Ylimaki G, Hawrysh ZJ, Hardin RT, Thomson ABR. *Response-surface methodology in the development of rice flour yeast breads - sensory evaluation*. J Food Sci. 1991; 56: 751-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb05374.x>
10. Nishita KD, Bean MM. *Grinding methods: Their impact on rice flour properties*. Cereal Chem. 1982; 59: 46-9.
11. Ylimaki G, Hawrysh ZJ, Hardin RT, Thomson ABR. *Application of response-surface methodology to the development of rice flour yeast breads - objective measurements*. J Food Sci. 1988; 53: 1800-5.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb07846.x>

12. de la Hera E, Martínez M, Gómez M. *Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice bread*. *LWT-Food Sci Technol*. 2013; 54: 199-206.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.019>
13. de la Hera E, Talegón M, Caballero P, Gómez M. *Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking*. *J Sci Food Agr*. 2013; 93: 924-32.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5826>
PMid:22886488
14. Sciarini LS, Ribotta PD, León AE, Pérez GT. *Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality*. *Food Bioprocess Tech*. 2010; 3: 577-85.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-008-0098-2>
15. Sánchez HD, Osella CA, De La Torre MA. *Optimization of gluten-free bread prepared from cornstarch, rice flour, and cassava starch*. *J Food Sci*. 2002; 67: 416-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11420.x>
16. Onyango C, Mutungi C, Unbehend G, Lindhauer MG. *Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch*. *LWT-Food Sci Technol*. 2011; 44: 681-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.006>
17. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. *Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients*. *Int J Food Sci Nutr*. 2009; 60: 240-57.
<http://dx.doi.org/10.1080/09637480902950597>
PMid:19462323
18. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. *Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients*. *Trends Food Sci Tech*. 2010A; 21: 106-13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
19. Hager A-S, Wolter A, Jacob F, Zannini E, Arendt EK. *Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours*. *J Cereal Sci*. 2012; 56: 239-47.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.005>
20. Wronkowska M, Haros M, Soral-Smietana M. *Effect of starch substitution by buckwheat flour on gluten-free bread quality*. *Food Bioprocess Tech*. 2013; 6: 1820-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0839-0>
21. Peressini D, Pin M, Sensidoni A. *Rheology and breadmaking performance of rice-buckwheat batters supplemented with hydrocolloids*. *Food Hydrocolloid*. 2011; 25: 340-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.06.012>
22. Torbica A, Hadnadev M, Dapčević Hadnadev T. *Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour*. *Food Hydrocolloid*. 2010; 24: 626-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.004>

23. Mariotti M, Pagani MA, Lucisano M. The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloid*. 2013; 30: 393-400.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.07.005>
24. Alvarez-Jubete L, Auty M, Arendt EK, Gallagher E. *Baking properties and microstructure of pseudo-cereal flours in gluten-free bread formulations*. *Eur Food Res Technol*. 2010; 230: 437-45.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1184-z>
25. Sánchez HD, Osella CA, de la Torre MA. *Use of response surface methodology to optimize gluten-free bread fortified with soy flour and dry milk*. *Food Sci Technol Int*. 2004; 10: 5-9.
<http://dx.doi.org/10.1177/1082013204042067>
26. Shin D-J, Kim W, Kim Y. *Physicochemical and sensory properties of soy bread made with germinated, steamed, and roasted soy flour*. *Food Chem*. 2013; 141: 517-23.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.005>
PMid:23768388
27. Miñarro B, Albanell E, Aguilar N, Guamis B, Capellas M. *Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread*. *J Cereal Sci*. 2014; 56: 476-81.
28. Demirkesen I, Mert B, Sumnu G, Sahin S. *Utilization of chestnut flour in gluten-free bread formulations*. *J Food Eng*. 2010; 101: 329-36.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.07.017>
29. Jongh G. The formation of dough and bread structure. I. *The ability of starch to form structures and the improving effect of glyceryl-monosterate*. *Cereal Chem*. 1961; 38: 140-52.
30. McCarthy DF, Gallagher E, Gormley TR, Schober TJ, Arendt EK. *Application of response surface methodology in the development of gluten-free bread*. *Cereal Chem*. 2005; 82: 609-15.
<http://dx.doi.org/10.1094/CC-82-0609>
31. Sabanis D, Tzia C. *Effect of hydrocolloids on selected properties of gluten-free dough and bread*. *Food Sci Technol Int*. 2011; 17: 279-91.
<http://dx.doi.org/10.1177/1082013210382350>
PMid:21917639
32. Andersson H, Ohgren C, Johansson D, Kniola M, Stading M. *Extensional flow, viscoelasticity and baking performance of gluten-free zein-starch doughs supplemented with hydrocolloids*. *Food Hydrocolloid*. 2011; 25: 1587-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.11.028>
33. Hager A-S, Arendt EK. *Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat*. *Food Hydrocolloid*. 2013; 32: 195-203.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.021>

34. Crockett R, Ie P, Vodovotz Y. *How do xanthan and hydroxypropyl methylcellulose individually affect the physicochemical properties in a model gluten-free dough?* J Food Sci. 2011; 76: E274-E282.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02088.x>
PMid:21535827
35. Acs E, Kovacs Z, Matuz J. *Bread from corn starch for dietetic purposes. I. Structure formation.* Cereal Res Commun. 1996; 24: 441-9.
36. Acs E, Kovacs Z, Matuz J. *Bread from corn starch for dietetic purposes. II. Formation of the visual and technological properties.* Cereal Res Commun. 1996; 24: 451-9.
37. Sciarini LS, Ribotta PD, León AE, Pérez GT. *Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality.* Int J Food Sci Tech. 2010; 45: 2306-12.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02407.x>
38. Lazaridou A, Duta D, Papageorgiou M, Belc N, Biliaderis CG. *Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations.* J Food Eng. 2007; 79: 1033-47.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032>
39. Demirkesen I, Kelkar S, Campanella OH, Sumnu G, Sahin S, Okos M. *Characterization of structure of gluten-free breads by using X-ray microtomography.* Food Hydrocolloid. 2014; 36: 37-44.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.002>
40. Toufeili I, Dagher S, Sadarevian S, Noureddine A, Sarakbi M, Farran MT. *Formulation of gluten-free pocket-type flat breads: Optimization of methylcellulose, gum arabic and egg albumen levels by response surface methodology.* Cereal Chem. 1994; 71: 594-601.
41. Sabanis D, Tzia C. *Selected structural characteristics of HPMC-containing gluten free bread: A response surface methodology study for optimizing quality.* Int J Food Prop. 2011; 14: 417-31.
<http://dx.doi.org/10.1080/10942910903221604>
42. Zandonadi RP, Assuncao Botelho RB, Coelho Araujo WM. *Psyllium as a substitute for gluten in bread.* J Am Diet Assoc. 2009; 109: 1781-4.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jada.2009.07.032>
PMid:19782179
43. Haque A, Morris ER. *Combined use of ispaghula and HPMC to replace or augment gluten in breadmaking.* Food Res Int. 1994; 27: 379-93.
[http://dx.doi.org/10.1016/0963-9969\(94\)90194-5](http://dx.doi.org/10.1016/0963-9969(94)90194-5)
44. Krupa-Kozak U, Baczek N, Rosell MC. *Application of dairy proteins as technological and nutritional improvers of calcium-supplemented gluten-free bread.* Nutrient. 2013; 5: 4503-20.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5114503>
PMid:24241213 PMCID:PMC3847745

45. Storck CR, Zavareze E, Gularte MA, Cardoso Eliasa M, Rosell CM, Guerra Dias AR. *Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics*. LWT-Food Sci Technol. 2013; 53: 346-54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.005>
46. Smerdel B, Pollak L, Novotni D, Čukelj N, Benković M, Lušić D et al. *Improvement of gluten-free bread quality using transglutaminase, various extruded flours and protein isolates*. J Food Nutr Res. 2012; 51: 242-53.
47. Shin M, Gang D-O, Song J-Y. *Effects of protein and transglutaminase on the preparation of gluten-free rice bread*. Food Sci Biotechnol. 2010; 19: 951-6.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10068-010-0133-8>
48. Marco C, Rosell MC. *Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads*. Eur Food Res Technol. 2008; 227: 1205-13.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0838-6>
49. Ziobro R, Witczak T, Juszcak Leslaw, Korus J. *Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic*. Food Hydrocolloid. 2013; 32: 213-20.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.006>
50. Crockett R, Ie P, Vodovotz Y. *Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread*. Food Chem. 2011; 129:84-91.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.030>
51. Marco C, Rosell MC. *Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties*. J Food Eng. 2008; 84: 132-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.05.003>
52. Miñarro B, Normahomed I, Guamis B, Capellas M. *Influence of unicellular protein on gluten-free bread characteristics*. Eur Food Res Technol. 2010; 231: 171-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-010-1269-8>
53. Erickson DP, Campanella OH, Hamaker BR. *Functionalizing maize zein in viscoelastic dough systems through fibrous, beta-sheet-rich protein networks: An alternative, physicochemical approach to gluten-free breadmaking*. Trends Food Sci Tech. 2012; 24: 74-81.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.008>
54. van Riemsdijk LE, van der Goot AJ, Hamer RJ. *The use of whey protein particles in gluten-free bread production, the effect of particle stability*. Food Hydrocolloid. 2011; 25: 1744-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.03.017>
55. van Riemsdijk LE, van der Goot AJ, Hamer R J, Boom RM. *Preparation of gluten-free bread using a meso-structured whey protein particle system*. J Cereal Sci. 2011; 53: 355-61.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2011.02.006>

56. van Riemsdijk LE, Peigrom PJM; van der Goot AJ, Boom RM, Hamer RJ. *A novel method to prepare gluten-free dough using a meso-structured whey protein particle system*. J Cereal Sci. 2011; 53: 133-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2010.11.003>
57. Matos ME, Rosell CM. *Quality indicators of rice-based gluten-free bread-like products: Relationships between dough rheology and quality characteristics*. Food Bioprocess Technol. 2013; 6: 2331-41.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0903-9>
58. Korus J, Grzelak K, Achremowicz K, Sabat R. *Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides*. Food Sci Tech Int. 2006; 12: 489-95.
<http://dx.doi.org/10.1177/1082013206073072>
59. Capriles VD, Areas JAG. *Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure, quality, sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads*. Food & Function. 2013; 4: 104-10.
<http://dx.doi.org/10.1039/C2FO10283H>
PMid:23032642
60. Korus J, Witczak M, Ziobro R, Juszcak L. *The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread*. Food Hydrocolloid. 2009; 23: 988-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.010>
61. Sabanis D, Lebesi D, Tzia C. *Development of fiber-enriched gluten-free bread: a response surface methodology study*. Int J Food Sci Nutr. 2009; 60: 174-90.
<http://dx.doi.org/10.1080/09637480902721196>
PMid:19330631
62. Sabanis D, Lebesi D, Tzia C. *Effect of dietary fiber enrichment on selected properties of gluten-free bread*. LWT-Food Sci Technol. 2009; 42: 1380-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.010>
63. Hager A-S, Ryan LAM, Schwab C, Gaenzle MG, O'Doherty JV, Arendt EK. *Influence of the soluble fibers inulin and oat beta-glucan on quality of dough and bread*. Eur Food Res Technol. 2011; 232: 405-13.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-010-1409-1>
64. Sciarini LS, Ribotta PD, Leon AE, Pérez GT. *Incorporation of several additives into gluten free breads: Effect on dough properties and bread quality*. J Food Eng. 2012; 111: 590-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.011>
65. Nunes MHB, Moore MM, Ryan LAM, Arendt EK. *Impact of emulsifiers on the quality and rheological properties of gluten-free breads and batters*. Eur Food Res Technol. 2009; 228: 633-42.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0972-1>
66. Hamada S, Suzuki K, Aoki N, Suzuki Y. *Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from Aspergillus oryzae*. J Cereal Sci. 2013; 57: 91-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.10.008>

67. Kawamura-Konishi Y, Shoda K, Koga H, Honda Y. *Improvement in gluten-free rice bread quality by protease treatment*. J Cereal Sci. 2013; 58: 45-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.02.010>
68. Renzetti S, Arendt EK. *Effects of oxidase and protease treatments on the breadmaking functionality of a range of gluten-free flours*. Eur Food Res Technol. 2009; 229: 307-17.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1048-6>
69. Renzetti S, Dal Bello F, Arendt EK. *Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase*. J Cereal Sci. 2008; 48: 33-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.011>
70. Pongjaruvat W, Methacanon P, Seetapan N, Fuongfuchat A, Gamonpilas C. *Influence of pregelatinised tapioca starch and transglutaminase on dough rheology and quality of gluten-free jasmine rice breads*. Food Hydrocolloid. 2014; 36: 143-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.004>
71. Moore MM, Heinbockel M, Dockery P, Ulmer HM, Arendt EK. *Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase*. Cereal Chem. 2006; 83: 28-36.
<http://dx.doi.org/10.1094/CC-83-0028>
72. Gujral HS, Rosell CM. *Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase*. Food Res Int. 2004; 37: 75-81.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2003.08.001>
73. Martinez MM, Marcos P, Gomez M. *Texture development in gluten-free breads: Effect of different enzymes and extruded flour*. J Texture Stud. 2013; 44: 480-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/jtxs.12037>
74. Purhagen JK, Sjö ME, Eliasson A-C. *The anti-staling effect of pre-gelatinized flour and emulsifier in gluten-free bread*. Eur Food Res Technol. 2012; 235: 265-76.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1753-4>
75. Gujral HS, Guardiola I, Carbonell JV, Rosell MC. *Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour*. J Agr Food Chem. 2003; 51: 3814-8.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf034112w>
PMid:12797748
76. Gujral HS, Haros M, Rosell CM. *Starch hydrolyzing enzymes for retarding the staling of rice bread*. Cereal Chem. 2003; 80: 750-4.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.6.750>
77. Gómez M, Talegón M, de la Hera E. *Influence of mixing on quality of gluten-free bread*. J Food Quality. 2013; 36: 139-45.
<http://dx.doi.org/10.1111/jfq.12014>

78. De Vuyst L, Vancanneyt M. *Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria*. Food Microbiol. 2007; 24: 120-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.005>
PMid:17008154
79. Gobbetti M, De Angelis M, Di Cagno R, Rizzello CG. *Sourdough lactic/acid bacteria*. In: Arendt EK, Dal Bello F (Eds.). *Gluten-free Cereals Products and Beverages*. Elsevier. 2008; 267-88.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-012373739-7.50014-9>
80. Moore MM, Juga B, Schober TJ, Arendt EK. *Effect of lactic acid bacteria on properties of gluten-free sourdoughs, batters, and quality and ultrastructure of gluten-free bread*. Cereal Chem. 2007; 84: 357-64.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-84-4-0357>
81. Hüttner EK, Dal Bello F, Arendt EK. *Identification of lactic acid bacteria isolated from oat sourdoughs and investigation into their potential for the improvement of oat bread quality*. Eur Food Res Technol. 2010; 230: 849-57.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-010-1236-4>
82. Schober TJ, Bean SR, Boyle DL. *Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background*. J Agric Food Chem. 2007; 55: 5137-46.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0704155>
PMid:17536829
83. Osman MA. *Changes in sorghum enzyme inhibitors, phytic acid, tannins and in vitro protein digestibility occurring during Khamir (local bread) fermentation*. Food Chem. 2004; 88: 129-34.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.038>
84. Rühmkorf C, Jungkuntz S, Wagner M, Vogel RF. *Optimization of homoexopolysaccharide formation by lactobacilli in gluten-free sourdoughs*. Food Microbiol. 2012; 32: 286-94.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2012.07.002>
PMid:22986191
85. Galle S, Schwab C, Dal Bello F, Coffey A, Gänzle MG, Arendt EK. *Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread*. Int J Food Microbiol. 2012; 155: 105-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.009>
PMid:22342455
86. Moore MM, Dal Bello F, Arendt EK. *Sourdough fermented by Lactobacillus plantarum FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread*. Eur Food Res Technol. 2008; 226: 1309-16.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-007-0659-z>
87. De Vuyst L, Vrancken G, Ravyts F, Rimaux T, Weckx S. *Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota*. Food Microbiol. 2009; 26: 666-75.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.012>
PMid:19747599

88. Ronda F, Oliete B, Gómez M, Caballero PA, Pando V. *Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources*. J Food Eng. 2011; 102: 272-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.001>
89. Matos ME.; Sanz T, Rosell CM. *Establishing the function of proteins on the rheological and quality properties of rice based gluten free muffins*. Food Hydrocolloid. 2014; 35: 150-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.05.007>
90. de la Hera E, Martinez M, Oliete B, Gómez M. *Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice cakes*. Food Bioprocess Technol. 2013; 6: 2280-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0922-6>
91. Ronda F, Gómez M, Caballero PA, Oliete B, Blanco CA. *Improvement of quality of gluten-free layer cakes*. Food Sci Technol Int. 2009; 15: 193-202.
<http://dx.doi.org/10.1177/1082013208105170>
92. Jeong S, Kang W-S, Shin M. *Improvement of the quality of gluten-free rice pound cake using extruded rice flour*. Food Sci Biotechnol. 2013; 22: 173-80.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0024-x>
93. Sumnu G, Koksel F, Sahin S, Basman A, Meda V. *The effects of xanthan and guar gums on staling of gluten-free rice cakes baked in different ovens*. Int J Food Sci Technol. 2010; 45: 87-93.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02107.x>
94. Preichardt LD, Vendruscolo CT, Gularte MA, Moreira A da S. *The role of xanthan gum in the quality of gluten free cakes: improved bakery products for coeliac patients*. Int J Food Sci Technol. 2011; 46: 2591-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02788.x>
95. Oliveira V, Mariani, M, Vogt E, Venzke J. *Physicochemical and sensory evaluation of gluten-free cookies made with rice flour, rice bran and soy flour*. Ann Nutr Metab. 2013; 63: 1790.
96. Dapčević Hadnađev TR, Torbica AM, Hadnađev MS. *Influence of buckwheat flour and carboxymethyl cellulose on rheological behaviour and baking performance of gluten-free cookie dough*. Food Bioprocess Technol. 2013; 6: 1770-81.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0841-6>
97. Calderón de la Barca AM, Rojas-Martinez ME, Islas-Rubio AR, Cabrera-Chávez F. *Gluten-free breads and cookies of raw and popped amaranth flours with attractive technological and nutritional qualities*. Plant Food Hum Nutr. 2010; 65: 241-6.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-010-0187-z>
PMid:20734143
98. Coleman J, Abaye AO, Barbeau W, Thomason W. *The suitability of teff flour in bread, layer cakes, cookies and biscuits*. Int J Food Sci Nutr. 2013; 64: 877-81.
<http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2013.800845>
PMid:23730794

99. Yamsaengsung R, Berghofer E, Schoenlechner R. *Physical properties and sensory acceptability of cookies made from chickpea addition to white wheat or whole wheat flour compared to gluten-free amaranth or buckwheat flour*. Int J Food Sci Technol. 2012; 47: 2221-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03092.x>
100. Ergin A, Herken EN. *Use of various flours in gluten-free biscuits*. J Food Agric Environ. 2012; 10: 128-31.
101. Pagani MA. *Pasta products from non-conventional raw materials*. In: Mercier C, Cantarelli C (Eds.). Pasta and extruded products. London: Elsevier Applied Science. 1986; 52-68.
102. Tan H-Z, Li Z-G, Tan B. *Starch noodles: History, classification, materials, processing, structure, nutrition, quality evaluating and improving International*. Food Res Int. 2009; 42: 551-76.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.015>
103. Marti A, Seetharaman K, Pagani MB. *Rice-based pasta: A comparison between conventional pasta-making and extrusion-cooking*. J Cereal Sci. 2010; 52: 404-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2010.07.002>
104. Marti A, Caramanico R, Bottega G, Pagani MA. *Cooking behavior of rice pasta: Effect of thermal treatments and extrusion conditions*. LWT-Food Sci Technol. 2013; 54: 229-35.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.008>
105. Dexter JE, Matsuo RR. *Effect of starch on pasta dough rheology and spaghetti cooking quality*. Cereal Chem. 1979; 56: 190-5.
106. Tam LM, Corke H, Tan WT, Li J, Collado LS. *Production of Bihon-type noodles from maize starch differing in amylose content*. Cereal Chem. 2004; 81: 475-80.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.4.475>
107. Waniska RD, Yi T, Lu J, Xue-Ping L, Xu W, Lin H. *Effects of preheating temperature, moisture, and sodium metabisulfite content on quality of noodles prepared from maize flour or meal*. Food Sci Technol Int. 1999; 5: 339-46.
<http://dx.doi.org/10.1177/108201329900500406>
108. Schoenlechner R, Drausinger J, Ottenschlaeger V, Jurackova K, Berghofer E. *Functional Properties of Gluten-Free Pasta Produced from Amaranth, Quinoa and Buckwheat*. Plant Foods Hum Nutr. 2010; 65: 339-49.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-010-0194-0>
PMid:20972627
109. Alamprese C, Casiraghi E, Pagani MA. *Development of gluten-free fresh egg pasta analogues containing buckwheat*. Eur Food Res Technol. 2007; 225: 205-13.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-006-0405-y>

110. Cabrera-Chávez F, Calderón de la Barca AM, Islas-Rubio AR, Marti A, Marengo M, Pagani MA et al. *Molecular rearrangements in extrusion processes for the production of amaranth-enriched, gluten-free rice pasta*. LWT-Food Sci Technol. 2012; 47: 421-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.040>
111. Schober TJ, Messerschmidt M, Bean SR, Park SH, Arendt EK. *Gluten free bread from sorghum: Quality differences among hybrids*. Cereal Chem. 2005; 82: 394-404.
<http://dx.doi.org/10.1094/CC-82-0394>
112. Liu L, Herald TJ, Wang D, Wilson JD, Bean SR, Aramouni FM. *Characterization of sorghum grain and evaluation of sorghum flour in a Chinese egg noodle system*. J Cereal Sci. 2012; 55: 31-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2011.09.007>
113. Suhendro EL, Kunetz CF, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. *Cooking characteristics and quality of noodles from food sorghum*. Cereal Chem. 2000; 77: 96-100.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.2.96>
114. Susanna S, Prabhasankar P. *A study on development of Gluten free pasta and its biochemical and immunological validation*. LWT-Food Sci Technol. 2013; 50: 613-21
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.040>
115. Padalino L, Mastromatteo M, De Vita P, Ficco DBM, Del Nobile MA. *Effects of hydrocolloids on chemical properties and cooking quality of gluten-free spaghetti*. Int J Food Sci Technol. 2013; 48: 972-83.
<http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12049>
116. Charutigon C, Jitpupakdree J, Namsreem P, Rungsardthong V. *Effects of processing conditions and the use of modified starch and monoglyceride on some properties of extruded rice vermicelli*. Food Sci Technol. 2008; 41: 642-51.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.04.009>
117. Eliasson A-C, Krog N. *Physical properties of amylose-monomer complexes*. J Cereal Sci. 1985; 3: 239-48.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80017-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80017-5)
118. Kaur L, Singh J, Singh N. *Effect of glycerol monostearate on the physicochemical, thermal, rheological and noodle making properties of corn and potato starches*. Food Hydrocolloid. 2005; 19: 839-49.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.10.036>
119. Marti A, Pagani MA. *What can play the role of gluten in gluten free pasta? Trends Food Sci Tech*. 2013; 31: 63-71.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.001>
120. Barbiroli A, Bonomi F, Casiraghi MC, Iametti S, Pagani MA, Marti A. *Process conditions affect starch structure and its interactions with proteins in rice pasta*. Carbohydr Polym. 2013; 92: 1865-72.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.047>
PMid:23399230

121. Yousif EI, Gadallah MGE, Sorour AM. *Physico-chemical and rheological properties of modified corn starches and its effect on noodle quality*. *Ann Agric Sci*. 2012; 57: 19-27.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aoas.2012.03.008>
122. Hormdok R, Noomhorm A. *Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality*. *Food Sci Technol*. 2007; 40: 1723-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.017>
123. Wang N, Bherud PR, Sosulski FW, Tyler RT. *Pasta like product from pea flour by twin-screw extrusion*. *J Food Sci*. 1999; 64: 671-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15108.x>
124. Wang N, Maximiuk L, Toews R. *Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process*. *Food Chem*. 2012; 133: 742-53.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.087>
125. Giménez MA, González RJ, Wagner J, Torres R, Lobo MO, Samman NC. *Effect of extrusion conditions on physicochemical and sensorial properties of corn-broad beans (Vicia faba) spaghetti type pasta*. *Food Chem*. 2013; 136: 538-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.068>
PMid:23122095

CAPÍTULO 18

PRODUCTOS ALIMENTARIOS AUTÓCTONOS LIBRES DE GLUTEN (AMÉRICA DEL SUR Y OTROS PAÍSES).

María Alejandra García¹, Sonia Zulma Viña^{1,2}

¹Universidad Nacional de la Plata (UNLP) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Curso Bioquímica y Fitoquímica. La Plata, Argentina.

magarcia@quimica.unlp.edu.ar soniavia@quimica.unlp.edu.ar

Cómo citar este capítulo:

García MA, Viña, SZ. *Productos Alimentarios Autóctonos libres de Gluten (América del Sur y Otros Países)*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La conservación y el uso sostenible de la biodiversidad para la agricultura y la nutrición han sido extensamente subrayados como elementos cruciales para la seguridad alimentaria. Asimismo, en numerosas oportunidades se ha hecho referencia a la relevancia del conocimiento sobre los alimentos tradicionales y la aplicación de los saberes autóctonos para el desarrollo y la producción de alimentos innovadores, libres de gluten.

América Central y del Sur han proporcionado una gran variedad de alimentos de origen vegetal para el sustento de la humanidad. América Latina es actualmente una de las mayores áreas de exportación de alimentos. No obstante, aún no ha alcanzado su pleno potencial para expandir su producción agrícola orientada al consumo regional y al abastecimiento de las exportaciones globales. Asimismo, en la región habitan una gran cantidad de agricultores experimentados que han preservado y transmitido su conocimiento a través de las generaciones.

Alimentar a una población mundial en rápido crecimiento sin expandir el área cultivada hacia regiones ambientalmente susceptibles y sin reducir la capacidad productiva de la tierra actualmente en uso es un desafío de un elevado nivel de complejidad.

En un contexto de fuerte necesidad de diversificación de la dieta, las poblaciones con requerimientos nutricionales especiales, tales como los pacientes celíacos, deberían beneficiarse con la oferta de componentes dietarios más balanceados, nutritivos y seguros. La posibilidad de conocer más ampliamente los alimentos tradicionales y difundir el conocimiento local y territorial para el desarrollo y producción de alimentos innovadores libres de gluten, surge como una alternativa prometedora.

Este capítulo reúne información sobre varias especies vegetales provenientes del continente americano, ampliamente utilizadas para la producción de alimentos libres de gluten (maíz, patata, mandioca, batata o camote, quinoa, amaranto y algunas legumbres, entre otras), como así también sobre ciertas especies que podrían emplearse potencialmente con el mismo fin, entre ellas varias raíces y tubérculos andinos tales como achira, ahípa, arracacha, maca, mashua, mauka, oca, ulluco y yacón.

Palabras clave

Biodiversidad vegetal y alimentos, fuentes alimentarias provenientes de América, maíz, patata, mandioca, raíces y tubérculos andinos, cultivos de granos, productos innovadores libres de gluten, agricultura familiar y producción de alimentos.

1. Biodiversidad y Alimentos

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) trabaja extensamente en la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad para la agricultura y la nutrición¹, factores considerados cruciales para la formulación de dietas sustentables y para la seguridad alimentaria.

La biodiversidad se define como la variedad y variabilidad de los seres vivos y de los ecosistemas (terrestres y/o acuáticos) que integran, y los complejos ecológicos de los que forman parte. Incluye asimismo la diversidad dentro de cada especie, entre especies y la diversidad de los ecosistemas².

De acuerdo con Savard y cols.³, durante las últimas décadas, la preocupación por la pérdida de la biodiversidad ha encabezado los esfuerzos conservacionistas en todo el mundo². El término “biodiversidad” trasciende todos los niveles de vida, desde los genes hasta las comunidades, así como todas las escalas espaciales y temporales.

A lo largo de la historia, los seres humanos se han adaptado a las circunstancias de su ambiente local desarrollando estrategias de obtención de alimentos afines a sus características culturales, capaces de proporcionar dietas acordes a sus necesidades. No obstante, cerca de 900 millones de personas en el mundo padecen actualmente hambre crónica, sufren diversas clases de malnutrición y no tienen acceso adecuado a alimentos saludables^{4,5}. Se ha subrayado el hecho de que la salud humana depende de la salud de los ecosistemas en los que habitan las personas, y que ésta debe ser cuidadosamente protegida. La biodiversidad inherente a los ecosistemas debe ser salvaguardada, ya que contribuye al desarrollo de dietas variadas, equilibradas y sostenibles.

Es sabido que la tendencia hacia la simplificación dietaria data de mucho tiempo atrás (prácticamente a partir del desarrollo de la agricultura) y, lamentablemente, se verifica cada vez más marcadamente a nivel mundial una pérdida de diversidad en los alimentos, con una acentuada dependencia de un reducido número de plantas cultivadas que constituyen alimentos básicos a nivel global¹.

Existen más de 50.000 plantas comestibles en el mundo. Sin embargo, solamente tres cultivos (arroz, trigo y maíz) proporcionan el 60% de la energía alimentaria de origen vegetal. Unos pocos cientos de especies de plantas contribuyen significativamente a la provisión de alimentos. En particular, la familia botánica *Poaceae* (la quinta mayor familia botánica) reúne más de 10.000 especies, pero sólo unos pocos de sus miembros han sido ampliamente introducidos al cultivo durante los últimos 2.000 años.

Es bien sabido que la diversidad genética de las plantas cultivadas se halla bajo creciente presión como consecuencia del desarrollo urbano, la incidencia de fitoenfermedades y el cambio climático. El monocultivo (es decir las prácticas agrícolas que dependen de unas pocas especies y variedades de alto rendimiento) exponen la provisión de alimentos a riesgos considerables. Una limitada

diversidad genética hace que las plantas cultivadas sean susceptibles a enfermedades de amplia difusión, como sucedió durante la hambruna irlandesa, cuando el patógeno conocido como tizón tardío eliminó cultivos enteros de la variedad dominante de patatas y cerca de un millón de personas murieron por falta de alimento⁶.

De acuerdo con Dini y cols.⁷, la provisión de alimentos dependiente de relativamente pocas especies ha afectado negativamente la competitividad de ciertos cultivos ancestrales. Éstos han sido restringidos a usos de subsistencia o bien se encuentran en riesgo de desaparición. El renovado interés por especies relegadas, o subutilizadas, surge de su eventual contribución a la diversificación agrícola y al mejoramiento en el uso de la tierra, su potencial económico y su perspectiva para contribuir a dietas más heterogéneas. Estas especies de plantas han sido utilizadas por poblaciones locales durante siglos. Su aspecto innovador se relaciona por lo tanto, con el modo en que sus usos ancestrales están siendo redefinidos⁷.

Existen ciertas zonas del planeta en las que se concentra la mayor riqueza biológica, las cuales son frecuentemente llamadas “regiones megadiversas”. Hasta un 70% de la diversidad biológica de nuestro planeta se encuentra en 17 países, los que representan alrededor del 10% del área mundial.

El continente americano reúne el mayor número de países megadiversos (siete en total): Brasil, Colombia, Ecuador, EE.UU., México, Perú y Venezuela. Cinco países con estas características se sitúan en Asia (China, Filipinas, Indonesia, India y Malasia), tres en África (Madagascar, República Democrática del Congo y Sudáfrica) y dos en Oceanía (Australia y Papúa Nueva Guinea).

Entre las características únicas que posibilitan que un enorme número de especies se originen y habiten en estas regiones se pueden mencionar: 1) su extensión en los trópicos, donde las condiciones ambientales (clima y suelos) favorecen la biodiversidad; 2) la coexistencia de islas y porciones continentales que permite el desarrollo de flora y fauna endémica y distintiva; 3) el hecho de que algunas de estas regiones abarcan extensas áreas que cobijan a muchas especies de diferentes orígenes. Asimismo, la domesticación de plantas y animales por parte de las comunidades locales conlleva a una gran riqueza adicional.

Algunos de los principales mensajes y conclusiones del Tercer Simposio Internacional sobre Alimentos y Bebidas Libres de Gluten (Conferencia GF13), llevado a cabo en Viena (Austria) en junio de 2013, se refirieron a la posibilidad de ampliar el conocimiento sobre alimentos tradicionales y aplicar los saberes autóctonos para el desarrollo y producción de alimentos innovadores, libres de gluten⁸. Concomitantemente, se ha remarcado la necesidad urgente de preservar los modos de vida locales, de los cuales la humanidad entera podría obtener un conocimiento muy valioso.

Asimismo, con el desarrollo de nuevos productos alimentarios y el surgimiento de variedades de granos genéticamente modificadas, se torna necesario difundir constantemente y permanecer alertas sobre los nuevos riesgos potenciales para individuos intolerantes al gluten que, en promedio, comprenden el 1% de la población y que, en algunas áreas, representan más del 6%⁸.

Las tendencias actuales muestran que el mercado de alimentos libres de gluten es uno de los de mayor crecimiento dentro del sector de alimentos y bebidas, considerando su evolución en los años recientes, así como las perspectivas en un futuro inmediato.

2. Alimentos Libres de Gluten Procedentes de América del Sur y Central

2.1. Maíz

El Maíz (*Zea mays*) es oriundo del hemisferio occidental, aunque no existe una completa certeza sobre su lugar de origen exacto. Datos arqueológicos procedentes de excavaciones realizadas en Ciudad de México (América del Norte) identificaron granos de polen de maíz, cuya antigüedad estimada es de 80.000 años⁹. Asimismo, se hallaron mazorcas de maíz de alrededor de 5.600 años en las cavernas de murciélagos en Nuevo México. La mayoría de los investigadores concuerdan en que el maíz fue domesticado en el Valle de Tehuacán (México), y en que las formas silvestres originales han estado extinguidas durante largo tiempo⁹.

La evidencia sugiere que el maíz cultivado se desarrolló a partir de cruzamientos naturales, en principio con plantas del género *Tripsacum*, lo que dió origen al teosinte, para luego volver a cruzarse probablemente el teosinte con maíz primitivo y producir las variedades modernas.

El maíz fue un alimento reverenciado en las Américas. Domesticado por agricultores alrededor de 8.000 años antes del presente, las culturas precolombinas lo molían para producir harina o bien era hervido o cocido a las brasas. Para elaborar bebidas, el maíz era también mezclado con agua y otros ingredientes tales como miel, chocolate o pimienta¹⁰.

El maíz se cultiva globalmente y la producción mundial en el año 2012 fue de 872.066.770 toneladas¹¹. De acuerdo con Singh y cols.¹², los principales países productores son EE.UU., China, Brasil, Argentina, India, Francia e Indonesia. Se cultivan diferentes variedades de maíz, tales como *Z. mays* var. *amylacea* (maíz amiláceo); *Z. mays* var. *indurata* (maíz cristalino); *Z. mays* var. *indentata* (maíz dentado); *Z. mays* var. *saccharata* y *Z. mays* var. *rugosa* (maíz dulce); *Z. mays* var. *verta* (principalmente utilizado para palomitas de maíz); *Z. mays* var. *ceratina* (maíz ceroso)¹². Asimismo, existen granos de maíz de diferentes colores: blanco, amarillo, rojo y púrpura. El maíz con pigmentos de color azul, púrpura o rojo, presenta propiedades bioactivas y antioxidantes, debido a su elevado contenido de antocianinas y otros compuestos fenólicos.

Los constituyentes del grano de maíz son: el endospermo (82-83%), el germen o embrión (10-11%), el pericarpio (5-6%) y el tip cap (0,8-1%), que corresponde al material fibroso remanente que conecta el grano de maíz con la mazorca.

De acuerdo con Singh y cols.¹², el endospermo está compuesto por numerosas células, llenas de gránulos de almidón embebidos en una matriz proteica. El endospermo es de dos tipos: harinoso o córneo. El endospermo córneo, ubicado hacia la periferia del grano, contiene gránulos de almi-

dón más pequeños, fuertemente empaquetados, mientras que el endospermo harinoso, dispuesto alrededor de la fisura central, contiene gránulos de almidón más laxamente agrupados.

El principal constituyente del grano de maíz es el almidón, que puede representar hasta el 88% del endospermo. También están presentes azúcares simples, como glucosa, sacarosa y fructosa, en un rango que varía entre el 1 al 3% del grano¹³. En el maíz común, ya sea con un endospermo de tipo dentado o córneo, la amilosa representa el 25-30% del almidón y la amilopectina, el 70-75% restante. La amilopectina constituye prácticamente el 100% del almidón en el maíz ceroso. Por otra parte, un mutante del endospermo conocido como diluyente de la amilosa (da) presenta un incremento en el porcentaje de amilosa del almidón que llega a alcanzar el 50% o más¹³.

Las proteínas del maíz (principalmente ubicadas en el endospermo, dentro de cuerpos proteicos subcelulares que contienen las proteínas de almacenamiento) representan entre el 8 y 11% del peso del grano en las variedades comunes de maíz.

Se mencionan al menos cuatro diferentes fracciones proteínicas en los granos de maíz¹³: albúminas y globulinas (alrededor de 12% del nitrógeno total); prolaminas (52% del nitrógeno del grano, siendo las zeínas las que se hallan en mayor concentración); glutelinas; y una pequeña cantidad de nitrógeno residual (alrededor de 5%). Se han identificado un mínimo de cuatro fracciones principales dentro de las zeínas de almacenamiento: α -, β -, γ - y δ -zeínas.

Mientras que la mayor parte de la proteína del maíz (75%) procede del endospermo, el embrión concentra las proteínas con el mejor perfil de aminoácidos. Estas proteínas presentan alrededor de tres veces más cantidad de albúmina, el doble de globulina y una décima parte de la zeína de todo el grano¹⁴.

En lo que respecta al contenido de aminoácidos en las proteínas del maíz, se halló que la fracción zeína es pobre en lisina (usualmente menos de 30 mg g⁻¹ de proteína) y prácticamente carente de triptófano. Inversamente, las fracciones de albúmina, globulina y glutelina contienen niveles relativamente elevados de lisina y triptófano, pero constituyen la fracción menor dentro de las proteínas de maíz. Otra característica importante de las fracciones de zeína es su elevado contenido de leucina, un aminoácido con un rol importante en la deficiencia de isoleucina¹³.

Veloso Naves y cols.¹⁴ evaluaron la calidad nutricional y proteica del germen de maíz con pericarpio en relación con la del grano entero. Los autores indicaron que el germen presentó un buen perfil de aminoácidos esenciales, con un nivel de lisina de 57,2 mg g⁻¹ de proteína. El contenido de lisina del grano entero (37,9 mg g⁻¹ de proteína) fue superior a los valores informados en la literatura para el maíz común, el cual varía entre 26 y 30 mg g⁻¹ de proteína. Los niveles de aminoácidos no esenciales o condicionalmente esenciales del germen fueron superiores a los del grano entero, principalmente debido a los contenidos de ácido aspártico, arginina y glicina¹⁴.

2.2. Patatas y Otros Cultivos de Raíces y Tubérculos (R&T) Andinos

La patata o papa (*Solanum tuberosum* L.) es el cuarto cultivo alimenticio más importante después del trigo, el arroz y el maíz. Desde el siglo XVI, la diversidad y adaptabilidad de esta especie han permitido su expansión desde las alturas de los Andes, en Sudamérica, a diversas altitudes en las regiones templadas del mundo. Últimamente, la producción de patatas se ha incrementado rápidamente en las tierras bajas, cálidas y húmedas de Asia durante la temporada seca¹⁵. De acuerdo con el Centro Internacional de la Papa, organismo fundado en 1971 en Lima (Perú), más de mil millones de personas consumen patatas en todo el mundo y la producción global de este cultivo supera los 300 millones de toneladas métricas⁶.

De acuerdo con Kiple y Ornelas¹⁶, la patata fue un cultivo de subsistencia en las tierras altas de todos los continentes. En Europa, originalmente fue cultivada para combatir la escasez generalizada de alimentos, pero posteriormente se convirtió en un componente dietario básico. La patata también ha sido desarrollada como hortaliza *commodity* en Asia y África.

Se trata de un cultivo crítico en términos de seguridad alimentaria frente al crecimiento de la población y la escasez de alimentos. Por ejemplo, China (el mayor consumidor de patatas en el mundo) planea incrementar su producción para responder al 50% de la demanda durante los próximos 20 años⁶.

La patata fue probablemente domesticada hace unos 7.000-10.000 años en Perú y Bolivia, en la región del lago Titicaca. Las patatas cultivadas incluyen miles de variedades que difieren en tamaño, forma, color y otras características sensoriales. La especie es oriunda de los Andes, en América del Sur, pero su zona núcleo de diversidad genética silvestre se extiende desde Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Argentina y Chile, atravesando las regiones pampeana y chaqueña de Argentina, Uruguay, Paraguay y el Sur de Brasil¹⁶. Hacia el Norte, alcanza América Central, México y el Suroeste de los EE.UU. Es posible hallar más de 200 especies de patatas silvestres en este amplio hábitat, que comprende regiones montañosas elevadas y tierras altas, valles, bosques subtropicales, cuencas semiáridas entre elevaciones y valles litorales¹⁶.

De acuerdo con Rodríguez-Sandoval y cols.¹⁷, la harina de patata contiene proteínas de buena calidad alimentaria, junto con fibra dietaria, macronutrientes y elementos traza, vitaminas y una muy reducida proporción de lípidos¹⁸. Este producto se ha posicionado como de alto valor agregado, como un espesante y/o mejorador del sabor y el color. La harina de patata puede incorporarse en salsas, caldos, productos de panadería y extruidos, bocadillos y en mezclas para preparar sopas¹⁷.

Dini y cols.⁷, han señalado que la harina de patata es probablemente el producto comercial procesado más antiguo, obtenido a partir de este tubérculo, ampliamente utilizado en panificados. La adición de pequeñas cantidades de harina de patata permite mantener la frescura del pan, confiriéndole un sabor característico y mejorando su calidad al tostarlo. En panificación, los derivados de patata, ya sea el almidón o la harina nativos o precocidos, pueden mezclarse con la harina de trigo.

Se sabe que la harina de patata, al ser utilizada para la elaboración de pan, retarda el añejamiento y mejora las propiedades de tostado. Debido a su adecuado contenido mineral (principalmente potasio, magnesio y fósforo), la patata se comporta como un adecuado sustrato para las levaduras. La harina de patata es también utilizada en la preparación de ciertos tipos de panes¹⁹, como el *lefse* o *potetlelse*, panes ligeros y planos de origen escandinavo elaborados con patata.

La harina de patata se produce especialmente en los EE.UU. y varios países europeos. Holanda, Alemania, los EE.UU. y Bélgica son los principales países exportadores que, en conjunto, exportaron 0,27 millones de toneladas de harina de patata en el año 2007¹⁹.

Rodríguez-Sandoval y cols.¹⁷ han estudiado el efecto de las harinas de quinoa y de patata sobre las propiedades termomecánicas y de panificación de la harina de trigo. Desde un punto de vista tecno-funcional, los autores han medido el contenido de humedad (CH), índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA) y capacidad de expansión (CE) de la harina de patata ensayada. Los resultados mostraron que este producto presentó un contenido de humedad ligeramente inferior ($12,03 \pm 0,19\%$) junto con los valores más elevados de otros parámetros, en comparación con las harinas de trigo y quinoa. El IAA de la harina de patata fue de $4,48 \pm 0,11 \text{ g g}^{-1}$, mientras que el ISA y la CE alcanzaron valores de $7,45 \pm 0,72\%$ y $4,48 \pm 0,12 \text{ g g}^{-1}$, respectivamente. Los autores han señalado que los valores más elevados de IAA, ISA y CE de la harina de patatas se deben posiblemente a un mayor contenido de grupos de fosfato en la fracción amilopectina, lo que ocasiona la repulsión entre dichos grupos en las cadenas adyacentes e incrementa la hidratación, al debilitar las uniones dentro de los dominios cristalinos.

Si bien la composición química de la harina de patata depende de la variedad y la región de origen, el contenido de carbohidratos puede variar entre 79,0 y 87,3 g por 100 g. La proteína cruda se encuentra comprendida entre 3,9 y 8,1 g/100 g, mientras que la fibra cruda se halla dentro del rango de 1,3-2,9 g/100 g¹⁹. La fibra dietaria total alcanza 5,9 g/100 g de la porción comestible, de acuerdo con la *USDA National Nutrient Database Reference*²⁰. De igual manera que en otros productos derivados de raíces y tubérculos, el contenido de lípidos es relativamente bajo, ya que puede presentarse en cantidades que van de 0,3 a 1,3 g/100 g. La harina de patata es una muy buena fuente de potasio (1000-1380 mg/100 g). Su contenido de ácido ascórbico puede estar comprendido entre 4 y 19 mg/100 g.

Se ha mencionado que el contenido de proteína de la harina de patata es similar al presente en los cereales más comunes. Gahlawaht y Sehgal²¹ han descrito que la digestibilidad *in vitro* de la proteína de harina de patata es del 73,3% y este valor resulta significativamente más elevado que el de las patatas crudas. Los tubérculos de patata son asimismo una rica fuente de asparagina libre (2010-4250 kg⁻¹).

Rodríguez Galdón y cols.²² determinaron el perfil y puntaje (*score*) de los aminoácidos, junto con el contenido total de proteína de diez cultivares tradicionales de patata (Bonita, Bonita negra, Azucena negra, Mora, Borralla, Terrenta, Colorada de бага, Negra, Peluca blanca y Palmera lagar-

teada) de Tenerife. Los autores hallaron diferencias significativas entre los cultivares de patatas en el contenido proteínico total y en los aminoácidos estudiados, excepto metionina. Aparentemente, la concentración de aminoácidos no fue influenciada por la región de producción. El *score* químico de la proteína de patata varió considerablemente entre los diferentes cultivares, con valores entre 26,2 y 66,5%. Los aminoácidos azufrados fueron los aminoácidos limitantes en casi todos los cultivares de patata estudiados. La lisina fue el aminoácido limitante para el cultivar Borralla y el segundo aminoácido limitante en el resto de los cultivares analizados.

Cabe señalar que *Solanum tuberosum* es una especie cultivada tetraploide de la serie *Tuberosa*. Esta serie incluye dos subespecies: *tuberosum*, de distribución mundial y *andigena* (Juz. et Buk.) Hawkes. Esta última se cultiva en zonas comprendidas entre los 2.500-4.300 m de altitud, en las tierras altas andinas^{23,24}.

El grupo *Andigenum* comprende numerosas variedades tradicionales que difieren en su hábito de crecimiento, color de las flores, así como en ciertas características de los tubérculos (distribución de yemas, forma y color de la cáscara y de la pulpa). En Argentina, estas variedades locales se cultivan en el Noroeste (principalmente en las provincias de Jujuy, Salta y Catamarca), en regiones fitogeográficas que corresponden a los valles montañosos elevados y quebradas de la Puna y la Prepuna²⁴. Algunas variedades de patata cultivadas en el Norte de Argentina (Tuni, Negra Ojosa, Colorada, Oca, Collareja, Runa, Moradita, Sani, Sallama, Santa María, Azul, Blanca y Malgacha) fueron seleccionadas históricamente por los agricultores andinos, principalmente sobre la base de su resistencia a plagas y enfermedades, así como por su valor nutricional.

Se han llevado a cabo varios proyectos de investigación para rescatar variedades de patata con características distintivas. En este sentido, se trabaja en la preservación *ex situ* de variedades tradicionales de patatas en el Banco Activo de Germoplasma de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce (Argentina) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). En la década de 1970, se creó el Banco de Germoplasma en la EEA Balcarce (INTA) con el fin de conservar, caracterizar y evaluar patatas silvestres y cultivadas. Como resultado de numerosos viajes de recolección de germoplasma y el trabajo de conservación a mediano y largo plazo, el Banco posee actualmente una colección de todas las especies silvestres del país, así como de las variedades andinas cultivadas. De acuerdo con Ispizúa y cols.²⁴, el grupo de investigación que trabaja con patatas andinas provenientes del Noroeste de Argentina ha descrito la variación morfológica intra-específica y la variabilidad bioquímica de las proteínas de almacenamiento de patata, entre otros logros. Las investigadoras Adriana Andreu (Instituto de Investigaciones Biológicas IIB, CONICET-UNMdP) y Andrea Clausen (Banco Genético del INTA) conducen el proyecto “Tesoros de la biodiversidad andina: papas nativas y su valor para la humanidad”, el cual difunde el conocimiento de estas variedades ancestrales y busca generar conciencia sobre la importancia de su conservación, revalorizando el patrimonio fitogenético.

Dado que estas variedades tradicionales de patatas poseen valiosas características agronómicas (por ejemplo, resistencia a factores bióticos y abióticos), son frecuentemente utilizadas en pro-

gramas de mejoramiento alrededor del mundo. No obstante, la agricultura en los valles Andinos de Argentina se halla amenazada por factores tales como la pérdida de diversidad genética. Al respecto, existen tecnologías de bajo costo que pueden mejorar la situación, como ser la elección de variedades con mejores características agronómicas y nutricionales.

En lo que respecta a otros cultivos de raíces y tubérculos (R&T) andinos, el CIP (Centro Internacional de la Papa) señala que nueve de ellos son relevantes, en términos económicos y nutricionales, para agricultores de subsistencia de la región. Estas especies son conocidas por sus nombres en lengua quechua: achira, ahipa, arracacha, maca, mashua, mauka, oca, ulluco y yacón⁶. Se trata de plantas altamente adaptadas a condiciones ambientales adversas: crecen a elevada altitud, pueden tolerar condiciones de sequía, temperaturas muy bajas y resisten la exposición a radiación ultravioleta. Por lo tanto, desde una perspectiva productiva, ofrecen elevados rendimientos con insumos mínimos. Asimismo, estos cultivos presentan elevados contenidos de vitaminas, micronutrientes y almidón. Se ha hecho también referencia a que algunos de ellos presentan propiedades medicinales.

La achira o canna comestible (*Canna edulis*) es una planta perenne empleada como alimento por los antiguos pueblos peruanos. Existen entre 30-60 especies en América y Asia, la mayor parte de las cuales producen rizomas carnosos y amiláceos, que son tradicionalmente cocidos en hornos de barro y empleados además para producir harina rica en almidón, con la que pueden elaborarse panes y galletas o emplearse como espesante en bebidas y sopas⁶.

El cultivo de la achira se ha expandido a Asia, especialmente en China, Vietnam, Taiwan y Tailandia, donde su almidón se utiliza en la industria alimentaria, para la producción de fideos y como agente espesante para salsas, condimentos, aderezos y sopas. Algunos autores han señalado que esta planta presenta gran potencial para aplicaciones alimentarias, ya que sus órganos subterráneos son una materia prima interesante para la extracción de almidón y el desarrollo de películas comestibles²⁵.

Los rizomas de achira producen almidón de alto valor, de gránulos grandes que pueden ser extraídos de un modo sencillo y económico, utilizando equipamiento casero. La composición particular de este almidón lo convierte en una importante fuente de ingresos para comunidades andinas, en las que es el principal cultivo para algunas poblaciones⁶. Por ejemplo, el cultivo de achira está siendo ampliamente reconocido en Colombia, donde existe una demanda cada vez mayor para la preparación de galletas elaboradas con su raíz.

La harina de achira está formada principalmente por almidón, proteínas, lípidos y fibras. Andrade-Mahecha y cols.²⁵ han señalado que el contenido de fibra se relaciona directamente con el tamaño de partícula. Las fracciones con un diámetro medio mayor, poseen un contenido de fibra dietaria más elevado (con variaciones entre 229,5-322,1 g/kg en base seca). Estos valores de fibra resultaron más elevados que los de la harina de mandioca y batata. El contenido de proteína de la harina de achira varió entre 40,6 y 45,4 g/kg en base seca²⁵. El tenor de lípidos estuvo comprendido

entre 9,0 y 11,1 g/kg. La harina de achira con el mayor tamaño de partícula (59,7 μm) presentó el contenido de ceniza más elevado (78,5 g/kg), mientras que la proporción más alta de almidón se halló en la fracción de menor tamaño de partícula. Los autores han mencionado que la harina de achira puede ser considerada un ingrediente funcional, para su utilización en la industria alimentaria. El contenido de amilosa expresado en base seca correspondió a 390,0 y 407,6 g/kg, para almidones de *Canna indica* procedentes de Brasil y Colombia, respectivamente²⁵.

El género *Pachyrhizus* (*yam beans*), perteneciente a la familia botánica *Fabaceae* (*Leguminosae*), es nativo de América del Sur y Central. Una de sus características distintivas es la producción de raíces tuberosas de almacenamiento. Por lo tanto, las especies de *Pachyrhizus* podrían ser desarrolladas como una nueva fuente no tradicional de harina y almidón.

Las principales especies cultivadas son: *Pachyrhizus tuberosus* o *yam bean* amazónico, cultivada principalmente en Bolivia, Perú, Ecuador y Brasil; *Pachyrhizus erosus*, “jacatupe”, jícama o *yam bean* mexicano, procedente de América Central y el Caribe; y *Pachyrhizus ahipa*, “ahipa” o *yam bean* andino, originario de los Andes de Bolivia y el norte de Argentina⁷.

El *yam bean* fue cultivado por los Mayas y Aztecas hace varios siglos. La jícama (*P. erosus*) ha sido redescubierta como un cultivo de relevancia económica. Sus raíces tuberosas presentan, sobre base seca, 3-5 veces el contenido de proteína de otros tubérculos cultivados como la patata. Dado su elevado contenido de energía y digestibilidad, son utilizadas como alimento para humanos y animales de corral. Esta especie se cultiva actualmente en México, Guatemala, El Salvador y Honduras, y ha sido introducida en diferentes zonas pantropicales, con notable éxito en el Sudeste de Asia⁷.

El análisis químico demostró que las raíces de *P. erosus* pueden proporcionar potasio, sodio, fósforo, calcio y magnesio, así como cantidades significativas de ácido ascórbico. También se ha descrito la presencia de otras vitaminas como tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina y ácido fólico²⁶.

En lo que respecta a *P. ahipa*, esta especie fue cultivada por la civilización Incaica, aunque su producción y utilización ha disminuido considerablemente desde la Conquista de América. La harina de ahipa puede considerarse un producto alternativo libre de gluten, apropiado para personas con requerimientos nutricionales específicos. En comparación con otras raíces y tubérculos, la harina de ahipa posee una composición más equilibrada desde el punto de vista nutricional, aportando proteínas, fibras y minerales, tales como potasio, calcio y hierro.

La arracacha o zanahoria peruana (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) pertenece a la familia botánica *Apiaceae* (*Umbelliferae*). Existen tres variedades principales, cada una con raíces de color distintivo: amarillo, blanco o púrpura⁶.

De acuerdo con Ribeiro y cols.²⁷, la planta tiene su origen en las tierras tropicales de los Andes. Generalmente se cultiva en altitudes que van de 1.500 a 2.500 m sobre el nivel del mar, con tempe-

raturas entre 15 y 20°C y precipitación anual de alrededor de 1.400 mm. Las partes comestibles de la planta son sus raíces de almacenamiento (que pueden llegar a pesar 450 g y contienen aproximadamente un 73% agua), agrupadas alrededor del rizoma central engrosado y cormos secundarios, de los que emergen tallos y hojas.

Para ser consumidas, las raíces deben ser asadas, hervidas, horneadas o fritas. Su sabor característico se asemeja a una mezcla de apio, zanahoria y chirivía. Poseen una pulpa compacta más rica en textura y sabor que la patata; esta raíz puede ser utilizada para adornar y saborizar una variedad de platos que va desde sopas a postres. Los tallos jóvenes son utilizados en ensaladas o como hortaliza cocida y las hojas a menudo se emplean en la alimentación de animales⁶.

El almidón de arracacha es fácilmente digerible, debido al pequeño tamaño de sus gránulos. Por lo tanto es utilizado en puré o sopas para niños pequeños o personas de edad avanzada. Las raíces procesadas son utilizadas como espesante en fórmulas de alimentos infantiles y sopas instantáneas⁶.

La vida postcosecha de las raíces es muy corta. Se deterioran con rapidez si son almacenadas a temperatura ambiente, y se dañan por completo en el lapso de unos 12 días. Los principales factores que ocasionan daño postcosecha son la acentuada pérdida de peso y el ataque de *Rhizopus* y *Erwinia carotovora*. Dado su origen tropical y subtropical, la arracacha es sensible al daño por frío cuando se almacena a bajas temperaturas, desarrollando pardeamiento interno y externo a temperaturas cercanas a 5°C²⁷.

Además de ser un alimento importante en los Andes, la arracacha fue introducida en Brasil a principios del siglo XX y se expandió a las tierras altas del Sur, principalmente en el estado de Minas Gerais. Hacia el año 2005, los dos principales clones de arracacha cultivados en Brasil eran Amarela de Carandaí y Roxa de Viçosa²⁷. Los programas de mejoramiento del cultivo han sido exitosos en el desarrollo de variedades que crecen en siete meses, lo que podría beneficiar a otros agricultores en la región andina⁶.

La maca (*Lepidium meyenii* Walp.) pertenece a la familia botánica *Brassicaceae*. Es una planta herbácea, anual o bienal. De acuerdo con Wang y cols.²⁸, ha sido domesticada en los Andes Centrales de Perú, a alturas comprendidas entre 3.500-4.500 m sobre el nivel del mar, donde ha sido cultivada al menos durante 2.000 años. No obstante, poco se sabe sobre su origen.

Las partes comestibles de la maca son los hipocótilos subterráneos, los cuales se utilizan frescos, o bien pueden ser secados y almacenados. La maca también es utilizada como medicina tradicional, especialmente para mejorar el deseo sexual y la fertilidad femenina, para aliviar el reumatismo, tratar problemas respiratorios, como laxante y antidepresivo, entre otras propiedades²⁸.

Debido a la evidencia científica inicial que sustentó las propiedades casi míticas de la maca, la planta ha experimentado un auge comercial. De acuerdo con el CIP⁶, la raíz se procesa para ela-

borar harina para pan y galletas, polvo deshidratado y cápsulas gelatinizadas, la mayor parte de estos productos certificados como orgánicos. El volumen de exportación alcanzó los 700.000 kilogramos en 2010.

De acuerdo con Puoci y cols.²⁹, la administración oral de un extracto lipídico de maca incrementó la actividad sexual de ratones y ratas³⁰. Sandoval y cols.³¹, por otra parte, describieron la capacidad de esta planta para secuestrar radicales libres y proteger a las células del estrés oxidativo.

En truchas arcoiris juveniles, la suplementación con maca incrementó el crecimiento, junto con la ingesta y el aprovechamiento del alimento. Al mismo tiempo mejoró la supervivencia³². Este efecto se atribuyó a la estimulación de la producción de la hormona de crecimiento. La maca también ha sido utilizada para tratar los trastornos asociados a la menopausia, ya que se halló que incrementa el contenido de calcio en el fémur de ratas³³ y, por lo tanto, contribuiría a reducir la pérdida de la densidad mineral ósea.

La composición química de la maca, presenta ciertas características interesantes como son, principalmente, su elevado contenido de proteínas, ácidos grasos no saturados y minerales. El contenido de agua en la raíz fresca de maca supera el 80%. Expresado en base seca, la raíz de maca contiene 8,87-11,6% de proteína, 1,09-2,2% de lípidos totales, 54,6-60,0% de carbohidratos, 8,23-9,08% de fibra, 4,9-5,0% de cenizas y un contenido de energía de 663 kJ/100 g. Los carbohidratos están representados por sacarosa (23,4%), glucosa (1,55%), oligosacáridos (4,56%) y polisacáridos (30,4%)²⁸. La raíz de maca contiene siete aminoácidos esenciales, los cuales representan un total de 342,6-388,6 mg/g de proteína. Estos valores son más elevados que los descritos para patatas y zanahorias.

El contenido de ácidos oleico y linoleico (ácidos grasos insaturados) representa el 52,7-60,3% de los ácidos grasos totales. Además, los polvos de raíz de maca también son abundantes en minerales, con contenidos (expresados en mg/100 g de muestra seca) de 16,6 de hierro, 0,8 de manganeso, 5,9 de cobre, 3,8 de zinc, 18,7 de sodio, 2050 de potasio y 150 de calcio ²⁸.

Recientemente, Puoci y cols.²⁹, investigaron la aplicación de la harina de maca en la preparación de panes funcionales, con propiedades mejoradas. Se probaron diferentes composiciones de pan (mezclas de harina de trigo y maca con 0, 5, 10, 15 y 20% de sustitución). Fueron caracterizadas por pruebas específicas *in vitro* para determinar actividad antiinflamatoria y antioxidante y la capacidad de reducir la ingesta de azúcar, mediante ensayos enzimáticos utilizando α -amilasa y α -glucosidasa. Los resultados indicaron que las propiedades biológicas de la harina de maca se conservaron luego del proceso de panificación y que los panes analizados fueron aptos como alimentos funcionales.

El CIP señala que, en términos de seguridad alimentaria, la oca (*Oxalis tuberosa* Molina), el ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y el añú o mashua (*Tropeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) son los tres cultivos de raíces y tubérculos andinos de mayor importancia. Se adaptan a altitudes comprendi-

das entre los 2.000 y 3.800 metros sobre el nivel del mar y se hallan asociadas con la patata en los Andes de Perú y Bolivia. El cultivo de patatas en combinación con oca, ulluco y mashua es una tradición milenaria y esta práctica ofrece valiosos nutrientes suplementarios para una dieta basada en la patata. Por ejemplo, la oca ha sido mencionada como un alimento rico en proteínas, con un buen balance de aminoácidos y un aporte relevante de fibra y antioxidantes.

Descritas en registros de la conquista española, representaciones cerámicas indican que la oca era un alimento básico, altamente valorado, que data de la época precolombina. Debido a su elevada productividad y sabor agradable, la oca es muy popular en la cocina rural andina. No obstante, la mayor parte de la producción de oca se destina aún para consumo doméstico. Los tubérculos se hierven tradicionalmente en la preparación de sopas o estofados, o son también horneados o rostizados y a menudo secados al sol para endulzarlos previamente a la cocción⁶.

Entre los cultivos de raíces y tubérculos andinos más conocidos, el ulluco ha sido reconocido como el más viable, en términos comerciales. Dado que los tubérculos de ulluco presentan un elevado contenido de agua, son más aptos para ser hervidos. Las hojas de la planta también son comestibles y se ha mencionado que contienen cantidades significativas de proteínas, calcio y carotenos⁶.

Los tubérculos de mashua varían en su color (usualmente blanco, amarillo, rojo o púrpura), así como en su forma. Contienen niveles elevados de isotiocianatos (glucosinolatos), compuestos conocidos por sus propiedades insecticidas y medicinales. Ello explicaría una menor incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos. Esta relativamente alta resistencia es una razón por la cual la mashua es tradicionalmente intercalada con otros cultivos. Los agricultores la utilizan como un medio natural para repeler insectos y patógenos.

A pesar de su elevado valor nutricional, la mashua no es ampliamente comercializada. Debido a que se utiliza en medicina tradicional para regular la libido (hay registros de que los Incas la utilizaban para disminuir el impulso sexual de los guerreros en campaña), muchas veces los hombres evitan a consumirla.

Campos y cols.³⁴ han estudiado la patata local (*Solanum sp.*) y las raíces y tubérculos de mashua, oca y ulluco por su capacidad antioxidante y metabolitos secundarios asociados. Los resultados mostraron que la capacidad antioxidante en los cultivos estudiados varió entre 483 y 9.800 μg equivalentes de trolox g^{-1} . Los compuestos fenólicos se presentaron en valores comprendidos entre 0,41 y 3,37 mg de equivalentes de ácido clorogénico g^{-1} . Las antocianinas variaron entre 0,08 y 2,05 mg de cianidina 3-glucósido g^{-1} y el contenido de carotenoides se halló comprendido en el rango de 1-25 μg de β -caroteno g^{-1} . El nivel de compuestos bioactivos fue elevado y varió según el cultivo y los genotipos estudiados. En general, los tubérculos de mashua presentaron mayor capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos, antocianinas y carotenoides que los otros cultivos. El ulluco fue la única especie que contenía betalaínas, bajo la forma de betaxantinas (22-96 μg g^{-1}) y betacianinas (64 μg g^{-1}), sin presencia de carotenoides ni antocianinas. Cabe mencionar que las betalaínas son pigmentos solubles en agua que contienen nitrógeno y que se clasifican en dos

grupos estructurales: las betacianinas de color rojo-violeta y las betaxantinas, de color amarillo-naranja. Varios estudios han demostrado la actividad antioxidante de las betalaínas, que ha sido a su vez asociada con un efecto protector frente a ciertas enfermedades degenerativas³⁵.

En lo referente al yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson), este antiguo cultivo andino atrajo recientemente interés a nivel mundial, debido a sus propiedades nutricionales particulares. Coll Aráoz y cols.³⁶ han señalado que el yacón es una especie poliploide (probablemente un híbrido) perteneciente a la familia botánica *Asteraceae*. Ha sido clasificada como un cultivo semidomesticado, posiblemente sobre la base de su prolongada historia de uso en la región andina³⁷.

El sistema subterráneo del yacón consiste en dos tipos diferentes de órganos de reserva: las raíces tuberosas, que constituyen el producto comercializable, y los rizóforos, que corresponden a los órganos de multiplicación vegetativa. El sistema completo acumula fructanos y otros carbohidratos solubles, tales como fructosa, glucosa y sacarosa. El nombre común “yacón” tiene su origen en el término quechua *yakku* (equivalente a “acuoso” o “insípido”). Se cultiva en la región andina, desde Colombia hasta el noroeste de Argentina, a alturas comprendidas entre los 1.000 y 3.500 m sobre el nivel del mar. Durante los dos últimos siglos su área de cultivo se ha reducido, siendo empleado para consumo doméstico.

Sin embargo, la particular composición en carbohidratos de las raíces atrajo el interés internacional, ya que entre el 40 y 70% de la materia seca de la raíz corresponde a fructooligosacáridos (FOS, polímeros de fructosa de cadena corta, con un grado de polimerización de 3-10, que presentan bajo valor calórico). Las raíces no contienen almidón y presentan propiedades farmacológicas tales como actividad antioxidante y efectos beneficiosos sobre la obesidad y la resistencia a la insulina³⁶.

La raíz tuberosa, que se consume cruda o cocida, es dulce y crujiente. Como alternativa, las raíces de yacón pueden ser deshidratadas y procesadas para obtener una variedad de platos preparados. Han sido utilizadas en la producción de bebidas y productos de panadería, de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas⁷.

2.3. Mandioca

La mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) es una planta dicotiledónea arbustiva, perenne, que produce raíces comestibles ricas en almidón. Pertenece a la familia botánica *Euphorbiaceae*. Sus raíces son consideradas como un alimento que aporta energía a la dieta humana bajo la forma de carbohidratos³⁸.

Se considera que la mandioca tiene su centro de origen en la región Amazónica³⁹, en el centro de Brasil. Sin embargo, no existe un consenso total acerca de los orígenes botánicos exactos de los progenitores de la mandioca cultivada moderna^{40,41}.

De acuerdo con Malandula Chipeta y Bokosi⁴¹, la presencia de mandioca en África data del siglo XVI, principalmente en la costa Occidental y más tarde en África Oriental, Madagascar y Zanzibar, llevada por navegantes portugueses desde Brasil. La posterior dispersión de mandioca en África se efectuó durante el siglo XX, probablemente en la época colonial, durante la cual se cultivó como reserva contra la escasez de alimentos y debido a su capacidad de sobrellevar los ataques de langosta³⁹. Actualmente, la mandioca se cultiva en toda África.

La mandioca fue introducida en la región del Pacífico, alrededor del año 1.800, durante la primera época del contacto europeo. Se ha convertido en un alimento básico y en algunos casos, se produce en mayor cantidad que las raíces cultivadas tradicionales del área (taro, batata, ñame). En dicha región, la mandioca no se produce generalmente a gran escala. Se cultiva en huertas, con fines de subsistencia y se halla disponible en mercados locales.

La harina de mandioca se utiliza principalmente para elaborar productos de panadería y repostería, sustituyendo en diferentes proporciones a la harina de trigo. Otras aplicaciones incluyen la elaboración de alimentos para infantes y pastas, así como la producción de almidón, utilizado por las industrias alimentaria, farmacéutica y química⁷. La harina de mandioca se utiliza ampliamente en la formulación de productos destinados a pacientes celíacos. No obstante, su muy bajo contenido de proteínas (1,0% sobre base seca) y la ausencia de gluten se consideran una limitante para su utilización exclusiva en formulaciones alimentarias, especialmente si la elasticidad de las masas es esencial para la calidad de los productos manufacturados⁷.

De acuerdo con la USDA *National Nutrient Database for Standard Reference*²⁰, 100 g de la porción comestible de mandioca cruda (que contiene alrededor del 60% de agua) proporcionan 160 kcal, 1,36 g de proteína, 0,28 g de lípidos, 38 g de carbohidratos totales (calculado por diferencia), 1,8 g de fibra dietaria total y 1,70 g de azúcares. El contenido mineral de 100 g de mandioca cruda corresponde a 16 mg de calcio, 0,27 mg de hierro, 21 mg de magnesio, 27 mg de fósforo, 271 mg de potasio, 14 mg de sodio y 0,34 mg de zinc²⁰. Se ha descrito que el nivel de ácido ascórbico es igual a 20,6 mg/100 g de la porción comestible, el de folato (equivalente de folato dietario, DFE), 27 µg/100 g y el de niacina, 854 µg/100g.

2.4. Batata

A pesar de que, hasta donde se conoce, las formas silvestres de la batata (*Ipomoea batatas*, familia *Convolvulaceae*) no existen actualmente, se acepta en general como posibles centros del origen de este cultivo a las regiones de América Central y Perú.

La batata, nativa de América tropical, fue introducida en España por Cristóbal Colón y posteriormente llevada a tierras africanas por los portugueses. Actualmente, es el tercer cultivo en siete países de África Oriental y Central y ocupa el cuarto lugar en importancia en otros seis países de África meridional. El consumo más alto per cápita de batata corresponde a las Islas Salomón en el Pacífico Sur, uno de los países del grupo de estados africanos, caribeños y del Pacífico (ACP)⁴².

De acuerdo con el sitio web *Traditional Pacific Island Crops* (Cultivos tradicionales de las Islas del Pacífico), la producción de batata en el Pacífico Oriental y Central antecede varios siglos al contacto europeo, posiblemente iniciando en una fecha tan temprana como el año 1.000. La dispersión de la batata desde América hacia las islas del Pacífico ha sido objeto de debate.

Los datos arqueológicos indican posibles contactos entre polinesios y pueblos originarios de América, en varios puntos a lo largo de la costa oeste de América. La batata pudo haber sido introducida en el Pacífico como resultado de este contacto y posteriormente difundirse a través de la Polinesia. Sin que importen sus medios de dispersión, la batata es un importante cultivo alimentario en todo el Pacífico y en muchos otros países en vías de desarrollo.

Las raíces de batata, que presentan diferentes colores variando del blanco al rojo, pasando por el amarillo y violeta según la variedad en cuestión, son ricas en almidón y azúcares. Pueden utilizarse como alimento para humanos y animales y para la producción de alcohol y almidón. Las raíces de batata también pueden ser consumidas hervidas, fritas u horneadas. Las hojas de las plantas son comestibles (en contraste con las de la patata, que son tóxicas) y contienen apreciable cantidad de proteínas, vitaminas y varios minerales.

El Centro Internacional para la Papa mantiene el mayor banco de genes de batata a nivel mundial, representado por miles de variedades silvestres, tradicionales y mejoradas. Investigaciones efectuadas a principios del siglo XX han mostrado que pueden obtenerse más de cien productos industriales a partir de la batata, a pesar de que su implementación aún no está completamente desarrollada. De acuerdo con la UNCTAD⁴², estudios realizados también han demostrado que este producto puede proporcionar más del doble de carbohidratos que el maíz.

Se ha implementado un programa de mejoramiento de batata, que consiste en el cruzamiento de variedades obtenidas en el CIP y variedades locales selectas⁴². En Francia, el CIRAD (*Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Centro de Cooperación Internacional para la Investigación Agronómica para el Desarrollo*) ha identificado un híbrido, denominado “África” por los productores para quienes ha representado un gran éxito. Se lo vende en mercados africanos urbanos. Este material se destaca por su ciclo de producción más corto (12-16 semanas), mejor rendimiento, alta resistencia a enfermedades (como la roña, costra o scab de la hoja y el tallo), mayor vida útil postcosecha (4 semanas), muy buen sabor y aceptación por parte del consumidor, así como un elevado contenido de provitamina A⁴².

De acuerdo con la USDA *National Nutrient Database for Standard Reference*²⁰, 100 gramos de la porción comestible de batata proporcionan 20 g de carbohidratos (obtenidos mediante diferencia), 4,2 g de azúcares, 3 g de fibra dietaria total, 1,6 g de proteína y 0,05 g de lípidos totales. El contenido mineral de 100 g de raíces de batata corresponde a 337 mg de potasio, 55 mg de sodio, 47 mg de fósforo, 30 mg de calcio y 25 mg de magnesio. Los principales microelementos que aporta son hierro (0,61 mg/100 g) y zinc (0,30 mg/100 g)²⁰. En cuanto a contenido vitamínico, se ha descrito que el nivel de ácido ascórbico es de 2,4 mg/100 g de porción comestible, el de folato

(equivalente de folato dietario, DFE) de unos 11 µg/ 100 g y el de vitamina A (equivalentes de actividad de retinol, RAE) igual a 709 µg / 100 g.

Los niveles de sustitución de harina de trigo con harina de batata superiores al 10% generalmente producen características indeseables en relación con el volumen, sabor y textura del pan obtenido⁴³.

Las primeras investigaciones señalaron que el contenido de proteína cruda de la batata (estimada a partir del contenido de nitrógeno determinado por el método Kjeldahl x 6,25) se encontraba en el rango de 1,3 a 10% (referido a materia seca)⁴⁴. Se ha observado una significativa variabilidad genética, por lo tanto, se ha explorado incrementar el contenido de proteína mediante mejoramiento. Asimismo, esas primeras investigaciones han indicado que en la proteína de batata los aminoácidos que contienen azufre son los principales limitantes, seguidos por la lisina⁴⁴.

Más recientemente, Sun y cols.⁴⁵ han señalado que la esporamina, principal proteína de almacenaje en raíz de batata y que representa aproximadamente el 80% del total de proteínas de raíz, posee una masa molecular de 25 kDa determinada bajo condiciones reductoras mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). No obstante, bajo condiciones no reductoras, se observaron masas moleculares de 31 kDa y 22 kDa (esporamina A y B, respectivamente)^{45,46}. A pesar de que el perfil de aminoácidos de las proteínas de batata y, por lo tanto, los aminoácidos que resultan limitantes varían de acuerdo con el cultivar, la distribución de aminoácidos esenciales de esta raíz ha sido descrita como nutricionalmente adecuada.

Cabe señalar que la proteína de batata posee fuerte actividad inhibidora de la tripsina, lo que podría limitar la utilización efectiva en nutrición humana o animal. Por lo tanto, se ha aplicado ampliamente el procesamiento térmico para mejorar el valor nutricional de estas proteínas. Adicionalmente, este tratamiento incrementa la digestibilidad in vitro de algunos productos vegetales, tales como la proteína de soja⁴⁷, debido probablemente a la desactivación de inhibidores de tripsina.

2.5. Arrurriz

El arrurriz (*Marantha arundinacea*), también conocido como “sagú” y “uraro”, es una planta herbácea perenne, con raíces gruesas y carnosas. Considerado como un cultivo introducido en Filipinas, procedente de América Latina tropical, esta planta se aprovecha específicamente por sus rizomas, para la producción de harina y almidón⁴⁸.

El arrurriz es una excelente fuente de almidón (>85%), que ha sido utilizada últimamente en la industria alimentaria para la elaboración de galletas y como espesante y/o estabilizante. También se han hallado aplicaciones para el almidón de esta especie en la industria textil⁴⁹.

Hernández-Medina y cols.⁵⁰ señalaron que, en la Península de Yucatán (México), las principales

raíces y tubérculos cultivadas en las “milpas” (agroecosistemas mesoamericanos cuyos principales componentes productivos son el maíz, los porotos y la calabaza) son de origen americano. Cuatro de estas raíces y tubérculos fueron cultivadas antes de la Conquista (makal, *Xanthosoma yucatanensis*; batata, *Ipomoea batatas*; mandioca, *Manihot esculenta* y jícama *Pachyrhizus erosus*). Otras como el sagú (*Marantha arundinacea*) y la patata (*Solanum tuberosum*), aunque de origen americano, fueron introducidas por los españoles.

2.6. Granos Andinos: Quinoa y Amaranto

La quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) es una planta indígena proveniente de la región andina, cultivada por los Incas, quienes la llamaban “el grano madre” y lo consideraban un alimento sagrado. Data de más de 5.000 años⁵¹. En el Imperio Inca, la quinoa ocupó un lugar preponderante, comparable solamente con el maíz⁵². No obstante, otros cultivos tales como la patata y la cebada relegaron a la quinoa a un segundo plano.

La quinoa se cultiva principalmente en la región Sudamericana (especialmente en los Andes y áreas circundantes), incluyendo países como Ecuador, Perú, Chile y el Norte de Argentina (provincias de Jujuy y Salta)⁵³. En 2012, la producción mundial fue de 82.510 toneladas y el área cosechada fue de 102.745 ha¹¹. Recientemente, ha habido un creciente interés por cultivarla en otros países (especialmente en Europa), lo que ha dado lugar a su introducción y al desarrollo de trabajos de investigación sobre la quinoa⁵⁴⁻⁵⁶.

La composición proximal de la quinoa varía de acuerdo con el cultivar, pero se ubica generalmente entre un 10-18% de proteína, 4-9% de lípidos totales, 54-64% de carbohidratos, 2-4% de cenizas y 2-5% de fibra cruda¹⁷. Las semillas de quinoa son consideradas un alimento de interés, dado su elevado contenido de proteínas y la ausencia de gluten. El grano posee un alto contenido proteico con abundancia de aminoácidos esenciales y un amplio rango de vitaminas y minerales⁵⁷. El contenido de proteínas del grano puede variar desde 7,47 a 22,08%, con un promedio del 13,81%⁵⁸. Las albúminas y globulinas (quenopodina) son las principales fracciones proteicas (44-77% de la proteína total), mientras que el porcentaje de prolaminas, proteínas tóxicas para pacientes celíacos, es bajo (0,5-0,7%)⁵⁹. Las semillas poseen un perfil de aminoácidos equilibrado, con elevados contenidos de lisina (5,1-6,4%), histidina y metionina⁵⁹⁻⁶¹, siendo éste más alto que en cereales.

Schoenlechner y cols.⁶² señalaron que el perfil de aminoácidos de las proteínas de quinoa es comparable al de las caseínas. Adicionalmente, este pseudocereal atrae atención debido a su elevado contenido de minerales⁶³. Sin embargo, la proporción de carbohidratos digeribles de las harinas de pseudocereales, que varió entre 56 y 59%, fue inferior a la presente en las harinas de centeno (64%) y de trigo (70%)⁶⁴.

Los péptidos obtenidos mediante hidrólisis enzimática a partir del concentrado proteínico de harina de granos de quinoa exhibieron propiedades funcionales y bioactivas, especialmente actividad secuestrante de radicales, la cual resultó dependiente del tamaño molecular de los péptidos⁶⁵.

Las harinas de pseudocereales exhiben perfiles de lípidos cualitativa y cuantitativamente superiores a los de la harina de trigo. Los lípidos de la quinoa se caracterizan por un elevado grado de insaturación, que resulta deseable desde un punto de vista nutricional⁶⁶. El ácido graso predominante es el ácido linoleico (50,7-54,3% del total) seguido por el ácido oleico (20,8-24,9%) y el ácido palmítico (8,3-8,9%). Asimismo, se ha descrito un elevado nivel de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) ω -3 en semillas de quinoa, lo que constituye una característica nutricionalmente beneficiosa⁷. Adicionalmente, los lípidos ejercen un efecto significativo sobre la calidad y textura de los productos horneados debido a su capacidad de asociarse con proteínas y almidón, especialmente en aplicaciones panaderas⁶⁷. Por lo tanto, la adición de harina de pseudocereales a formulaciones de productos de panadería para celíacos permite mejorar las características texturales de los productos y mejorar su valor nutricional.

Cabe mencionar que el amaranto (*Amaranthus sp.*), la quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) y el alforfón (*Fagopyrum esculentum*) son conocidos como pseudocereales, ya que sus semillas se asemejan en su función y composición a las de los verdaderos cereales. Sin embargo, se trata de plantas dicotiledóneas.

El amaranto es un cultivo ancestral, consumido como hortaliza y grano por los mayas y los aztecas. Los conquistadores españoles llamaban al amaranto “el trigo Inca”⁶⁸. Fue denominado *kwicha* y *huautli* en el área comprendida entre México y Chile por las principales civilizaciones y culturas precolombinas, tales como la Inca, Azteca y Maya. También se hallaron granos de amaranto en tumbas que datan de 2.000 años a.C. y este producto es mencionado en el Códice Florentino de Bernardino de Sahagún Ribeira, el que contiene un listado de la gran variedad de sus valiosos usos⁶⁹. Adicionalmente, en un documento sobre la historia, economía y etnografía de los aztecas, comisionado por el virrey español Antonio de Mendoza alrededor de 1541-42, se registra que, cada año, cerca de 8.000.000 kg de *huautli* eran llevados a Tenochtitlán, como tributo anual rendido al Emperador Moctezuma, siendo esta cantidad comparable al tributo de maíz y habichuelas⁷⁰.

Los aztecas utilizaban el amaranto en bebidas, salsas y gachas o papillas. Era triturado para hacer harina y preparar tortillas (también hechas con harina de maíz), y sus granos se hacían reventar igual que los de maíz. También era empleado con fines medicinales. Asimismo, el amaranto tenía un papel importante en la religión local. El grano era molido, mezclado con agua, miel o, inclusive, sangre humana y a la masa se le daba forma de figuras votivas (*zoale*). Estas figuras eran exhibidas y consumidas ritualmente como símbolo de comunión con los dioses, motivo por el que los españoles prohibieron el cultivo y la utilización del amaranto. Otra causa adicional de la disminución de la producción de amaranto fue la introducción de nuevos cultivos procedentes de Europa.

Durante el siglo XVI, el amaranto fue introducido en Europa, inicialmente como planta ornamental. Diferentes especies de amaranto se dispersaron a través del mundo, durante los siglos XVII, XVIII y XIX. En India y China, bajo las severas condiciones de los Himalayas, esta planta se convirtió en un grano y/o cultivo hortícola importante. Puede utilizarse como un grano rico en proteína o como hortaliza de hoja, con potencial como cultivo forrajero también.

Actualmente, tres especies de amaranto se cultivan por sus granos: *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*. Aunque estas tres especies son nativas de América, también se hallan distribuidas en Asia y en África. En América, *A. hypochondriacus* se ubica principalmente en el Norte y centro de México, *A. cruentus* en el Sur de México y América Central y *A. caudatus* en los Andes, aunque existen cultivos de este grano en otros países, como Argentina⁶⁸. Es un valioso y nutritivo alimento, con una alta productividad. Se considera que una buena cosecha de amaranto supera los 12.080 kg/ha. Es un cultivo muy adaptable, resistente a la sequía, a variaciones amplias de temperatura, insectos y enfermedades. Crece bien a diferentes altitudes y en terrenos con niveles variables de nutrientes⁶⁹. Por otra parte, ciertas especies de amaranto comestibles y no comestibles han sido utilizadas como fuente de biomasa dado su elevado rendimiento bajo condiciones marginales⁷¹.

La composición química de sus pequeñas semillas está dada por un 14-19% de proteína, 5-8% de lípidos, 62-69% de almidón y 4-5% de fibra⁶⁹. Su composición es comparable a la de la avena. El almidón representa la mayor proporción de los carbohidratos presentes. Sus gránulos son pequeños (1-3 μm), fácilmente degradables por acción de α -amilasas y resistentes al daño mecánico y a las condiciones de congelamiento. Repo-Carrasco-Valencia y cols.⁷² informaron que el almidón de *A. caudatus* presentó una digestibilidad del 31,3-33,4% *in vitro*.

Los principales lípidos de la semilla de amaranto están compuestos por los ácidos linoleico, oleico y palmítico y se hallan en el embrión. De acuerdo con la composición de la semilla, el aceite de amaranto es similar a los aceites de algodón o maíz, pero presenta menor digestibilidad. El aceite de amaranto contiene alrededor de 8% de escualeno, un precursor de esteroides utilizado en medicina y en la industria cosmética. Cerca del 90% de los lípidos totales de amaranto corresponden a triglicéridos y lípidos complejos (fosfolípidos y glicolípidos). En las tres especies cultivadas de amaranto, la relación entre ácidos saturados e insaturados varía entre 0,26-0,31⁶⁸.

Su contenido en minerales depende de la especie y de las condiciones de cultivo. La cantidad de calcio y magnesio es mayor que la de los cereales. Sus semillas son una buena fuente de vitaminas, principalmente ácido ascórbico y las pertenecientes al complejo B, y de los antioxidantes α -tocoferol y β - y γ -tocotrienoles.

En lo referente a las proteínas de amaranto, se ha señalado que las fracciones de albúmina, globulina y glutelina son las más abundantes, con una fracción menor de prolamina (1,5-11%)⁶⁸. Las albúminas y globulinas contienen menos ácido glutámico y prolina, así como más lisina que las prolaminas⁶⁶. A diferencia de los cereales, el amaranto posee un mayor contenido de aminoácidos tales como lisina, metionina, treonina y cisteína. Las semillas de amaranto son también una fuente de triptófano y aminoácidos que contienen azufre. La equilibrada composición en aminoácidos del amaranto es cercana al patrón de referencia proteínico óptimo para la dieta humana, de acuerdo con los requerimientos de la FAO/WHO⁷⁰. Esta característica podría estar relacionada con que en el amaranto, un 65% de las proteínas se hallan en el embrión y sólo un 35% en el perispermo, mientras que en otros granos los aminoácidos prevalecen en el endospermo (85% en promedio). Adicionalmente, se ha señalado que el perfil de aminoácidos de las proteínas del amaranto es com-

parable con el de las proteínas del huevo⁶².

Se ha reconocido el rol de las proteínas como componentes bioactivos, ya sea como tales o luego de producirse la hidrólisis *in vivo* o *in vitro*, presentando algunos de sus péptidos encriptados efectos antihipertensivos, antioxidantes y positivos sobre la hipercolesterolemia^{73,74}.

Los usos alimenticios del amaranto incluyen su incorporación como ingrediente en panes, pastas, alimentos para infantes, bebidas instantáneas, etc. El producto más común es la harina, aunque las semillas enteras de amaranto pueden agregarse en panes, barras de muesli, alimentos para el desayuno y galletas. Igualmente, sus hojas y tallos pueden emplearse como hortaliza para la elaboración de sopas, ensaladas u otros alimentos.

Por otra parte, se ha propuesto utilizar a las especies *Amaranthus australis* L. o *Amaranthus cruentus* L. como materia prima para procesos de producción de biocombustible de alta calidad a partir de biomasa⁷¹.

2.7. Granos de Legumbres Americanos

Los porotos, frijoles o habichuelas (*Phaseolus sp.*) son uno de los alimentos más antiguos conocidos por el hombre y han sido un componente importante de la dieta humana desde tiempos remotos. Su cultivo empezó alrededor de 7.000 años a.C. en el Sur de México y Guatemala. Los porotos y sus prácticas de cultivo se dispersaron gradualmente a través de América del Sur. Estos granos fueron llamados *etl*, *buul* y *purutu* por los aztecas, mayas e incas, respectivamente⁷⁵. Las legumbres domesticadas más antiguas conocidas fueron halladas en la Caverna Guitarrero, un sitio arqueológico en Perú, y fueron fechadas alrededor del segundo milenio a.C.

Las culturas precolombinas domesticaron cinco tipos de legumbres del género *Phaseolus*: los porotos comunes (*P. vulgaris*) cultivados desde Chile hasta la parte septentrional del actual territorio de los EE.UU., los porotos de Lima o sieva (*P. lunatus*) así como los menos difundidos porotos teparías (*P. acutifolius*), ayecotes (*P. coccineus*) y los perennes (*P. polyanthus*). Un uso especialmente reconocido de las legumbres por parte de los pueblos precolombinos es el método de cultivo conocido como “las Tres Hermanas”, en el que estas legumbres se cultivan junto con maíz y calabaza⁷⁵. A la llegada de los europeos al continente, las legumbres eran cultivadas a través del Nuevo Mundo, tanto en América del Norte como en América Central y del Sur. Desde principios del siglo XVII, las variedades de legumbres americanas ya eran populares en Europa, África y Asia.

En el año 2012, la producción mundial de porotos fue de 23,23 millones de toneladas métricas, cosechadas a partir de 29,92 millones de hectáreas¹¹. Estos valores resultarían sobreestimados ya que la FAO no indica por separado los datos para especies del género *Phaseolus* y las pertenecientes a otros géneros.

India fue el principal productor, aportando el 21% de la producción total, seguido por Brasil, Myanmar, China, los EE.UU. y México. En América Latina se cultivan porotos silvestres en un

amplio arco que abarca desde el Norte de México (aproximadamente 30°N) hasta el Noroeste de Argentina (cerca de 35°S) a altitudes entre 500 y 2.000 m y regímenes pluviales de 500 a 1.800 mm.

Previo a su domesticación, el *P. vulgaris* silvestre ya presentaba dos reservas genéticas principales, cada una con su distribución geográfica característica, en Mesoamérica y los Andes⁷⁶. Cabe aclarar que, en el contexto del presente texto, el área mesoamericana comprende la parte sur de América Central, Colombia y Venezuela. Asimismo, se incluyen dentro de la región Andina el sur de Perú, Bolivia y Argentina. Estas dos reservas genéticas, pueden diferenciarse tanto a nivel morfológico como molecular⁷⁶.

Constantemente se están desarrollando nuevos cultivares de *P. vulgaris* desde los centros de investigación. El valor económico de un nuevo cultivar depende de su productividad, tasa de crecimiento, resistencia a enfermedades, tamaño, color y calidad de la semilla, así como del tiempo de cocción requerido, el sabor y la textura del producto una vez cocido. Por esta razón, los criterios de selección incluyen muchas de estas características. Actualmente, también se considera como un componente muy importante la calidad nutricional.

Las legumbres han sido consideradas como “la carne de los pobres”, ya que generalmente son muy buenas fuentes de nutrientes. Representan una importante y relativamente económica fuente de proteína, fibra dietaria y almidón para gran parte de la población del mundo, principalmente para los países en vías de desarrollo. Son, asimismo, una de las mejores fuentes de hierro procedente de fuentes vegetales, proporcionando un 23-30% de los niveles diarios recomendados con una sola porción⁷⁷.

En lo referente a su composición química, los porotos y sus harinas derivadas son una importante fuente de proteínas. Sus contenidos varían significativamente de acuerdo con el origen botánico de las harinas. Las harinas de legumbres son buenos suplementos para productos basados en cereales. Éstos son deficientes en el aminoácido esencial lisina, mientras que los granos de leguminosas poseen un alto contenido del mismo. En contraposición, las proteínas de cereales complementan a las de legumbres en relación con el aminoácido esencial metionina⁶⁸. Los porotos, así como las lentejas, poseen una composición de aminoácidos específica: son ricos en lisina y presentan baja proporción de aminoácidos azufrados. Pirman y cols.⁷⁸ informaron que la composición en aminoácidos de tres cultivares de porotos es similar en su estado crudo. En comparación con las lentejas, los porotos contienen más metionina, tirosina y serina, y menos arginina⁷⁸.

Los porotos comunes han sido considerados como un alimento con un bajo índice glucémico, principalmente por su contenido de fibra dietaria y de almidón resistente. Ramírez-Jiménez y cols.⁷⁹ señalaron que las semillas de *P. vulgaris* presentaban una baja digestibilidad del almidón y mayores cantidades de almidón resistente, luego de los tratamientos de secado. El almidón procedente de harina de legumbres se digiere más lentamente que el proveniente de cereales y su ingesta produce menos cambios abruptos en los niveles de glucosa e insulina del plasma. Las semillas de leguminosas son también valiosas fuentes de fibra dietaria, vitaminas y minerales, incluyendo fo-

lato, tiamina y riboflavina⁷. El consumo de legumbres se ha asociado con muchos beneficios para la salud, incluyendo la reducción del riesgo de diabetes tipo 2 y de enfermedades cardiovasculares, así como la prevención de la aparición de varios tipos de cáncer. Los porotos han sido estudiados por sus componentes bioactivos, tales como antioxidantes, compuestos fenólicos, fracciones de fibra dietaria, almidón resistente y oligosacáridos presentes en las semillas⁷⁹.

Se han agregado harinas de porotos a diversos alimentos, para mejorar su valor nutricional o para lograr atributos funcionales deseables^{80,81}. A pesar de su contribución en aspectos nutricionales, la incorporación de estas harinas en productos funcionales está definida por las propiedades tecnológicas, tales como la solubilidad, la capacidad de retención de agua y la absorción de grasas.

3. Consideraciones Finales

El continente americano (particularmente Sur y Centroamérica), por tratarse de una de las zonas más megadiversas de nuestro planeta, ha aportado una gran cantidad de alimentos de origen vegetal para la nutrición de la humanidad.

América Latina es una de las mayores regiones exportadoras de alimentos del mundo, aunque no ha alcanzado su pleno potencial para expandir su producción agrícola, destinada al consumo regional y a la exportación global. Esta región del planeta posee de abundantes recursos naturales, e inclusive un tercio de la provisión mundial de agua dulce. Asimismo, la región tiene una gran cantidad de agricultores con experiencia, que han conservado y transmitido su conocimiento sobre agricultura y alimentación.

Se ha indicado que las próximas décadas ofrecerán una oportunidad crítica para reforzar, en la región, formas de agricultura productiva y ambientalmente sostenibles. Los expertos señalan que el reto es mucho más complejo que simplemente producir más alimentos. Es esencial alimentar una población global en rápido crecimiento sin expandir la agricultura hacia áreas ambientalmente susceptibles, reduciendo la capacidad productiva de la tierra ya cultivada y afectando la calidad.

A pesar de la existencia de numerosas especies total o parcialmente domesticadas que se remontan a la época de los primeros pobladores de América, la utilización comercial de los recursos genéticos autóctonos es aún incipiente en la región.

La domesticación de plantas nativas, incluyendo las ya conocidas y comercializadas por los pueblos locales, con poca presencia en mercados nacionales e internacionales, es una gran oportunidad que espera ser desarrollada. En muchas regiones del continente, esta riqueza todavía resulta subutilizada, particularmente debido a la presión económica y de mercado que favorece a los cultivos y productos exóticos.

Dentro del contexto de una clara necesidad de diversificación de la dieta, aquellas poblaciones con requerimientos especiales, tales como los pacientes celíacos, podrían beneficiarse con la oferta de

componentes dietarios más equilibrados, nutritivos y seguros. Resulta así urgente la posibilidad de aprender en gran medida sobre los alimentos tradicionales y diseminar el conocimiento local y territorial para el desarrollo y producción de alimentos innovadores libres de gluten, respetando y preservando los modos de vida locales.

Referencias

1. Charrondi re UR, Stadlmayr B, Rittenschober D, Mouille B, Nilsson E, Medhammar E et al. *FAO/IN-FOODS food composition database for biodiversity*. Food Chem. 2013; 140: 408-12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.049>
PMid:23601383
2. UNEP. *United Nations Environment Programme. Global Biodiversity Assessment*. Cambridge: Cambridge University Press. 1995; 1140.
3. Savard J-PL, Clergeaub P, Mennechez G. *Biodiversity concepts and urban ecosystems*. Landsc Urban Plan. 2000; 48: 131-42.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00037-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00037-2)
4. SOFI. *The State of Food Insecurity in the World 2012*. Rome: FAO. 2012.
<http://www.fao.org/publications/sofi/en/>
5. He C. Opening address. *International Scientific Symposium. Biodiversity and Sustainable Diets United against Hunger*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010.
6. CIP. *Centro Internacional de la Papa (International Potato Center)*. 2014.
<http://cipotato.org/es/>
7. Dini C, Garc a MA, Vi a SZ. *Non-traditional flours: frontiers between ancestral heritage and innovation*. Food Funct. 2012; 3: 606-20.
<http://dx.doi.org/10.1039/c2fo30036b>
PMid:22499487
8. ICC. *International Association for Cereal Science and Technology. Growing interest in gluten-free foods and beverages and important conclusions for the future of gluten-free discussed at the GF13*. The 3rd International Symposium on Gluten-Free Foods and Beverages (Vienna, Austria, 12-14 June 2013) 2014.
https://www.icc.or.at/news/gf13_report. Accessed on March 2014.
9. Gibson L, Benson G. Origin, History, and Uses of Corn (Zea mays). *Iowa State University, Department of Agronomy*. 2002.
www.agron.iastate.edu/Courses/agron212/readings/corn_history.htm. Accessed: January 2014.
10. Hannon S. *The Journey of New World Foods*. 2010.
<http://www.pbs.org/when-worlds-collide/>. Accessed: March 2014.
11. FAOSTAT. *FAO Statistics Division*. 2014. <http://faostat.fao.org/>
12. Singh N, Singh S, Shevkani K. *Maize: Composition, Bioactive Constituents, and Unleavened Bread*. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB (Eds.). *Flours and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*. USA: Academic Press, Elsevier Inc. 2011; 89-99.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-380886-8.10009-1>

13. FAO Maize in human nutrition. FAO Corporate Document Repository. Produced by Agriculture and Consumer Protection. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome, Italy. 1992. <http://www.fao.org/docrep/t0395e/t0395e00.HTM>. Accessed: January 2014.
14. Veloso Naves MM, Vieira Leão de Castro M, Luiz de Mendonça A, Gebrim Santos G, Silva MS. *Corn germ with pericarp in relation to whole corn: nutrient contents, food and protein efficiency, and protein digestibility-corrected amino acid score*. Ciênc Tecnol Aliment Campinas. 2011; 31(1): 264-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612011000100040>
15. Vander Zaag P. *One potato, two potato*. Far Eastern Economic Review. 1984; 23: 64-6.
16. Kiple KF, Ornelas KC (Eds.). *The Cambridge World History of Foods (parts 1 and 2)*. Cambridge University Press. 2008. <http://www.cambridge.org/us/books/kiple/default.htm>. Accessed: February 2014.
17. Rodríguez-Sandoval E, Sandoval G, Cortes-Rodríguez M. *Effect of quinoa and potato flours on the thermomechanical and breadmaking properties of wheat flour*. Brazilian J Chem Eng. 2012; 29(3): 503-10. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66322012000300007>
18. Misra A, Kulshrestha K. *Potato flour incorporation in biscuit manufacture*. Plant Food Hum Nutr. 2003; 58(3): 1-9. <http://dx.doi.org/10.1023/B:QUAL.0000040337.69812.cb>
19. Ezekiel R, Singh N. *Use of potato flour in bread and flat bread*. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB (Eds.). *Flours and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*. USA: Academic Press, Elsevier Inc. 2011; 247-59. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-380886-8.10023-6>
20. USDA (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service). USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2013. Release 26. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
21. Gahlawat P, Sehgal S. *Protein and starch digestibilities and mineral availability of products developed from potato, soy and corn flour*. Plant Foods Hum. Nutr. 1998; 52: 151-60. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008045023304>
PMid:9839814
22. Rodríguez-Galdón B, Ríos-Mesa D, Rodríguez-Rodríguez EM, Díaz-Romero C. *Amino acid content in traditional potato cultivars from the Canary Islands*. J Food Comp Anal. 2010; 23: 148-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.009>
23. Ochoa CM. *The potatoes of South America: Bolivia*. Cambridge: Cambridge University Press. 1990; 551.
24. Ispizúa VN, Guma IR, Feingold S, Clausen AM. *Genetic diversity of potato landraces from northwestern Argentina assessed with simple sequence repeats (SSRs)*. Genet Resour Crop Evol. 2007; 54: 1833-48. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-007-9207-8>

25. Andrade-Mahecha MM, Tapia-Blácido DR, Menegalli FC. *Physical-chemical, thermal, and functional properties of achira (Canna indica L.) flour and starch from different geographical origin*. *Starch/Stärke*. 2012; 64: 348-58.
<http://dx.doi.org/10.1002/star.201100149>
26. Noman ASM, Hoque MA, Haque MM, Pervin F, Karim MR. *Nutritional and anti-nutritional components in Pachyrhizus erosus L. tuber*. *Food Chem*. 2007; 102: 1112-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.055>
27. Ribeiro RA, Finger FL, Puiatti M, Casali VWD. *Chilling injury sensitivity in arracacha (Arracacia xanthorrhiza) roots*. *Trop. Sci*. 2005; 45: 55-7.
<http://dx.doi.org/10.1002/ts.48>
28. Wang Y, Wang Y, McNeil B, Harvey LM. *Maca: An Andean crop with multi-pharmacological functions*. *Food Research Int*. 2007; 40: 783-92.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2007.02.005>
29. Puoci F, Malanchin R, Piangiolino C, Restuccia D, Curcio M, Parisi OI et al. *Maca flour: a powerful ingredient for functionally enhanced bread*. *Int Food Res J*. 2013; 20(3): 1293-300.
30. Zheng BL, He K, Kim CH, Rogers L, Shao Y, Hunag ZY et al. *Effect of lipidic extract from Lepidium meyenii on sexual behavior in mice and rats*. *Urology*. 2000; 55: 598-602.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0090-4295\(99\)00549-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0090-4295(99)00549-X)
31. Sandoval M, Okuhama NN, Angeles FM, Melchor VV, Condezo LA, Lao J et al. *Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (Lepidium meyenii)*. *Food Chem*. 2002; 79: 207-13.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00133-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00133-4)
32. Lee K-J, Dabrowski K, Sandoval M, Miller MJS. *Activity-guided fractionation of phytochemicals of maca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utilization, and survival in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) juveniles*. *Aquaculture*. 2005; 244(1-4): 293-301.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.006>
33. Zhang YZ, Yu LJ, Ao MZ, Jin WW. *Effect of ethanol extract of Lepidium meyenii Walp on osteoporosis in ovariectomized rat*. *J Ethnopharmacol*. 2006; 105: 274-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.013>
PMid:16466876
34. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros-Zevallos L. *Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (Solanum sp.), mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón), Oca (Oxalis tuberosa Molina) and ulluco (Ullucus tuberosus Caldas)*. *J Sci Food Agric*. 2006; 86(10): 1481-8.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2529>

35. Azeredo HMC. *Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review*. Int J Food Sci Technol. 2009; 44(12): 2365-76.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>
36. Coll-Aráoz MV, Kortsarz-González AM, Mercado MI, Ponessa GI, Grau A, Catalán CAN. *Ontogeny and total sugar content of yacon tuberous roots and other three Smallanthus species (Heliantheae, Asteraceae), insights on the development of a semi-domesticated crop*. Genet Resour Crop Evol. 2014; 61: 163-72.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10722-013-0022-0>
37. Dempewolf H, Rieseberg LH, Cronk QC. *Crop domestication in the Compositae: a family-wide trait assessment*. Genet Resour Crop Evol. 2008; 55: 1141-57.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10722-008-9315-0>
38. Abera T, Admasu S, Desse G. *Effect of processing on physicochemical composition of cassava*. Cyanide and other antinutrients in cassava. Saarbrücken: VDM Verlag Dr Müller GmbH & Co. 2010.
PMCID:PMC2791881
39. Hillocks RJ. Cassava in Africa. In: Hillocks RJ, Thresh JM, Bellotti AC (Eds.). *Cassava: Biology, production and utilization*. Oxford: CABI Publishing. 2002; 41-54.
<http://dx.doi.org/10.1079/9780851995243.0041>
40. Allem AC. *The origins and taxonomy of cassava*. In: Hillocks RJ, Thresh JM, Bellotti AC (Eds.). *Cassava: Biology, production and utilization*. Oxford: CABI Publishing. 2002; 1-16.
<http://dx.doi.org/10.1079/9780851995243.0001>
41. Malandula Chipeta M, Bokosi JM. *Status of Cassava (Manihot esculenta) Production and Utilization in Malawi*. Int J Agron Plant Prod. 2013; 4(S): 3637-44.
42. UNCTAD United Nations Conference on Trade and Development. *Sweet Potato Commodity Profile*. 2012.
<http://www.unctad.info/en/Infocomm/AACP-Products/COMMODITY-PROFILE---Sweetpotato/>.
Accessed: March 2014.
43. Greene JL, Bovell-Benjamin, AC. *Macroscopic and Sensory Evaluation of Bread Supplemented with Sweet-potato Flour*. J Food Sci. 2004; 69(4): 167-73.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb06359.x>
44. Walter Jr WM, Collins WW, Purcell AE. *Sweet Potato Protein: A Review*. J Agric Food Chem. 1984; 32: 695-9.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf00124a001>
45. Sun M, Mu T, Zhang M, Arogundade LA. *Nutritional assessment and effects of heat processing on digestibility of Chinese sweet potato protein*. J Food Comp Anal. 2012; 26: 104-10.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.008>

46. Maeshima M, Sasaki T, Asahi T. *Characterization of major proteins in sweet potato tuberous roots*. *Phytochem.* 1985; 24: 1899-902.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83088-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83088-5)
47. Guerrero-Beltrán JA, Estrada-Girón Y, Swanson BG, Barbosa-Cánovas GV. *Pressure and temperature combination for inactivation of soymilk trypsin inhibitors*. *Food Chem.* 2009; 116(3): 676-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.001>
48. Aquino MU. *BAR (Bureau of Agricultural Research) Chronicle (Philippines)*. 2009; 10(8): 13.
49. Kumar CG, Parrack P. *Arrowroot (Marantha arundinacea) starch as a new lowcost substrate for alkaline protease production*. *World J Microbiol Biotechnol.* 2003; 19: 757-62.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1025156105148>
50. Hernández-Medina M, Torruco-Uco JG, Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. *Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México*. *Ciènc. Tecnol. Aliment.* 2008; 28 (3): 718-26. ISSN 1678-457X.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000300031>
51. Tapia M. *The Environment, Crops and Agricultural Systems in the Andes and Southern Peru*. IICA. 1982.
52. Cusack D. *Quinoa: grain of the Incas*. *Ecologist.* 1984; 14: 21-31.
53. Abugoch L, Castro E, Tapia C, Añon MC, Gajardo P, Villaroel A. *Stability of quinoa flour proteins (Chenopodium quinoa Willd.) during storage*. *Int. J. Food Sci Technol.* 2009; 44: 2013-20.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02023.x>
54. Galwey NW. *The potential of quinoa as a multipurpose crop for agricultural diversification: a review*. *Ind. Crops Prod.* 1992; 1(2-4): 101-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/0926-6690\(92\)90006-H](http://dx.doi.org/10.1016/0926-6690(92)90006-H)
55. Jacobsen SE. *The worldwide potential of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. *Food Rev Int.* 2003; 19(1-2): 167-77.
<http://dx.doi.org/10.1081/FRI-120018883>
56. Bhargava A, Shukla S, Ohri D. *Chenopodium quinoa—An Indian perspective*. *Ind Crops and Prod.* 2006; 23: 73-87.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.04.002>
57. Repo-Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen SE. *Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (Chenopodium quinoa) and kañiwa (Chenopodium pallidicaule)*. *Food Rev Int.* 2003; 19(1-2): 179-89.
<http://dx.doi.org/10.1081/FRI-120018884>
58. Cardozo A, Tapia ME. *Valor nutritivo. Quinua y Kaniwa. Cultivos Andinos*. In: Tapia ME (Ed). *Serie libros y Materiales educativos.. Bogotá: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.* 1979. 49: 149-92.

59. Koziol MJ. *Chemical composition and nutritional value of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. J Food Comp Anal. 1992; 5: 35-68.
[http://dx.doi.org/10.1016/0889-1575\(92\)90006-6](http://dx.doi.org/10.1016/0889-1575(92)90006-6)
60. Van Etten CH, Miller RW, Wolff IA, Jones Q. *Amino acid composition of seeds from 200 angiosperm plants*. J Agric Food Chem. 1963; 11: 399-410.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf60129a016>
61. Peiretti PG, Gaia F, Tassone S. *Fatty acid profile and nutritive value of quinoa Chenopodium quinoa Willd. seeds and plants at different growth stages*. Animal Feed Sci Technol. 2013; 183: 56-61.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.012>
62. Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. *Pseudocereals*. In: Arendt EK, Dal Bello F (Eds.). *Gluten-free Cereal Products and Beverages*. Ireland: Cork. 2008; 149-76.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-012373739-7.50009-5>
63. Park SH, Morita N. *Dough and breadmaking properties of wheat flour substituted by 10% with germinated quinoa flour*. Food Sci and Technol Int. 2005; 11(6): 471-6.
<http://dx.doi.org/10.1177/1082013205060766>
64. Collar C, Angioloni A. *Pseudocereals and teff in complex breadmaking matrices: Impact on lipid dynamics*. J. Cereal Sci. 2014; 59: 145-54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.12.008>
65. Aluko RE, Monu E. *Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolysates*. J. Food Sci. 2003; 68: 1254-8.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09635.x>
66. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. *Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients*. Trends Food Sci Technol. 2010; 21: 106-13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
67. Collar C, Martínez JC, Rosell CM. *Lipid binding of fresh and stored formulated wheat breads*. Relationships with dough and bread technological performance. Food Sci Technol Int. 2001; 7(6): 501-10.
68. Añón MC, Puppo MC, Pedroza-Islas R, Oliete B, Villagómez-Zavala D. *Valor nutricional y saludable de materias primas para la elaboración de productos de panificación*. In: Lutz M, León, AE (Eds.). *Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación*. Valparaíso: Ed. Universidad de Valparaíso. 2009; 71-119.
69. Amicarelli V, Camaggio G. *Amaranthus: a crop to rediscover*. Forum Ware International. 2012; 2: 4-11.
70. Grobelnik Mlakar S, Turinek M, Jakop M, Bavec M, Bavec F. *Grain amaranth as an alternative and perspective crop in temperate climate*. Revija za geografijo - Journal for Geography. 2010; 5(1): 135-45.

71. Vıglasky J, Andrejčak I, Huska J, Suchomel J. Amaranth (*Amarantus L.*) is a potential source of raw material for biofuels production. *Agron Researc.* 2009; 7(2): 865-73.
72. Repo-Carrasco-Valencia R, Peña J, Kallio H, Salminen S. *Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (Amaranthus caudatus).* *J. Cereal Sci.* 2009; 49(2): 219-24.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2008.10.003>
73. Fritz M, Vecchi B, Rinaldi G, Añón MC. *Amaranth seed protein hydrolysates have in-vivo and in-vitro antihypertensive activity.* *Food Chem.* 2011; 126: 878-84.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.065>
74. Orsini Delgado MC, Tironi VA, Añón MC. *Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulate gastrointestinal digestion.* *LWT Food Sci and Technol.* 2011; 44: 1752-60.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.002>
75. Chazan M. *World Prehistory and Archaeology: Pathways through Time.* Pearson Education, Inc. 2008.
76. Gepts P. *Origin and evolution of common bean: past events and recent trends.* *Hort Sci.* 1998; 33(7): 1124-30.
77. Shimelis EA, Rakshit SK. *Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (Phaseolus vulgaris L.) varieties grown in Ethiopia.* *LWT Food Sci and Technol.* 2005; 38: 331-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
78. Pirman T, Stibilj V, Stekar JMA, Combe E. *Amino acid composition of beans and lentil.* *Zb Bioteh Fak Univ Ljubl, Kmet Zooteh.* 2001; 78: 57-68.
79. Ramírez-Jiménez AK, Reynoso-Camacho R, Mendoza-Díaz S, Loarca Piña G. *Functional and technological potential of dehydrated Phaseolus vulgaris L. flours.* *Food Chem.* 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.008>
80. Anton AA, Gary Fulcher R, Arntfield SD. *Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (Phaseolus vulgaris L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking.* *Food Chem.* 2009; 113(4): 989-96.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.050>
81. Boye J, Zare F, Pletch A. *Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed.* *Food Res Int.* 2010; 43: 414-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>

CAPÍTULO 19

BEBIDAS ALCOHÓLICAS SIN GLUTEN.

María Ángeles Bustamante, Edurne Simón

Area de Nutrición y Bromatología. Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Álava, España.

marian.bustamante@ehu.es

edurne.simon@ehu.es

Cómo citar este capítulo:

Bustamante MA, Simón E. *Bebidas Alcohólicas sin Gluten*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

Las bebidas alcohólicas son aquellas que contienen más de 0.5% (vol/vol) de alcohol que se produce mediante diferentes procesos (fermentación, adición, destilación, extracción, etc.). No existe una clasificación establecida de las bebidas alcohólicas, por lo que el criterio que se utiliza más comúnmente para su división en dos grupos es su concentración alcohólica: 1) Bebidas alcohólicas fermentadas, tales como la cerveza, la sidra y el vino, y 2) Bebidas destiladas o espirituosas, de mayor concentración alcohólica.

La elaboración de algunas bebidas alcohólicas fermentadas y espirituosas precisa de la utilización de materia prima que contiene gluten (cereales como cebada, trigo o centeno). Por esta razón, en muchos casos, se ha considerado que no deberían incluirse en la dieta de personas celíacas. También es común agregar material procedente de plantas para clarificar algunas de estas bebidas, con el fin de filtrar o eliminar partículas en suspensión y, en algunas ocasiones, incluso proteínas de malta o preparados hidrolizados con gluten. Además, se permite agregar aromatizantes a algunas bebidas espirituosas, obteniéndose la mayor parte de ellos a partir de materia prima fermentada. A pesar de estos riesgos, es posible actualmente hallar en el mercado diferentes tipos de bebidas alcohólicas fermentadas y espirituosas que no contienen gluten, y que, por tanto, son aptas para la población celíaca.

Como consecuencia de los procesos de producción, es necesario realizar análisis de gluten en el producto final de bebidas alcohólicas fermentadas y espirituosas antes de permitir el etiquetado “sin gluten”. Sin embargo, si durante el proceso de elaboración se ha producido hidrólisis de gluten debido a procesos de fermentación o por el uso de enzimas proteolíticas, no sería apropiado el empleo de método ELISA R5 sándwich. En estos casos, otras técnicas como la espectrometría de masa (EM) o el ELISA R5 competitivo ofrecen ciertas ventajas frente a dicho método sándwich.

Palabras clave

Bebidas sin gluten, cerveza, bebidas alcohólicas, espirituosas, análisis de gluten.

1. Introducción

Las bebidas alcohólicas son aquellas que contienen más de 0.5% (vol/vol) de alcohol y pueden obtenerse mediante varios procesos (fermentación, adición, destilación, extracción, etc.). No existe una clasificación definitiva de las bebidas alcohólicas de acuerdo con su contenido alcohólico, proceso de elaboración, contenido carbónico, etc. y la división más comúnmente utilizada es la siguiente: bebidas alcohólicas fermentadas, tales como cerveza, sidra y vino, que tienen, en general, una concentración alcohólica de media a baja (menor a 15%) y bebidas destiladas y bebidas espirituosas (con elevada concentración de alcohol). Las bebidas de este segundo grupo pueden ser obtenidas por destilación, maceración, adición de alcohol o de otra bebida. Cabe señalar que en este grupo existen diferentes denominaciones y así, licor (liquor) se refiere a todas las bebidas destiladas en general y bebida espirituosa (spirit) hace referencia solo a aquellos licores elaborados sin agregar azúcar y con un mínimo de 20% de alcohol por volumen.

Las bebidas alcohólicas fermentadas han sido conocidas desde los tiempos de las primeras civilizaciones. Para su fabricación, se almacenaban cereales, frutas y zumos en recipientes en los que se fermentaban produciendo un líquido alcohólico. Los griegos, romanos, egipcios y asirios introdujeron mejoras en los métodos de elaboración del vino y la cerveza¹. Las cervezas se elaboran a partir de granos de cereales, la sidra a partir de las manzanas, y el vino y sus bebidas derivadas, a partir de las uvas. Los procesos de destilación para la elaboración de bebidas alcohólicas de alta graduación o espirituosas se desarrollaron posteriormente.

El proceso de elaboración de algunas bebidas alcohólicas fermentadas y bebidas espirituosas necesita, a veces, de la utilización de materia prima con gluten (granos como cebada, trigo o centeno). Por esta razón, en muchos casos, se ha pensado que no deberían ser incluidas en la dieta de las personas celíacas. No obstante, actualmente es posible encontrar en el mercado bebidas alcohólicas fermentadas y bebidas espirituosas que no contienen gluten y que son aptas para este colectivo.

El reglamento (EU) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo² sobre la información alimentaria facilitada al consumidor, adjunta en su Anexo II una lista de las sustancias o productos que causan alergias e intolerancias. Dicha lista incluye cereales que contienen gluten: trigo, centeno, cebada, avena, espelta, kamut o sus variedades híbridas y sus productos derivados. No obstante, también incluye algunas excepciones: a) Jarabes de glucosa a base de trigo, incluyendo dextrosa. b) Maltodextrinas a base de trigo. c) Jarabes de glucosa a base de cebada y d) Cereales utilizados para hacer destilados alcohólicos, incluido el alcohol etílico de origen agrícola. Algunos de estos productos se utilizan en la fabricación de algunas bebidas alcohólicas fermentadas y espirituosas sin gluten.

2. Bebidas Alcohólicas Fermentadas

2.1. Cerveza

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas de mayor consumo mundial. Es una bebida muy popular en la mayoría de los países europeos y americanos y puede constituir una parte importante de la dieta y del tiempo de ocio. El consumo promedio anual de cerveza en el 2011 se estableció en cerca de 68.2 kg/cápita en Europa y 78.3 kg/cápita en América del Norte³.

La cerveza es una bebida alcohólica no destilada, producida por la fermentación mediante levaduras de granos de cebada malteados u otros cereales (trigo, centeno y avena). La mayoría de las cervezas son aromatizadas con lúpulo, que aporta sabor amargo y actúa como conservante natural⁴. Ocasionalmente, pueden incluirse otros aromatizantes basados en hierbas o frutas.

En la elaboración tradicional de cerveza, la cebada (*Hordeum vulgare var. distichum*) es la materia prima más importante. La cebada se germina de manera controlada para desarrollar un sistema de enzimas que transforme el almidón en azúcar. En este proceso, que se conoce como malteado, se sintetizan enzimas que favorecen la movilización de los gránulos de almidón en el endospermo. El malteado se detiene mediante secado y, entonces, la cebada malteada se tuesta para desactivar las enzimas, desnaturalizar las proteínas y producir colores y aromas característicos.

El mosto se prepara mezclando la fuente de almidón (normalmente cebada malteada) con agua caliente, recurso conocido como *mashing* (“maceración”). La malta es triturada y, junto con agua, es convertida en pasta y parcialmente degradada y solubilizada con enzimas. El mosto se hierve con el lúpulo o derivados del lúpulo para hidrolizar y disolver las proteínas y los componentes del lúpulo. El proceso de hervido también destruye cualquier enzima que haya permanecido desde la etapa de maceración. A continuación, se produce la fermentación alcohólica mediante la adición de *Saccharomyces cerevisiae* (para cerveza tipo *ale*) o *Saccharomyces uvarum* (para cerveza tipo *lager*). Durante la fermentación, el mosto se convierte en cerveza en un proceso que dura de una semana a varios meses, dependiendo del tipo de levadura y cerveza. La fermentación se completa cuando se alcanza el contenido de alcohol deseado. Actualmente, la mayoría de las cervezas reciben un período de acondicionamiento relativamente corto, posterior a la fermentación y previo al filtrado. Este acondicionamiento se lleva a cabo para eliminar las proteínas de la solución, evitando así que el producto embotellado o envasado tenga, si no, una apariencia turbia^{4,5}.

La cerveza puede clasificarse de acuerdo a su extracto seco primitivo (ESP), que es el total de los ingredientes orgánicos sólidos del mosto, previo a la fermentación. Se expresa en g/100g de mosto (%). Las cervezas tradicionales tienen un $ESP \geq 11\%$; las cervezas especiales, un $ESP \geq 13\%$; cervezas extra especiales, un $ESP \geq 15\%$; cervezas sin alcohol, tienen un ESP variable entre 1 y 3%.

Dependiendo del tipo de fermentación, la cerveza puede clasificarse como cerveza de fermentación alta o de fermentación baja. Las cervezas de fermentación alta lo hacen a temperaturas

superiores a los 20°C y durante la fermentación las levaduras suben a la superficie, creando una gruesa capa rica en levaduras. Las variedades más conocidas de este tipo son Ale, Stout y Porter. También son cervezas de fermentación alta las cervezas británicas, así como las cervezas de trigo, la Altbier y Kölsch.

Las cervezas de fermentación baja o tipo lager, se elaboran a bajas temperaturas, que oscilan entre 7 y 15°C. A esas temperaturas, las levaduras de la cerveza tipo lager, crecen más lentamente que las de tipo ale y tienden a sedimentarse en el fondo del contenedor de fermentación. Pueden almacenarse durante períodos prolongados (meses) y se identifican generalmente de acuerdo a su lugar de procedencia: Múnich, Viena, Pilsner, etc. Algunas cervezas se elaboran mediante fermentación espontánea, utilizando variedades de levaduras naturales o silvestres como ocurre en las cervezas Lambic, Gueuze y Faro, entre otras.

La cerveza contiene un promedio de 0.2-0.6 g/100 mL de proteínas o péptidos procedentes, principalmente, de la cebada. Esta cantidad es más elevada que la que se halla en otras bebidas alcohólicas, como el vino (0.1-0.2 g/100mL). Las proteínas se encuentran relativamente sin modificar, pero pueden experimentar proteólisis u otras modificaciones químicas. La concentración de prolaminas en la cerveza depende del tipo de malta, la tecnología de maceración, el tipo de fermentación, la maduración y el proceso de estabilización. Debido a la utilización de la cebada y trigo malteados, se ha discutido durante mucho tiempo la posible presencia de péptidos inmunogénicos en la cerveza y por lo tanto, se excluye la cerveza de la dieta de las personas celíacas.

A pesar de que la mayoría de la población celíaca podría consumir una cerveza con bajos niveles de gluten, cada persona presenta un nivel diferente de tolerancia a partir del cual se activará su respuesta autoinmune. Por lo general, se desconocen las cantidades de gluten de la dieta que cada individuo puede ingerir sin causar daño a la mucosa del intestino delgado y se considera que, por lo general, debería mantenerse por debajo de 50 mg/día, tal como sugirieron Catassi y cols.⁶ o incluso cantidades inferiores

En este sentido, muchos adultos celíacos no están conformes con el hecho de que esta bebida no se pueda incluir dentro de su dieta, o que, en el mejor de los casos, solo puedan consumir un vaso por semana. Por esta razón, en los últimos años, se han lanzado al mercado varias cervezas que han sido comercializadas como “sin gluten” o “transformadas sin gluten”. La disponibilidad de cervezas sin gluten seguras podría mejorar el bienestar de las personas celiacas y su percepción de una vida social normal.

2.1.1. Estrategias para la Elaboración de Cervezas sin Gluten

La estrategia más obvia para elaborar cerveza sin gluten es mediante la utilización de materia prima sin gluten. Las cervezas sin gluten se elaboran a partir de cereales sin gluten como el mijo, arroz, sorgo, maíz y teff. La utilización de avena en cervezas sin gluten es discutible ya que no todas

las personas con intolerancia al gluten pueden incluir este cereal en su dieta sin presentar efectos adversos.

Es bien conocida la utilización de pseudocereales como alforfón, quinoa o amaranto para la elaboración de cervezas para este colectivo^{7,8,9,10}. Estas plantas son taxonómicamente diferentes de las *Poaceae* (familia de los pastos) y se consideran sin gluten^{11,12}. Otra opción es la utilización de otros productos vegetales como materia prima (patatas, batatas, castaña, almendras o avellanas, así como otras fuentes de azúcar fermentable y jarabes)^{12,13}.

El arroz (*Oryza sativa*) es probablemente el cereal utilizado más habitualmente con fines industriales y de investigación; no obstante, existen pocos datos sobre el malteado y la elaboración de cerveza utilizando exclusivamente arroz.

Algunos estudios^{14,15} han demostrado que las maltas de arroz poseen cantidades de extracto mucho menores y, por lo general, una menor actividad enzimática que la malta de cebada.

En comparación con la malta de cebada, las maltas de arroz presentan un menor porcentaje de proteína soluble y una menor proporción de proteínas solubles respecto de las totales, lo que implica que se modificaron muy poco durante el proceso de extracción.

Cuando se utilizan estas alternativas sin gluten, el proceso de elaboración de la cerveza es similar al de la cebada malteada pero, obviamente, parámetros tales como condiciones de germinación y fermentación, pH de maceración, variedad de levadura utilizada, temperaturas y condiciones de almacenamiento deben ser ajustadas de acuerdo con la materia prima utilizada^{7,8,9,10}.

Habitualmente, la malta se prepara a partir de cebada o trigo; con esto en mente, algunos autores han señalado diferencias importantes en la inmunotoxicidad celíaca de diferentes variedades de cebada¹⁶ o trigo naturalmente bajas en epítomos relacionados con la enfermedad celíaca¹⁷. Así, una segunda opción para elaborar cervezas bajas en gluten se basa en seleccionar cereales con menor número de epítomos inmunogénicos. Por lo tanto, la correcta selección de la malta facilita la producción de cerveza sin gluten a partir de materia prima tradicional mediante la eliminación de proteínas y péptidos tóxicos.

Adicionalmente, algunas veces es necesario utilizar preparaciones de enzimas industriales y adyuntos sin gluten, ya que la malta sin gluten no es tan adecuada para la elaboración de cerveza como la malta de cebada¹¹. Por ejemplo, la adición de enzimas como la beta-amilasa y amiloglicosidasa eleva la cantidad de azúcares fermentables en los mostos de malta de sorgo¹⁸.

Aunque la mayoría de fabricantes de cerveza han creado diferentes tipos de cervezas a partir de materia prima sin gluten (ej. Ale, Pale Ale, Pilsner, Lager, cerveza aromatizada con limón, etc.) es necesario indicar que el color, gusto y sabor pueden ser bastante diferentes de los de cervezas tradicionales elaboradas con cebada o trigo.

Otro método para elaborar cerveza sin gluten consiste en eliminar este componente de la cerveza. Los fabricantes de cerveza utilizan cebada para elaborar malta, la cual confiere el sabor tradicional de la cerveza y, posteriormente, agregan peptidasas microbianas o endopeptidasas de cereal^{11,19,20}. En realidad, esta operación no elimina el gluten de la cerveza; el gluten se escinde en pequeños fragmentos los cuales, se supone, son demasiado pequeños para resultar tóxicos para las personas con enfermedad celíaca. Sin embargo, es difícil cuantificar la cantidad de gluten en un producto como la cerveza cuando la proteína se ha hidrolizado^{20,21,22,23,24}.

Por esta razón, en algunos estados de los EE.UU., los fabricantes de cerveza a la que se le ha eliminado el gluten con este proceso, y la etiquetan con la declaración “niveles de gluten inferiores a 20 mg/kg” deben agregar que “el producto está fermentado a partir de cereales que contienen gluten y se han procesado para eliminarlo”²⁰.

Durante la fermentación, las proteasas de cereales con gluten germinados rompen los péptidos tóxicos para la población celíaca convirtiéndolos en fragmentos no tóxicos. También es posible agregar una prolil endopeptidasa (una endoproteasa específica para prolina) que descompone moléculas de gluten y otras proteínas en el extremo carboxil del aminoácido prolina. Se han utilizado prolil endopeptidasas en la industria de la elaboración de cerveza para prevenir su enturbiamiento y, cuando se agregan durante la fermentación o al finalizar el proceso, producen cerveza sin o con bajos niveles de gluten^{11,19,25}. Algunas veces, ambos tipos de enzima (prolil endopeptidasas de cereales y microbianas) se han utilizado para obtener cerveza con menor concentración de gluten (< 20 mg/kg)^{25,26}.

Otra estrategia para obtener cerveza sin gluten se fundamenta en la precipitación de las hordeínas. Durante muchos años la formación de turbidez se ha considerado un defecto en la elaboración de cerveza. Las proteínas que producen el enturbiamiento derivan de las hordeínas de cebada, ricas en prolinas. Para prevenir este defecto, y con el fin de estabilizar la cerveza, se han utilizado sustancias como taninos, gelatinas sin sabor e hidrogeles de sílice. Estas sustancias forman complejos con la prolina presente en la hordeína de la cebada y posteriormente pueden ser eliminados mediante precipitación y/o filtrado^{11,27,28}. El proceso elimina la turbidez y simultáneamente reduce el contenido de gluten. Esta cuarta estrategia no asegura la completa eliminación del gluten pero, a veces, el nivel obtenido es aceptable para el colectivo celíaco.

Finalmente, resulta obvio recordar que la elaboración de estas cervezas debe llevarse a cabo en un ambiente completamente libre de gluten.

2.2 Vino

El vino se obtiene exclusivamente mediante la fermentación alcohólica de la uva. Las uvas frescas, trituradas o el zumo de uva pueden ser empleados como materia prima para una posterior fermentación parcial o total^{1,4}.

Se utilizan uvas blancas y tintas, obteniéndose vino blanco a partir de uva blanca. A partir de la uva tinta se pueden elaborar vinos blancos, rosados o tintos, dependiendo del cultivar y del proceso de vinificación. Existen cultivares de uvas tintas con pulpa blanca de las que se obtiene mosto blanco y, si se separan los sólidos (hollejos) antes del inicio de la fermentación, se obtiene vino blanco. Los vinos tintos se elaboran a partir de uvas tintas en los que la fermentación se produce en presencia de los hollejos de la uva que aportan los pigmentos rojos o antocianinas. Los vinos rosados, pueden elaborarse a partir de uvas tintas o mezcla de blancas y tintas pero el proceso de fermentación se produce sin hollejos o estos se mantienen durante un periodo limitado de tiempo⁵.

Ninguna de las materias primas requeridas para la producción de vino contiene gluten, por lo que se le considera una bebida fermentada sin gluten. Pero, en algunos casos, es necesario clarificar el vino para eliminar las partículas en suspensión ya que éstas pueden afectar a la apariencia y al aroma y sabor (*flavor*) del vino. Este procedimiento debe asegurar la clarificación a largo plazo y prevenir la sedimentación durante el almacenamiento. El proceso de afinado se basa en la adición de sustancias que inducen procesos de floculación y sedimentación en vinos turbios o no estabilizados. El filtrado puede eliminar partículas como fragmentos de uvas y levaduras muertas, pero el afinado puede eliminar sustancias solubles (compuestos fenólicos como taninos y componentes que aportan color al vino tinto).

El afinado se lleva a cabo con productos basados en proteínas que son, a menudo, una mezcla de proteínas desnaturalizadas o parcialmente desnaturalizadas que captan sustancias indeseables dando lugar a un precipitado. Las proteínas utilizadas para el afinado, son, por lo general, de origen animal. En el vino tinto las más comúnmente utilizadas son la albúmina de huevo, albúmina de suero, caseína, cola de pescado o la gelatina de pescado. Estos complejos de proteína-fenol son luego eliminados mediante decantación, centrifugación o filtración. Actualmente, los productores de vino buscan un sustituto para estas proteínas animales debido a las restricciones impuestas por la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en animales y su posible transmisión a humanos. Como resultado de lo anterior, varios países de la Unión Europea han adoptado leyes para evitar la utilización de polvo de sangre y albúmina de suero^{29,30}.

Las proteínas vegetales han demostrado tener un potencial en este contexto. Para aclarar vinos se han utilizado proteínas de malta, prolaminas de sorgo y proteínas de leguminosa. El gluten del trigo, especialmente en preparaciones hidrolizadas, permite un aclarado muy eficiente del vino, con una precipitación selectiva de taninos condensados procedentes del vino tinto. Las proteínas de origen vegetal se consideran buenos agentes de afinado del vino, por lo que es importante cuantificar sus residuos en el vino afinado, ya que algunas proteínas vegetales podrían causar severas respuestas inmunológicas o intolerancia crónica. Tras finalizar este tratamiento, no puede excluirse la posibilidad de que algunas proteínas del gluten hayan quedado en el vino, lo que plantea un peligro potencial para personas con enfermedad celíaca^{29,30}.

La legislación sobre el etiquetado en la Unión Europea, Canadá, los EE.UU. y Australia exige que se indiquen en las etiquetas los compuestos potencialmente alérgicos pero existen pocos datos

sobre la posible presencia de proteínas vegetales en el vino afinado. A pesar de ello, los resultados publicados aportan evidencia de que la concentración de gluten en vinos tratados es muy inferior al umbral legal más restrictivo para bebidas sin gluten.

2.3. Sidra

La sidra es una bebida alcohólica fermentada, elaborada a partir del mosto de manzana¹. La contenido alcohólico de la sidra varía de 1.2% a 8.5% (vol/vol).

En el proceso general para la elaboración de sidra se trituran las manzanas y la pulpa resultante se transfiere a la prensa de sidra, donde se presiona hasta que todo el mosto o zumo sea extraído de la pulpa. Posteriormente se produce la fermentación en barriles de diversos tamaños. La proporción del contenido alcohólico depende directamente del contenido total de azúcar presente en el mosto, ya que durante el proceso de fermentación, el azúcar se transforma en anhídrido carbónico y alcohol. La sidra se transfiere, entonces, a otro barril para mantener la calidad y, meses más tarde, el proceso se ha completado y la sidra está lista para embotellarse.

Como en el caso del vino, toda la materia prima utilizada en la elaboración de la sidra está libre de gluten. Por lo tanto, en general, si todo el proceso se lleva a cabo en un ambiente enteramente libre de gluten, la sidra se considera, una bebida sin gluten.

No obstante, a algunas sidras especiales se agregan pequeñas cantidades de cebada malteada las cuales son posteriormente filtradas para garantizar la eliminación de gluten.

3. Bebidas Espirituosas

*The Official Journal of the European Union*³¹ contiene la siguiente definición: las bebidas espirituosas son bebidas alcohólicas para consumo humano. Por definición, las bebidas espirituosas poseen cualidades organolépticas particulares y poseen una cantidad de alcohol mínima de 15% (vol/vol). No obstante, algunas de ellas alcanzan hasta 40% (vol/vol).

Las bebidas espirituosas se producen de dos maneras. La primera forma de producción es directa y se puede realizar, a) Mediante destilación, con o sin aromatizantes agregados, de productos naturalmente fermentados; b) Mediante maceración de materia vegetal en alcohol etílico de origen agrícola y/o destilaciones de origen agrícola, y/o bebidas espirituosas; c) Mediante la adición de aromatizantes, azúcares u otros edulcorantes y/u otros productos de origen agrícola y/o alimentos con alcohol etílico de origen agrícola y/o a destilaciones de origen agrícola y/o a bebidas espirituosas. El segundo modo es mediante la mezcla de una bebida espirituosa con uno o más de a) otras bebidas espirituosas; b) alcohol etílico de origen agrícola o destilaciones de origen agrícola; c) otras bebidas alcohólicas; y/o d) bebidas.

Las bebidas espirituosas se clasifican por categorías (ron, whisky, vodka, etc.).

3.1. Ron

El ron es una bebida espirituosa producida exclusivamente mediante fermentación alcohólica y destilación, ya sea de melaza o jarabe obtenido durante la elaboración de azúcar de caña o del mismo jugo de la caña de azúcar³¹. Está prohibida la adición de alcohol o aromatizantes y únicamente es posible la adición de caramelo para su coloración. El grado alcohólico mínimo será de 37.5% (vol/vol).

Se considera que el ron es una bebida sin gluten ya que no se utilizan cereales que lo contengan durante su elaboración.

No obstante, en las mezclas para bebida preparadas comercialmente, tales como piña colada, mojito, daiquiri, etc., pueden presentarse ingredientes con gluten, como aromatizantes.

3.2. Whisky o Whiskey

El whisky o whiskey es una bebida espirituosa elaborada exclusivamente mediante la destilación de una mezcla de cereales malteados, con o sin granos enteros de otros cereales, que ha sido sacarificada por la diastasa que contiene la malta, con o sin otras enzimas naturales y fermentada por la acción de levaduras^{31,32}. La destilación se lleva a cabo, una o más veces, de modo que el destilado posee un aroma derivado de la materia prima empleada. Al finalizar, el destilado final se madura en barriles de madera, durante un mínimo de tres años. Este destilado, al que solamente se le pueden agregar agua o caramelo simple (como colorante), retiene su color, aroma y sabor derivados del proceso de producción. El contenido mínimo de alcohol por volumen en whisky es del 40%.

Algunos expertos como la *American Dietetic Association* “Asociación Dietética Americana” y la de *Dietitians of Canada* “Dietistas de Canadá” consideraron que, para clasificar el whisky como una bebida sin gluten³³, debería demostrarse el hecho de que la destilación elimina las proteínas tóxicas del gluten. Sobre este tema, la industria del whisky emprendió un programa de estudios que han demostrado la ausencia de gluten u otros materiales alergénicos en destilados que utilizan trigo y cebada como materia prima³⁴.

A pesar de ello, algunas asociaciones celíacas no aconsejan consumir whisky si el consumidor es particularmente sensible. Alegan que es posible que la destilación no elimine el 100% del gluten, o que una pequeña cantidad de gluten se vuelva a agregar como parte del proceso posterior a la destilación. En algunos casos, tras el proceso de destilación, los productores de whisky añaden colorante de caramelo (que puede contener gluten) o incluso una pequeña cantidad de la mezcla de cereales sin destilar.

3.3 Vodka

El vodka es una bebida espirituosa obtenida a partir de alcohol etílico de origen agrícola, producido por fermentación mediante levaduras de patatas y/o cereales u otra materia prima agrícola³¹. A continuación, esta es destilada y/o rectificada para reducir selectivamente las características organolépticas de la materia prima y los productos formados durante la fermentación. Tras este proceso, puede haber redestilación y/o tratamiento con coadyuvantes tecnológicos apropiados para conferirle cualidades sensoriales especiales. Los únicos aromatizantes que pueden agregarse son los compuestos naturales presentes en el destilado, obtenidos de la materia prima fermentada. Además, al producto se le pueden otorgar características organolépticas especiales sin que implique un sabor predominante. El contenido de alcohol mínimo del vodka es de 37.5% (vol/vol).

Existen muchos vodkas elaborados de a partir de materias sin gluten, tales como el vodka de patata, vodka de maíz o vodka de uva y habitualmente todos ellos están libres de gluten. La mayoría de ellos son etiquetados como sin gluten.

3.4. Ginebra

La ginebra es una bebida espirituosa que se elaborada aromatizando alcohol etílico de origen agrícola y organolépticamente apto con bayas de enebro (*Juniperus communis* L.). El contenido de alcohol mínimo por volumen de la ginebra debe ser del 37.5%³¹. Durante la producción de la ginebra pueden agregarse otros aromatizantes naturales e idénticos a los naturales de origen vegetal o animal.

Algunos expertos consideran que la ginebra es libre de gluten por tratarse de una bebida espirituosa. Sin embargo, se trata de un tema controvertido, ya que otros expertos no recomiendan esta bebida alcohólica para el colectivo celíaco debido a que el alcohol de origen agrícola utilizado en su elaboración se obtiene a partir de cereales que sí pueden incluir aromatizantes de trigo, cebada o centeno.

3.5. Aguardientes a base de Cereales, Vino, Frutas, Miel, Sidra, Perada y Orujo de Uva

Existe una amplia variedad de bebidas alcohólicas elaboradas exclusivamente mediante fermentación alcohólica y/o destilación de diversas materias primas (cereales, vino, frutas, miel, sidra, perada, etc.). La denominación de ventas difiere de acuerdo al tipo de materia prima utilizada en la elaboración³¹. Por ejemplo, la denominación de un aguardiente de frutas suele ser “aguardiente de”) seguido del nombre de la fruta, baya o vegetal, tales como: “aguardiente de cereza” o kirsch, de ciruela mirabel, de melocotón, de manzana, de pera, de albaricoque, de higo, de cítrico o de uva u otros aguardientes de frutas. Si se utilizan pulpas de varias frutas diferentes, la denominación

deberá ser aguardiente de pulpa frutas. La Tabla 1 muestra algunas características de esta clase de bebidas.

Producto	Materia prima	Proceso	Grado alcohólico
Aguardiente de cereal	Macerado fermentado de cereales de grano entero	Destilación	≥ 35.0%
Aguardiente vino	Vino	Destilación	≥ 37.5%
Aguardiente de orujo de uva	Orujo de uva	Fermentación y destilación	≥ 37.5%
Aguardiente de hollejos de frutas (excepto uva)	Hollejos de frutas (excepto uva)	Fermentación y destilación	≥ 37.5%
Aguardiente de frutas	Frutas carnosas o mosto de las mismas, bayas o vegetales	Fermentación y destilación	≥ 37.5%
Aguardiente de sidra o perada	Sidra o sidra de pera	Destilación	≥ 37.5%
Aguardiente de miel	Cereales y miel	Fermentación y destilación	≥ 35.0%

En esta categoría de bebidas espirituosas, la clave es la materia prima utilizada en su elaboración. La mayor parte de éstas están claramente libres de gluten, si se elaboran en un ambiente exento de gluten, pero otras como los aguardientes de cereales, pueden elaborarse a partir de cereales con gluten y no se requiere que se indique el tipo de cereal utilizado en su manufactura. A pesar de esto, como en el caso de otros alimentos, es necesario indicar los alérgenos en el etiquetado.

4. Problemas en la Cuantificación de Gluten en Bebidas Fermentadas y Bebidas Espirituosas

La evaluación del contenido de gluten en cervezas y otras bebidas debería considerar dos aspectos importantes. En primer lugar, ya que la cerveza de malta habitualmente se elabora con cebada y trigo, además de gliadina, las técnicas utilizadas deben ser capaces de detectar y cuantificar con precisión la prolamina de la cebada (hordeína). La utilización de un solo estándar de gliadina podría ser inapropiada para determinar la presencia de gluten en cereales, que consisten en una compleja mezcla de proteínas que presentan diferentes respuestas a los anticuerpos utilizados^{22,23,35}. Parece que la determinación requiere que el estándar de hordeína utilizado para calibrar la prueba sea similar en composición a las hordeínas presentes en las bebidas^{22,35}. Dependiendo del estándar utilizado, la cuantificación podría realizar una sobre-estimación o una sub-estimación, en varios órdenes de magnitud.

En segundo lugar, la prueba debería cuantificar con precisión las prolaminas parcialmente hidrolizadas (gliadinas y/o hordeínas), aunque no existe un estándar de hordeína hidrolizada apropiado para la cerveza¹¹. La medición de la cantidad de prolaminas hidrolizadas en esta clase de productos es uno de los principales problemas en el análisis de gluten, ya que las prolaminas han sido divididas en fragmentos más pequeños^{20,21,36}. Esto es lo que ocurre por ejemplo, durante la elaboración de cerveza.

El Codex Alimentarius considera que el ELISA R5 es el método tipo I para análisis de alimentos sin gluten. También está recomendado por el *Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity* (WGPAT, “Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de Prolaminas”) y la *Food and Drug Administration* (FDA)³⁷.

El método ELISA Sándwich R5 de Méndez se utiliza para analizar prolaminas intactas. El anticuerpo R5 es capaz de reconocer varios pequeños epítomos tóxicos repetitivos como el epítomo QQFPF (glutamina-glutamina-prolina-fenilalanina-prolina) está presente en la gliadina, hordeína y secalina, el anticuerpo R5 podría reconocer fracciones de los tres cereales (trigo, cebada y centeno, respectivamente). Este método se basa en que al menos dos epítomos específicos, sean reconocidos por el anticuerpo. No obstante, no es apropiado cuando las bebidas y alimentos han sido tratados con enzimas proteolíticas, o cuando estén fermentados, ya que podría no haber dos epítomos de dicha secuencia. Ello se debe a que las prolaminas han sido parcialmente hidrolizadas, hasta escindirse en fragmentos que contienen dos o más epítomos y fragmentos pequeños que contienen solo un epítomo. En consecuencia, los productos hidrolizados pequeños, con un solo epítomo, no pueden ser determinados con precisión utilizando el ELISA sandwich R5^{22,36,38}.

Como el ELISA R5 competitivo requiere solamente un sólo epítomo para la unión al anticuerpo, es más adecuado para la detección del gluten hidrolizado que el ELISA sandwich R5. Ambos métodos han sido validados en pruebas multi-laboratorio internacionales³⁸.

Otro de los ELISA sandwich aceptados por la FAO se basa en el anticuerpo Skerrit^{39,40}. Este anticuerpo fue uno de los primeros anticuerpos monoclonales utilizados frente a la gliadina del trigo³⁹. Reconoce w-gliadinas, una subfracción que difiere tanto en su presencia, como en sus niveles dentro de los cereales. En este contexto, el anticuerpo Skerrit solo presenta una respuesta débil en presencia de hordeínas de cebada y por lo tanto, podría subestimar el contenido de gluten^{23,26,41}. Tanner y cols.²³ sugirieron que este anticuerpo no parece apropiado para análisis de gluten en cervezas y debe descartarse la utilización de ELISA sándwich basado en este, para evitar falsos negativos y resultados discrepantes.

Se han desarrollado métodos ELISA competitivos de segunda generación, utilizando anticuerpos que reaccionan contra péptidos inmunoreactivos dominantes participantes en la respuesta biológica de la enfermedad celíaca; por ejemplo, se han utilizado anticuerpos monoclonales G12 y A1, frente al péptido 33-mer tóxico de α -gliadina⁴². Estos anticuerpos reconocen péptidos (además del 33-mer) procedentes del trigo, cebada, centeno y variedades de avenas cuales que presentaron

inmunogenicidad frente a células T procedentes de personas celíacas^{43,44}.

Se han probado otros kits de ELISA competitivo mediante estudios inter-laboratorio de acuerdo a las propuestas de la AOAC⁴⁵. El kit *Gluten Tec* utiliza un anticuerpo monoclonal que detecta un epítipo de prolaminas tóxicas que estimula las células T. Se detectaron tanto proteínas intactas como los fragmentos pequeños resultantes de la hidrólisis de proteínas, incluso en cerveza, la cual fue la matriz seleccionada para las pruebas de validación.

Al analizar bebidas alcohólicas obtenidas mediante procesos de hidrólisis, las pruebas de ELISA competitivo presentan ciertas ventajas de reproducibilidad y precisión⁴⁶. No obstante, aún existen ciertas interrogantes no resueltas, sobre los ensayos ELISA competitivos que se comentan a continuación.

Existe preocupación por determinar cómo ocurre la fragmentación de las prolaminas en péptidos más pequeños ya que la relación entre las prolaminas y sus fragmentos puede variar de una muestra a otra. Como el ELISA competitivo contrasta la cantidad total de gluten en alimentos con posibles péptidos tóxicos, no es posible ofrecer un factor de conversión fiable³⁶.

Como se ha indicado anteriormente, durante el malteado y la fermentación, las enzimas proteolíticas endógenas descomponen las prolaminas de cebada/trigo en fragmentos de péptidos cortos e incluso en aminoácidos. No obstante, la mezcla heterogénea de péptidos que se obtiene es hidrosoluble y retiene esta característica en el producto final. Muchos de estos fragmentos de péptidos contienen niveles elevados de prolina y glutamina. Ello podría sugerir que esta cerveza podría aún contener epítopos potencialmente inmunogénicos para la población celíaca^{16,43}.

Una limitación de la técnica ELISA competitivo es que el tamaño de fragmentos reconocidos por los anticuerpos no siempre puede establecerse como un todo. Esto supondría que se sobrestima el contenido de gluten y que, así, productos que podrían ser aptos para la población celíaca no serían etiquetados como sin gluten.

En contraste, otro aspecto a considerar es que la enzima utilizada para producir cerveza sin gluten (prolil endoproteasa) podría también destruir la secuencia de epítopos reconocida en el aminoácido prolina^{19,25}. Por lo tanto, el ensayo ELISA competitivo no detectaría péptidos de gluten que aún conserven su inmunogenicidad. Así, la subestimación de prolaminas tóxicas mediante anticuerpos que no discriminan la inmunoactividad del péptido podría poner en riesgo la seguridad celíaca. Con el objetivo de evitar estos problemas, los anticuerpos deberían ser específicos y correlacionarse con la potencial inmunotoxicidad de la cerveza^{16,43,44}.

Además, algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino o la cerveza, contienen compuestos fenólicos por lo que es necesario utilizar una proteína (por ejemplo, gelatina de pescado o leche en polvo desnatada) durante el proceso de extracción del gluten, para impedir que la matriz rica en fenoles interfiera con la prueba ELISA. Se ha establecido en los kits de ELISA competitivo R5 que

la extracción en cervezas se lleven a cabo con etanol que contiene un 10% de gelatina de pescado. De hecho, cuando las proteínas se desnaturalizan, debido a la fermentación o mediante la utilización de enzimas proteolíticas, una solución de etanol simple no es capaz de extraer todas las prolaminas. En consecuencia, durante el proceso de extracción para la determinación de ELISA sandwich se agregan, al etanol, agentes reductores y desagregantes, tales como el 2-mercaptoetanol³⁸. No obstante, estos tipos de reactivos no son compatibles con el ensayo competitivo, ya que el mercaptoetanol interfiere con el ligado específico del anticuerpo, lo que produce resultados falsos. Algunos autores⁴⁶ han probado el empleo de una solución o cocktail que facilite la extracción que se llama UPEX, que contiene el agente reductor Tris (2-carboxietil)-fosfina (TCEP) y el tensioactivo N-lauroilsarcosina. Otro estudio centrado en hordeínas, sugiere que una extracción mediante alcohol con urea/ditiotreitol (DTT), puede extraer eficazmente la mayoría de las hordeínas procedentes de harina y malta de centeno.

La espectrometría de masas MALDI-TOFF fue la primera técnica no inmunológica empleada para identificar prolaminas en harinas y muestras de alimentos complejos reales⁴⁷. No obstante, este sistema no detectó niveles de prolaminas por debajo de 20-25 mg/kg, por lo que no es apropiado para muestras de alimentos con bajos niveles de prolaminas.

Recientemente se han desarrollado métodos de espectrometría de masas (EM) para la identificación y cuantificación directa y absoluta de alérgenos alimentarios y gluten^{23,35,41}. Gracias a su elevada sensibilidad, la cromatografía líquida con detección de espectrometría de masas (CL-EM) permite la detección de trazas de proteínas alergénicas. Dentro de este contexto, algunos autores han confirmado que los resultados obtenidos por ELISA sándwich no se correlacionaron con el contenido relativo de péptidos individuales de la hordeína determinados mediante EM en las cervezas de cebada que contienen hordeína^{22,23,41}. Tanner y cols.²³ determinaron que el 20% de los resultados ELISA para cervezas fueron falsos negativos, en contraste con los resultados obtenidos mediante espectrometría de masa relativa. Dichos autores sugirieron que la espectrometría de masas podría ser más fiable que el ELISA, ya que esta enumera solamente la concentración de epítomos de amino ácidos particulares y estos puede variar entre las diferentes hordeínas y podría no tener relación con la concentración absoluta de hordeínas^{35,41}.

A pesar de que la ME-LC/EM podría ofrecer una especificidad analítica superior a la de los inmunoensayos o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), el elevado costo inicial del equipo no es fácilmente asequible y su rendimiento es menor que el de los inmunoensayos⁴⁸.

También se han desarrollado otras técnicas, tales como aquellas basadas en la detección del ADN. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es de utilidad para confirmar otros métodos, pero solo ofrece información parcial en análisis rutinarios de cerveza. Mujico y cols.^{49,50} determinaron, en algunas muestras de alimentos hidrolizados, cierto grado de correlación entre proteínas y ADN. No obstante, el ADN fue prácticamente indetectable en matrices de alimentos sometidas a un proceso de hidrólisis intensiva, como jarabes y extractos de malta, debido a la degradación masiva del ADN, por lo que no fue posible amplificarlo mediante Q-PCR. Nuestro laboratorio

de análisis de gluten UPV/EHU también ha examinado varias técnicas para analizar contenido de gluten de bebidas alcohólicas mediante ELISA sándwich y competitivo y contrastar los resultados con técnicas de PCR.

Estos estudios pusieron de manifiesto que mientras sí eramos capaces de detectar trazas de gluten (5-40 mg/kg) en algunas cervezas mediante métodos de ELISA, no fue posible detectarlas mediante un protocolo WBR de PCR cuantitativo a tiempo real⁵¹. Debe subrayarse la dificultad de extracción del ADN procedente de estas muestras y una mejora en esta etapa podría ser suficiente para amplificar la detección del ADN de gluten. Cuando se utilizó la detección cualitativa del ADN, mediante la prueba *SureFood*[®] PCR en Tiempo Real para Gluten Alergénico fue posible detectar ADN en algunas cervezas con gluten.

Es necesario señalar que la detección de gluten en bebidas espirituosas es poco usual. En el caso de las cervezas, muchas de las analizadas contenían niveles muy bajos de gluten, pero hay que tener en cuenta que con frecuencia se consume más de una ración de cerveza, por lo que puede acumularse la cantidad de prolamina tóxica consumida^{19,52,53}.

Como se indicó anteriormente, al medir el contenido del gluten, varios autores han indicado que al utilizar el ELISA sándwich algunos de los resultados de gluten negativos o muy bajos. Sin embargo, no podrían ser considerados como sin gluten al ser analizados mediante ELISA competitivo u otras técnicas^{23,41,43}.

5. Contenido de Gluten en Cervezas y Bebidas Espirituosas

Los estudios analizados mostraron una elevada variabilidad en el contenido de gluten de diversas cervezas. Ello se debe, al menos en parte, a cambios en los procesos de elaboración. Existen muchas diferencias en procesos de filtración, enzimáticos y/o utilización de diferentes variedades de malta de cebada, que modifican el contenido final de gluten en cervezas^{12,19,25,28,52} (Tabla 2). Además, las cervezas a menudo contienen cantidades significativas de adjuntos sin gluten, que ayudan a “diluir” el contenido del gluten inicial en materia prima. La utilización de gel de sílice para la extracción de proteínas puede reducir el nivel de gluten en cervezas estabilizadas²⁸.

La composición nutricional de las cervezas demostró que el producto final contiene alrededor de 0.2-0.6% de proteína. Dostálek y cols.²⁸ determinaron que durante los procesos de maceración, fermentación y estabilización el contenido de prolaminas disminuyó de 100% en la malta a menos de 0.2% en cerveza. Esto equivale a decir que en la cerveza hubo una reducción en la concentración de anticuerpos anti-gliadina de, por lo menos, tres órdenes de magnitud al compararse con la malta cruda (en promedio, la malta contenía 18,780 mg/kg de gluten, el mosto 48 mg/kg y la cerveza 6.0 mg/kg de gluten).

Varios estudios coinciden con el hecho de que las cervezas comercializadas como “sin gluten”, contienen niveles de gliadina inferiores al límite de detección de 6 mg/kg de gluten^{11,40,52,54}. La

mayoría de las cervezas analizadas contienen cantidades de gluten relativamente bajas; la cantidad detectada habitualmente oscila entre 10 y 50 mg/kg de gluten^{28,6,52}.

Tabla 2. Factores que influyen en los niveles de gluten durante el proceso de elaboración.

Parámetro de Elaboración	Niveles de Gluten
Variedades de granos para maltear	Variable
Utilización de trigo	Incrementa notablemente
Proceso de malteado	Variable
Extracto seco primitivo o densidad de cerveza (ESP)	Incrementa
Adición o utilización de estabilizadores (por ejemplo, prolil o endoproteasa específica para prolina; gel de sílice)	Disminuye
Utilización de equipo de procesamiento específico (centrífuga, filtros)	Disminuye

Al comparar varios tipos de cerveza, las sin alcohol poseen habitualmente un contenido de proteína muy bajo y su contenido en gluten es inferior al límite de detección y, por tanto, se consideran “sin gluten” (<20 mg/kg)^{28,52}. Comino y cols.⁴³ determinaron que el 59% de cervezas analizadas contenía más de 100 mg/kg de gluten, pero otros estudios demostraron que muchas de las muestras tipo lager y ale, se hallaban por debajo de los 20 mg/kg^{11,26,28,52,53}.

Al considerar la relación entre composición del cereal y contenido de gluten, la mayoría de los estudios han puesto de manifiesto que el tipo de cereal es un elemento preponderante. Cervezas elaboradas con cebada tienden a producir bajos niveles de gluten,⁵² mientras que cervezas de trigo o trigo malteado, contienen cantidades muy elevadas de gluten (más de 100 mg/kg e inclusive por encima de 500 mg/kg) y, por lo tanto, las cervezas de trigo no pueden incluirse en la dieta de pacientes celíacos^{23,53,54}.

Como se sugirió anteriormente, otros factores relacionados con el proceso de elaboración también afectan al contenido final de gluten. Algunos estudios^{25,53} indicaron que muchas de las cervezas de centeno con niveles más elevados de gluten (> 100mg/kg) no fueron clarificadas mediante filtración, de modo que el nivel de gluten detectado puede también correlacionarse con la turbidez, lo que podría explicar la mayor concentración de prolaminas en algunas de éstas. Por ejemplo, existe un muy elevado contenido de gluten (> 800 mg/kg) en las cervezas Hefeweizen. Este tipo de cerveza de trigo alemana, de fermentación alta y sin filtrar presenta un sedimento de levadura claramente observable y una apariencia turbia^{23,53,54}.

Desde el punto de vista del etiquetado, los productores de cerveza deberían controlar exhaustivamente el proceso de elaboración para asegurar niveles de cerveza consistentemente bajos en

gluten, antes de etiquetar cervezas elaboradas con cebada, trigo o centeno como “sin gluten”. En lo referente a bebidas espirituosas, los pacientes celíacos deberían ser conscientes de los riesgos del consumo de estos tipos de bebidas altamente alcohólicas y siempre deberían revisar la información en las etiquetas, en busca de ingredientes sospechosos añadidos^{55,56}.

6. Conclusión.

La cerveza es la bebida alcohólica fermentada más popular y la que, más probablemente, contiene pequeñas cantidades de gluten.

La cuantificación con precisión del gluten en cervezas y otras bebidas es un tema problemático debido a la hidrólisis del gluten y las potenciales modificaciones de inmunotoxicidad que pueden ocurrir como resultado de las etapas de elaboración.

Aunque es necesario considerar el origen y tipo de cereal utilizado, es habitual que las cervezas de trigo especiales contengan cantidades de gluten muy elevadas, mientras que otras cervezas elaboradas con cebada en muy pocas ocasiones superan los 50 mg/kg de gluten.

Las restantes bebidas fermentadas, tales como el vino o la sidra, o las bebidas destiladas o espirituosas rara vez contienen gluten, pero es importante confirmar que no se les haya agregado ingredientes adicionales con gluten posteriores al proceso de elaboración.

Las técnicas analíticas utilizadas para la detección de gluten en estas bebidas alcohólicas no son tan útiles como lo son para otras matrices. La técnica de ELISA competitivo posee ciertas ventajas sobre otros métodos, pero aún debe ser mejorada.

Referencias

1. Gil A. *Tratado de Nutrición*. 2nd ed., vol.2. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2010.
2. Regulation (EU) No. 1169/2011. *Provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No. 1924/2006 and (EC) No. 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC) No. 608/2004. Regulation (EU) No. 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011*. Official Journal of the European Union, L 304/18 (22.11.2011).
3. Food and Drug Administration (Internet). Silver Spring: U.S. Food and Drug Administration. 2014. <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances>. Accessed: February 2015.
4. Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P. *Food Chemistry*. 4th revised and extended ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2009.
5. Alais C, Linden G. *Food biochemistry*. New York: Ellis Horwood. 1991. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-2119-8>
6. Catassi C, Fabiani E, Iacono G, D'Agate C, Francavilla R, Biagi F et al. *A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease*. Am J Clin Nutr. 2007; 85: 160-6. PMID:17209192
7. Ceppi ELM, Brenna OV. *Brewing with Rice Malt - A Gluten-free Alternative*. J Inst Brewing. 2010; 116(3): 275-9. <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00431.x>
8. Chiba Y, Bryce JH, Goodfellow V, MacKinlay J, Agu RC, Brosnan JM et al. *Effect of Germination Temperatures on Proteolysis of the Gluten-Free Grains Sorghum and Millet during Malting and Mashing*. J Agric Food Chem. 2012; 60: 3745-53. <http://dx.doi.org/10.1021/jf300965b> PMID:22440185
9. Agu RC, Chiba Y, Goodfellow V, MacKinlay J, Brosnan JM, Bringhurst TA et al. *Effect of Germination Temperatures on Proteolysis of the Gluten-Free Grains Rice and Buckwheat during Malting and Mashing*. J Agric Food Chem. 2012; 60: 10147-54. <http://dx.doi.org/10.1021/jf3028039> PMID:22950683
10. De Meo B, Freeman G, Marconi O, Boer C, Fantozzi P. *Behaviour of Malted Cereals and Pseudo-Cereals for Gluten-Free Beer Production*. J Inst Brewing. 2011; 117(4): 541-6. <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00502.x>

11. Hager A, Taylor JP, Waters DM, Arendt EK. *Gluten free beer - A review*. Trends Food Sci Technol. 2014; 36: 44-54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.001>
12. Zannini E, Jones JM, Renzetti S, Arendt EK. *Functional replacements for gluten*. Annu Rev Food Sci Technol. 2012; 3: 227-34.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101203>
PMid:22385166
13. O'Shea N, Arendt E, Gallagher E. *State of the art in gluten-free research*. J Food Sci. 2014; 79: R1067-76.
<http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12479>
PMid:24784553
14. Usansa U, Burberg F, Geiger E, Back W, Wanapu C, Arendt KE et al. *Optimization of Malting Conditions for Two Black Rice Varieties, Black Non-Waxy Rice and Black Waxy Rice (Oryza sativa L. Indica)*. J Inst Brew. 2011; 117: 39-46.
<http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00441.x>
15. Ceppi, ELM, Brenna, OV. *Experimental studies to obtain rice malt*. J Agric Food Chem. 2010; 58: 7701-07.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf904534q>
PMid:20524666
16. Comino I, Real A, Gil-Humanes J, Pistón F, de Lorenzo L, Moreno ML et al. *Significant differences in coeliac immunotoxicity of barley varieties*. Mol Nutr Food Res. 2012; 56: 1697-707.
<http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200358>
PMid:22968973
17. van den Broeck H, Hongbing C, Lacaze X, Dusautoir JC, Gilissen L, Smulders M et al. *In search of tetraploid wheat accessions reduced in celiac disease-related gluten epitopes*. Mol Biosyst. 2010; 11: 2206-13.
<http://dx.doi.org/10.1039/c0mb00046a>
PMid:20714643
18. Espinosa-Ramírez J, Pérez-Carrillo E, Serna-Saldívar SO. *Production of Lager Beers from Different Types of Sorghum Malts and Adjuncts Supplemented with beta-Amylase or Amyloglucosidase*. J Am Soc Brew Chem. 2013; 71(4): 208-13.
19. Guerdrum LJ, Bamforth CW. *Prolamin Levels Through Brewing and the Impact of Prolyl Endoproteinase*. J Am Soc Brew Chem. 2012; 70(1): 35-8.
20. Thompson T. Is Barley-Based "Gluten-Removed" Beer Safe for People with Celiac Disease? 2014.
<http://www.glutenfreewatchdog.org>. Accessed: April 2015.
21. Diaz-Amigo C, Popping B. *Accuracy of ELISA Detection Methods for Gluten and Reference Materials: A Realistic Assessment*. J Agric Food Chem. 2013; 61, 24: 5681-8.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf3046736>
PMid:23713744

22. Tanner GJ, Blundell MJ, Colgrave ML, Howitt CA. *Quantification of Hordeins by ELISA: The Correct Standard Makes a Magnitude of Difference*. PLoS ONE. 2013; 8(2): e56456.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0056456>
PMid:23509607 PMCID:PMC3585327
23. Tanner GJ, Colgrave ML, Blundell MJ, Goswami HP, Howitt CA. *Measuring Hordein (Gluten) in Beer – A Comparison of ELISA and Mass Spectrometry*. PLoS ONE. 2013; 8(2): e56452.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0056452>
PMid:23509606 PMCID:PMC3585340
24. Ferre S, García E, Méndez E. *Measurement of hydrolysed gliadins by a competitive ELISA based on monoclonal antibody R5: analysis of syrups and beers*. Proceedings of the 18th Meeting Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. 2003; 65-70.
25. Tanner GJ, Colgrave L., Howitt CA. *Gluten, Celiac Disease, and Gluten Intolerance and the Impact of Gluten Minimization Treatments with Prolylendopeptidase on the Measurement of Gluten in Beer*. J Am Soc Brew Chem. 2014; 72: 36-50.
<http://dx.doi.org/10.1094/ASBCJ-2014-0129-01>
26. Van Landschoot A. *Gluten-free barley malt beers*. Cerevisia. 2011; 36: 93-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cervis.2011.09.001>
27. Siebert KJ. *Effects of proteinopolyphenol interactions on beverage haze, stabilization, and analysis*. J Agric Food Chem. 1999; 47: 353-62.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf980703o>
PMid:10563900
28. Dostalek P, Hochel I, Mendez E, Hernando A, Gabrovska D *Immunochemical determination of gluten in malts and beers*. Food Addit Contam. 2006; 23: 1074-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/02652030600740637>
PMid:17071509
29. Granato TM, Nasi A, Ferranti P, Iametti S, Bonomi F. *Fining white wine with plant proteins: effects of fining on proanthocyanidins and aroma components*. Eur Food Res Technol. 2014; 238: 265-74.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-013-2108-5>
30. Simonato B, Mainente F, Tolin S, Pasini G. *Immunochemical and Mass Spectrometry Detection of Residual Proteins in Gluten Fined Red Wine*. J Agric Food Chem. 2011; 59: 3101-10.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf104490z>
PMid:21375303
31. Regulation (EC) No 110/2008. *Definition, description, presentation, labelling and the protection of geographical indications of spirit drinks and repealing Council Regulation (EEC) No 1576/89. REGULATION (EC) No 110/2008 of the European Parliament and of the Council of 15 January 2008*. Official Journal of the European Union, L 39/16 (13.2.2008).

32. Agu RC, Bringhurst TA and Brosnan JM. *Production of Grain Whisky and Ethanol from Wheat, Maize and Other Cereals*. J Inst Brew. 2006; 112: 314-23.
<http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00737.x>
33. Martin S. *Against the grain: An overview of celiac disease*. J Am Acad Nurse Prac. 2008; 20: 243-50.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7599.2008.00314.x>
PMid:18460164
34. Aylott, R. Whisky analysis. In: *Inge Russell and Graham Stewart editors. Whisky. Technology, Production and Marketing*. Second Edition. Elsevier, 2014: 243-70.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-401735-1.00014-3>
35. Colgrave ML, Goswami H, Howitt CA, Tanner GJ. *What is in a Beer? Proteomic Characterization and Relative Quantification of Hordein (Gluten) in Beer*. J Proteome Res. 2012; 11: 386-96.
<http://dx.doi.org/10.1021/pr2008434>
PMid:21999962
36. Thompson T, Mendez E. *Commercial assays to assess gluten content of gluten-free foods: why they are not created equal*. J Am Diet Assoc. 2008; 108: 1682-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jada.2008.07.012>
PMid:18926134
37. Codex Alimentarius (Internet). *Roma: Codex Alimentarius International Food Standards*. 2014 July.
<http://www.codexalimentarius.org/standards>. Accessed: February 2015.
38. Immer U, Göbwein Ch, Lauterbach SH. *Ridascreen® Gliadin competitive-New assay format for the R5 antibody*. Proceedings of the 22th Meeting Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Dublin, Ireland. 2007; 45-52.
39. Skerritt JH, Hill AS. *Enzyme-immunoassay for determination of gluten in foods - collaborative study*. J AOAC Int. 1991; 74: 257-64.
40. Allred LK, Sealey Voyksner JA, Voyksner RD. *Evaluation of Qualitative and Quantitative Immunoassays To Detect Barley Contamination in Gluten-Free Beer with Confirmation Using LC/MS/MS*. J AOAC Int. 2014; 97(6): 1615-25.
<http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.14-058>
PMid:25313640
41. Colgrave ML, Hareshwar Goswamia H, Blundellb M, Howitt CA, Tanner GJ. *Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA*. J Chromatogr A. 2014; 1370: 105-14.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.033>
PMid:25454134

42. Morón B, Bethune MT, Comino I, Manyani H, Ferragud M, López MC et al. *Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: characterization of monoclonal antibodies to a main immunogenic gluten peptide*. PLoS One. 2008; 3(5): e2294.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002294>
PMid:18509534 PMCID:PMC2386552
43. Comino I, Real A, Moreno ML, Montes R, Cebolla A, Sousa C. *Immunological determination of gliadin 33-mer equivalent peptides in beers as a specific and practical analytical method to assess safety for celiac patients*. J Sci Food Agric. 2013; 93(4): 933-43.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5830>
PMid:22886585
44. Real A, Comino I, Moreno ML, López-Casado MA, Lorite P, Torres I et al. *Identification and In Vitro Reactivity of Celiac Immunoactive Peptides in an Apparent Gluten-Free Beer*. PLoS ONE 2014; 9(6): e100917.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0100917>
PMid:24963630 PMCID:PMC4071002
45. Mujico JR, Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, Verheijen R, van Wichem P, Streppel L et al. *Validation of a new enzyme-linked immunosorbent assay to detect the triggering proteins and peptides for celiac disease: interlaboratory study*. J AOAC Int. 2012; 95: 206-15.
<http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.11-042>
PMid:22468361
46. Mena MC, Lombardía M, Hernando A, Méndez E, Albar JP. *Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody*. Talanta. 2012; 91: 33-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.073>
PMid:22365676
47. Méndez E, Valdés I, Camafeita E. *Analysis of gluten in foods by MALDI-TOFMS*. Methods Mol Biol. 2000; 146: 355-67.
<http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-045-4:355>
48. Grebe SKG, Singh RJ. *LC-MS/MS in the Clinical Laboratory – Where to From Here?* Clin Biochem Rev. 2011; 32: 5-31.
PMid:21451775 PMCID:PMC3052391
49. Mujico JR, Lombardía M, Méndez E. *Detection of wheat DNA in foods by a quantitative real-time PCR system: can the measurement of wheat DNA be used as a non-immunological and complementary tool in gluten technology? Proceedings of the 18th Meeting of the WG on Prolamin Analysis and Toxicity*. 2004: 91-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.061>

50. Mujico JR, Lombardía M, Mena MC, Méndez E, Albar JP. *A highly sensitive real-time PCR system for quantification of wheat contamination in gluten-free food for celiac patients*. Food Chem. 2011; 128: 795-801.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.061>

51. Churrua I, Lasa A, Miranda J, Fernández-Gil P, Simón E. *The usefulness of a complementary real-time polymerase chain reaction technique in the determination of gluten in foods*. Proceedings of the 23th Meeting of the WG on Prolamin Analysis and Toxicity. 2009: 59-67.

52. Guerdrum LJ, Bamforth CW. *Levels of gliadin in commercial beers*. Food Chem 2011; 129: 1783-4.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.021>

53. Van Zandycke S. (Internet) *Gluten-reduced beers made with barley*. The New Brewer. 2013; 78-84.

<http://www.brewersassociation.org/>. Accessed: February 2015.

54. Kanerva P, Sontag-Strohm T, Lehtonen P. *Determination of Prolamins in Beers by ELISA and SDS-PAGE*. J Inst Brew. 2005; 111: 61-4.

<http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2005.tb00649.x>

55. Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau. *Interim Policy on Gluten Content Statements in the Labeling and Advertising of Wines, Distilled Spirits, and Malt Beverages*. TTB Ruling. Department of the treasury. Number 2-2012 (May 24, 2012).

56. Thompson T. *The Gluten-Free Labeling Rule: What Registered Dietitian Nutritionists Need to Know to Help Clients with Gluten-Related Disorders*. J Acad Nutr Diet. 2015; 115: 13-6.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2014.10.001>

PMid:25534893

CAPÍTULO 20

ASPECTOS NUTRICIONALES Y COMERCIALIZACIÓN DE ALIMENTOS SIN GLUTEN.

Cristina M. Rosell¹, María Estela Matos²

¹Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), España

²Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Universidad Central de Venezuela, Venezuela.

crostell@iata.csic.es mariaestelams@gmail.com

Cómo citar este capítulo:

Rosell CM, Matos ME. *Aspectos Nutricionales y Comercialización de Alimentos sin Gluten*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

Resumen

La terapia nutricional es el único tratamiento para la intolerancia al gluten. Sin embargo, los alimentos sin gluten han sido desarrollados para superar las limitaciones tecnológicas sin considerar las necesidades de los pacientes con EC. Es importante considerar que las necesidades nutricionales de los pacientes intolerantes al gluten son distintas en el momento del diagnóstico y tras adherirse a una dieta sin gluten de por vida. Sus necesidades son diferentes en cada etapa, por lo que la dieta debería responder y adaptarse a dichas necesidades nutricionales. Este capítulo aporta una perspectiva general sobre el patrón nutricional de las personas intolerantes al gluten en el momento del diagnóstico, sus requerimientos en dicho momento y sobre cómo satisfacen dichas necesidades los productos sin gluten que se hallan actualmente en el mercado. Además, este capítulo describe las herramientas que posee el tecnólogo de alimentos para el enriquecimiento de macro- y micronutrientes de los productos sin gluten, particularmente en lo referente a los productos horneados, para dar respuesta a los consumidores. También se pone de manifiesto el papel que debe cumplir el nutricionista dentro de este contexto al ofrecer asesoría adecuada a los consumidores.

Palabras clave

Nutrición, sin gluten, alimentos, pan, productos horneados, mercado, enriquecimiento, micronutrientes.

1. Introducción

El desarrollo de alimentos sin gluten ha atraído gran atención durante la última década, debido al mejor diagnóstico de la enfermedad celíaca y la percepción popular sobre la relación entre productos sin gluten y un estilo de vida saludable. Hasta hace unos años, los productos sin gluten eran prácticamente desconocidos, excepto en tiendas especializadas en alimentos saludables. Cualquiera que sea la verdadera motivación para consumir alimentos sin gluten, actualmente se observa en el mercado una demanda creciente de dichos alimentos. El mercado de alimentos sin gluten continúa creciendo más rápidamente de lo anticipado. “Sin gluten” se ha transformado en una identidad para docenas de millones de estadounidenses que han reducido o eliminado el consumo de trigo, cebada, centeno y avena. Se estima que las ventas de alimentos y bebidas sin gluten en los EE.UU. superarán la cifra de \$6.6 billones para el año 2017 (*Packaged Facts*, 2011). Los datos sobre esta tendencia revelan que el mercado de productos sin gluten es de 44 millones de personas. Estados Unidos representa el mayor mercado para productos sin gluten, ya que en este país se produjeron casi el 59% del total de las ventas a nivel mundial en 2012. Se anticipa que la mayor demanda procederá de naciones como el Reino Unido, Italia, EE.UU., España, Alemania, Australia, Brazil, Canadá, India, etc. (<http://www.marketsandmarkets.com>). El creciente interés por la dieta sin gluten ha promovido el lanzamiento de centenares de alimentos sin gluten; para la industria alimentaria este es un nicho de mercado con una proyección de crecimiento continuado.

Estas tendencias en el consumo de productos sin gluten encuentran un paralelismo en el mundo científico. De hecho, en los últimos años se ha incrementado notablemente el número de investigaciones sobre el tema del desarrollo de panes sin gluten, como lo subrayan diversos informes recientes. En este contexto, la obtención de trigos con la fracción de gliadinas silenciada para producir panes con un contenido en gliadina 97% inferior al de panes elaborados con trigo común¹, resulta una estrategia muy atractiva. Se ha estimado que pacientes celíacos podrían consumir, con seguridad, 67 gramos diarios de pan obtenido con harinas de trigo con bajo contenido de gliadina.

Los métodos analíticos para detección de gluten han sido sujeto de constante debate en lo referido a pruebas inmunoquímicas y no inmunoquímicas desarrolladas para la cuantificación de gluten, su sensibilidad, especificidad, reactividad cruzada y facilidad de utilización para el análisis de alimentos sin gluten consumidos por pacientes celíacos^{2,3}.

Numerosos estudios revelan las diversas alternativas para mejorar la calidad de los alimentos sin gluten. No obstante, solo hasta recientemente se ha expresado interés por la calidad nutricional de estos productos. La calidad nutricional ha sido, durante los últimos años, el principal interés de la investigación sobre alimentos sin gluten. Recientemente, Matos y Rosell⁴ describieron las diferentes estrategias disponibles para mejorar la calidad nutricional de panes sin gluten.

Este capítulo recoge información del estado nutricional de la población celíaca, como base para definir sus requerimientos nutricionales y, en segundo lugar, sobre la calidad nutricional de los alimentos sin gluten disponibles, desde una perspectiva científica y comercial. Solo mediante el

conocimiento de las verdaderas necesidades de los consumidores, sería factible desarrollar alimentos sin gluten a la medida, con el fin de mejorar el estado de individuos intolerantes al gluten.

2. Motivación para el Consumo de Alimentos sin Gluten

El incremento en el número de diagnósticos de enfermedad celíaca y alergias alimentarias, la creciente conciencia de estas patologías entre pacientes, profesionales de la salud y público en general, la disponibilidad de más y mejores productos y la tendencia de que amigos y familiares consuman alimentos sin gluten para expresar apoyo a familiares con enfermedad celíaca figuran entre los factores que estimulan la continua expansión de este mercado (<http://the-gluten-free-agency.com/gluten-free-market-trends/>). Durante los últimos años un número cada vez mayor de individuos padece enfermedad celíaca (EC). La EC afecta no solamente al intestino, es una enfermedad sistémica que puede dañar la piel, el hígado, las articulaciones, el cerebro, el corazón y otros órganos. Es un complejo trastorno genético y el estado del antígeno leucocitario humano (HLA) parece ser el más fuerte determinante genético de riesgo para el desarrollo de la enfermedad celíaca⁵.

Recientemente, Worosz y Wilson⁶ describieron diferentes tipos de consumidores de productos sin gluten. Personas que alegan padecer de sensibilidad al gluten o tener un diagnóstico médico de EC, personas con percepción de sensibilidad al gluten y consumidores que no presentan EC, pero que expresan interés en consumir productos sin gluten como parte de un estilo de vida. Estos autores definieron dos tipos de consumo de productos sin gluten: i. el consumismo ético, se describe como el consumo impulsado por el modo en que se percibe que el producto encaja en el estilo de vida de un individuo, para beneficiar el ambiente y/o cumplir metas sociales y, en segundo lugar, ii. personas que no presentan EC con preocupación por la salud, grupo que comprende aquéllos que expresan interés en los productos sin gluten como un “estilo de vida” porque evocan intereses o calidades culturales, ecológicas, cívicas, históricas, éticas o basadas en salud⁶. El estilo de vida sin gluten ha sido descrito, por consumidores, como “una sensación general, abrazada, tanto por necesidad, como por decisión personal para mantener un modo de vida más saludable”.

3. Requerimientos Nutricionales Especiales de Pacientes Celíacos

La ingesta de gluten conduce, en pacientes con EC, a la presencia de inflamación y daño de la mucosa del intestino delgado. La lesión típica del epitelio del intestino delgado implica atrofia vellositaria con hiperplasia de criptas, lo cual conduce a la malabsorción de la mayoría de los nutrientes incluyendo el hierro, ácido fólico, calcio y vitaminas liposolubles⁷. Ello puede conducir a la aparición de enfermedades asociadas como osteoporosis, anemia, diabetes tipo I y trastornos de la piel. Los individuos con enfermedad celíaca son más susceptibles al desarrollo de insuficiencia pancreática, disbiosis, insuficiencia de lactasa, ácido fólico, vitamina B12, hierro y vitamina D, así como pérdida ósea acelerada⁸.

Los pacientes con EC pueden presentar alteraciones en el metabolismo de los lípidos, reflejado en bajos niveles séricos de lipoproteínas-colesterol totales y de alta densidad, derivados de la mala absorción de lípidos e ingesta reducida⁹ de nutrientes. La exclusión del trigo, centeno y cebada, de vitaminas y minerales, podría provocar deficiencias de hierro, vitamina B y fibra dietética. De hecho, en el momento del diagnóstico es fácil encontrar deficiencias de calorías, proteínas, fibra, hierro, calcio, magnesio, vitamina D, zinc, folato, niacina, vitamina B12 y riboflavina en pacientes celíacos¹⁰.

Por lo tanto, no es sorprendente que las deficiencias nutricionales no están asociadas solamente con la pobreza y en países en desarrollo sino también, como sucede con pacientes con EC en poblaciones de países desarrollados que presentan enfermedad sin diagnosticar y aquellos que deben adherirse a dietas restrictivas. Se ha determinado una elevada frecuencia de bajo peso en el momento del diagnóstico, por lo que individuos con EC podrían tener necesidad de un cuidadoso manejo nutricional personalizado¹¹. Los asesores de salud deben vigilar y controlar el crecimiento y los patrones de alimentación para identificar dietas desbalanceadas que pueden conducir al desarrollo de deficiencias nutricionales.

Recientemente, en los Países Bajos, se ha analizado el estado nutricional de pacientes adultos con EC¹². En ellos se determinaron concentraciones séricas de ácido fólico, zinc, hemoglobina, ferritina y vitaminas A, B6, B12 y D. Los resultados demostraron que pacientes con EC antes del cumplimiento de la dieta sin gluten presentaron, por lo menos, un valor inferior al límite de referencia inferior. Las deficiencias más frecuentes se observaron en zinc, seguidas por el hierro, ácido fólico y vitaminas B12, B6 y A.

4. Importancia de la Nutrición en Pacientes Intolerantes al Gluten

Cuando la adherencia a una dieta sin gluten no responde a los consejos terapéuticos, el desbalance nutricional podría ser un problema. Se da por hecho que el tratamiento para la intolerancia al gluten se restringe únicamente a eliminarlo de la dieta, pero no existe una certeza sólida de que esta estrategia proporcione una dieta nutricionalmente balanceada. Debe considerarse adicionalmente, que individuos con EC podrían necesitar suplementos nutricionales adicionales para regular varias de estas deficiencias asociadas. Los individuos con EC sin tratar presentan niveles disminuidos de hierro, folato, zinc, magnesio, vitaminas B12 y D. Por lo general, estas deficiencias se revierten tras retirar el gluten de la dieta¹². No obstante, pueden persistir deficiencias de folato, vitamina B12 e incluso de vitamina D y calcio, por lo que es recomendable añadir suplementos de vitaminas para cumplir con las recomendaciones para una ingesta saludable.

La adherencia de por vida a la dieta sin gluten como tratamiento para pacientes intolerantes, implica la completa exclusión de productos de trigo que contienen gluten de la dieta, lo que plantea retos en términos de cumplimiento. La dieta sin gluten es muy efectiva y mejora en gran medida el estado nutricional, lo que induce un incremento en lípidos y en los compartimientos óseos, pero

no normaliza completamente la composición corporal y podría ser, en algunos casos, difícil de seguir. Es crucial que los profesionales sanitarios tengan un profundo conocimiento de la EC y la dieta sin gluten para educar bien a sus pacientes y familiares.

Inicialmente se consideró que la dieta sin gluten era suficiente para tratar a los pacientes con EC y preservar su salud. Ello significaba tener que seleccionar los alimentos apropiados al suprimir el consumo de productos con gluten. En general, los estudios clínicos solo se enfocaron sobre la recuperación de la mucosa intestinal después de la exclusión del gluten de la dieta; pero no se han realizado estudios dietéticos a largo plazo. El intestino sana al excluir gluten de la dieta, pero la intolerancia es permanente y el daño recurre si se reintroduce el gluten. Se han descrito varias evaluaciones de ingesta alimenticia en individuos con EC que siguen una dieta sin gluten, con el fin de estimar la conveniencia de añadir suplementos nutricionales. Se han observado, en lo referido a la ingesta dietaria de energía y nutrientes en niños diagnosticados con EC que siguen una dieta sin gluten, patrones similares a los de niños sanos. Se han observado diferencias en la ingesta de nutrientes, las cuales incluyeron una ingesta reducida de vitaminas D, riboflavina, niacina, tiamina, magnesio y selenio en niños con EC, así como una mayor ingesta de hierro y calcio¹⁴. Teniendo en cuenta el cuidado que debe tenerse al analizar registros dietéticos en adolescentes, los resultados sugirieron que los que siguen la dieta sin gluten presentan una mayor ingesta de ácidos grasos saturados y sacarosa junto con una ingesta menor de fibra que los adolescentes sanos con una dieta con gluten. En general, los individuos con EC exhiben una tendencia a compensar las restricciones de una dieta sin gluten, consumiendo alimentos con altos niveles de grasa, azúcar y calorías, ya que pueden presentar un consumo elevado de grasas totales y saturadas. Mariani et al.¹⁵ indicaron que la dieta de un adolescente con EC es hiperproteica e hiperlipídica y contiene niveles bajos de carbohidratos, hierro, calcio y fibra.

Hallert et al.¹⁶ investigaron el estado vitamínico en pacientes celíacos durante 10 años, utilizando un registro de alimentos de 4 días. Los resultados indicaron que las ingestas diarias de folato y vitamina B12, fueron significativamente inferiores en pacientes celíacos, lo que puede tener implicaciones clínicas al considerar la relación entre deficiencia de vitaminas, elevados niveles de homocisteína total en plasma y enfermedad cardiovascular. Haapalahti y cols.¹⁷ indicaron que un tercio de los adolescentes con EC detectados mediante cribado presentaban valores medios inferiores de ácido fólico en sangre así como bajos niveles de hierro (índice del receptor de transferrina-ferritina) y aunque no se determinó una asociación entre estado nutricional y marcadores de daño de la mucosa (relación vellosidad-cripta), el nivel de la transglutaminasa se asoció con el de ácido fólico en sangre total y con el índice del receptor de transferrina-ferritina.

Posteriormente, Shepherd y Gibson¹⁸ analizaron la ingesta de alimentos de forma prospectiva en 55 pacientes que siguieron la dieta sin gluten durante más de 2 años y simultáneamente en 50 pacientes recién diagnosticados, lo que reveló una ingesta nutricional similar entre ambos grupos. No obstante, se observaron diferencias en la ingesta de nutrientes, por ejemplo, la ingesta de almidón disminuyó al cabo de 12 meses de adherencia a la dieta y la ingesta de fibra fue inadecuada para todos los individuos con EC, excepto los varones con larga adherencia a la dieta. Pacientes

recién diagnosticados y experimentados, presentaron deficiencias en tiamina, folato, magnesio, calcio y hierro (hembras) o zinc (varones). De acuerdo con estos autores, las deficiencias dietarias de una breve adherencia a la dieta sin gluten fueron similares a las de una adherencia a largo plazo a la misma.

Un estudio efectuado en Alemania con 1.000 pacientes mediante un diario de alimentos prospectivo de 7 días y un cuestionario adecuado, revelaron que los pacientes celíacos masculinos no presentaron diferencias significativas para la ingesta de energía y micronutrientes, en contraste con los individuos sanos, aunque se detectó una menor ingesta de fibra¹⁹. En lo referido a los pacientes femeninos, presentaron una mayor ingesta de grasas y un consumo inferior de carbohidratos. Ambos sexos presentaban deficiencias en ácido fólico, magnesio, hierro y vitaminas B1, B2 y B6. Otro estudio se realizó de forma similar en Suecia, entre pacientes de 13 años de edad, diagnosticados con EC durante su niñez, comparándolos con no celíacos, con el fin de evaluar su ingesta de energía y nutrientes²⁰. La ingesta dietética fue evaluada mediante un cuestionario de frecuencia alimenticia durante 4 semanas. La mayoría de los adolescentes, registraron ingestas superiores a los requerimientos de la mayoría de nutrientes, con la excepción de vitamina C y tiamina, pero posteriormente solo en varones con EC. En lo referente a los ácidos grasos, presentaron una ingesta elevada de grasas saturadas y una baja ingesta de grasas insaturadas. Ambos sexos con EC, presentaron una menor densidad global de nutrientes, en contraste con el grupo sano.

Durante los primeros años de tratamiento los pacientes celíacos parecen seguir una dieta nutricionalmente adecuada. Pero después de varios años de cumplimiento de la dieta, se han detectado algunas deficiencias que deberían hacer que quienes fabrican alimentos y nutricionistas ajusten la dieta y la composición de alimentos respectivamente, para prevenir dichas deficiencias y en consecuencia, el riesgo de padecerlas.

4.1. Terapia Nutricional en Relación con Compras Diarias

La disponibilidad de los alimentos sin gluten se ha incrementado en los últimos años, pero siguen siendo costosa y a veces difíciles de encontrar. De hecho, un estudio cualitativo llevado a cabo en 2007 sobre 15 familias confirmó los costos adicionales para aquellas en las que existe al menos un miembro que padece una enfermedad celíaca²¹. Posteriormente, Singh y Whelan²² confirmaron que el costo y la disponibilidad de productos sin gluten podría ser la causa de una adherencia incompleta a la dieta. Estos investigadores analizaron la disponibilidad y el costo de 20 alimentos sin gluten (incluyendo sin gluten de marca y los más económicos) en 30 establecimientos comerciales diferentes; los resultados indicaron una limitada disponibilidad de alimentos sin gluten (solo el 41% de los alimentos estaba disponible en versión sin gluten; un establecimiento de productos alimenticios carecía de dichos productos) y, adicionalmente, los alimentos sin gluten fueron más costosos que sus correspondientes con gluten. Una mayor disponibilidad y asequibilidad de alimentos sin gluten podría mejorar el cumplimiento de la dieta.

Otro aspecto importante es la percepción por parte de los consumidores de la calidad de los pro-

ductos sin gluten en el mercado. En Letonia se llevó a cabo un estudio poblacional entre diciembre de 2010 y finales de Julio 2011, con el fin de determinar la percepción de los consumidores sobre las características de los productos sin gluten en este país; este demostró que la calidad de la harina sin gluten y de las mezclas de harinas y pasta era aceptable, más no así la calidad del pan y de la repostería, productos que precisaban de considerables mejoras tecnológicas^{23,24}.

En algunos países esta limitación en la accesibilidad de estos productos conduce a la aparición de anorexia y malnutrición en niños celíacos. Estos necesitarán dietas ricas en calorías y proteínas.

En contraste, hasta recientemente los productos sin gluten eran relativamente poco accesibles en el mercado, de modo que pacientes con EC tenían a su disposición una selección limitada de los mismos, de modo que consumían un exceso de productos empaquetados sin gluten, tales como bocadillos y galletas con un elevado nivel de lípidos¹⁰.

4.2. ¿Terapia Nutricional Única o Adaptada para Rangos de Edad?

Es claro que cada rango de edad implica requerimientos nutricionales específicos, razón por la que sería aconsejable un plan de alimentación diseñado a medida, tomando en consideración preferencias personales, condición socioeconómica y estilo de vida, para poder garantizar una ingesta adecuada de todos los nutrientes. Estudios llevados a cabo en adultos y niños demuestran que aproximadamente entre un 20%-38% de pacientes presentan complicaciones de la EC, tales como desbalance calorías/proteínas, fibra dietética, deficiencias de minerales y vitaminas. Estas probablemente son generadas por la pobre calidad nutricional de los productos sin gluten o presencia de conductas alimentarias inapropiadas por parte de dichos pacientes.

Los niños deben estar alimentados de acuerdo con los valores de referencia recomendados de ingesta calórica diaria para una dieta saludable y balanceada. Esta debería incluir hasta un 55% de carbohidratos complejos y simples, 15% de proteínas y un 25%-30% al menos, de lípidos²⁵. Es fundamental que la dieta sea adecuada para los niños, ya que es la edad de máximo consumo energético y requerimientos nutricionales para favorecer el crecimiento, desarrollo y actividad física apropiada.

El cumplimiento con la dieta sin gluten es difícil para los adolescentes. De hecho, Altobelli y cols.²⁶ describieron que, por lo menos, un tercio de los adolescentes entrevistados expresaron sentirse molestos “siempre” o “la mayor parte del tiempo” por el seguimiento de la dieta sin gluten. Los profesionales de la salud deben tener especial cuidado para identificar a los adolescentes con problemas significativos relacionados con su salud.

Recientemente un estudio ha confirmado la adherencia a una dieta sin gluten mediante la medición del aliento en individuos sanos que siguieron una dieta sin gluten durante cuatro semanas²⁷. Se asociaron doce compuestos volátiles con la dieta sin gluten; siete fueron identificados como 2-butanol, octano, 2-propil-1pentanol, nonanal, dihidro-4-metil-2(3H)-furanona, ácido nonanoi-

co y dodecanal.

5. Calidad Nutricional de los Alimentos sin Gluten

La terapia nutricional se define como el consumo de alimentos especialmente procesados o formulados para el manejo dietético de pacientes con EC. Los alimentos bajos en proteína/sin proteína han mejorado la manifestación de trastornos metabólicos en pacientes con enfermedades relacionadas con amino ácidos o proteínas, tales como la fenilcetonuria, la tirosinemia tipo I, así como la enfermedad celíaca. La mayoría de los alimentos sin gluten basados en los cereales disponibles en el mercado son una mezcla de ingredientes procedentes de alimentos refinados o de fundamento químico con saborizantes no agradables, frecuentemente artificiales. A pesar de los numerosos avances en el desarrollo de productos sin gluten, de calidad similar a la de sus equivalentes sin gluten, hasta el momento no existe materia prima alguna o ingrediente que reemplace el gluten efectivamente. Las monografías científicas han concluido que la mejor opción para obtener productos sin gluten es la combinación de almidones o harinas modificadas o funcionales con hidrocoloides y suplementada con fibras, proteínas y co-texturizantes²⁸.

La producción de alimentos de cereales sin gluten sigue siendo un reto tecnológico. Los estudios sobre productos sin gluten, particularmente el pan, se han concentrado sobre cómo mejorar ciertos parámetros tecnológicos (volumen, dureza de miga, etc.) además de la percepción sensorial. No obstante, el concepto nutricional de productos de panadería sin gluten, apenas ha sido tratado. Históricamente, la asesoría nutricional para la enfermedad celíaca se ha enfocado sobre la eliminación del gluten de la dieta. Pero surgieron señales de alarma a raíz de un estudio que reveló la ingesta nutricional y patrones de consumo de alimentos de adultos con enfermedad celíaca que cumplieron estrictamente la dieta sin gluten. Estos autores recogieron registros de 47 voluntarios, con el fin de evaluar la ingesta diaria de calorías y el porcentaje calórico diario procedente de carbohidratos, fibra dietética, hierro, calcio y porciones de granos. Las porciones diarias recomendadas de fibra, hierro y calcio fueron alcanzadas por 46, 44 y 31% de las mujeres y 88, 100 y 63% de los varones, respectivamente.

Existe una creciente preocupación sobre la adecuación nutricional del patrón dietético sin gluten, ya que a menudo se caracteriza por un consumo excesivo de lípidos y un consumo reducido de carbohidratos complejos, fibra dietética, vitaminas y minerales^{30,31}.

Un aspecto destacable de ciertos productos sin gluten comerciales, incluyendo los panes, es su variabilidad nutricional. Matos y Rosell³¹ evaluaron el patrón nutricional de varios panes sin gluten representativos del mercado español (Tabla 1). En general, las autoras determinaron que hubo una gran variación en el contenido de proteínas, lípidos y minerales de panes sin gluten, los cuales oscilaban entre 0,90 a 15,5 g/100 g, de 2 a 26,1 g/100 g y de 1,10 a 5,43 g/100 g respectivamente. También hubo una gran variabilidad en el contenido de fibra dietética (de 1,30 a 7,20 g/100 g). Las autoras mencionadas sugirieron que los panes sin gluten presentaron una gran variabilidad en su composición de nutrientes, ya que éstos son alimentos basados en almidones, bajos en proteínas y

altos en contenido de grasas. La composición de los lípidos presentes en productos sin gluten es de gran preocupación, ya que sus ácidos grasos trans pueden provocar desbalance metabólico, al combinarse con ingesta inadecuada de ácidos grasos esenciales¹⁰. Una ingesta elevada en lípidos es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad coronaria y obesidad³².

Tabla 1. Composición aproximada de diferentes panes sin gluten descritos en la literatura científica.

Referencia	Materia prima	Composición química					Fibra dietaria		
		(g/100g, ms)					(g/100g, ms)		
		Proteína	Grasa	Minerales	Fibra	Carbohidratos	TDF	SDF	IDF
						Totales			
						(*)			
Pagliarini y cols, ³³ (1)	Almidón de maíz	2,3	5,4	3,9	7,4	81	nr	nr	nr
	Almidón de maíz, harina de arroz	3,5	14	nr	nr	81,1	nr	nr	nr
	Harina de arroz, almidón de arroz, almidón de tapioca	4,2	11,4	1,9	4,9	77,6	nr	nr	nr
	Almidón de maíz, harina de arroz	5,3	9,1	2,4	10,9	72,3	nr	nr	nr
	Almidón de maíz, harina de arroz	6	9,1	nr	nr	66,5	nr	nr	nr
	Almidón de maíz, almidón de arroz, harina de arroz	4,3	8,3	2,2	4,5	80,7	nr	nr	nr

Matos y Rosell31 (2)	Almidón de maíz, huevo	3,16	8,51	2,12	nr	86,21	9,69	5,79	3,9
	Almidón de maíz, huevo	6,94	16,91	1,1	nr	75,05	5	3,08	1,92
	Almidón de maíz, huevo	7,31	16,56	1,66	nr	74,47	1,83	0,65	1,18
	Almidón de patata, almidón de maíz, caseína, proteína de soya	15,05	7,33	1,85	nr	75,76	6,72	1,14	5,58
	Almidón de maíz, huevo	5,13	10,64	2,01	nr	82,22	5,1	3,62	1,49
	Almidón de maíz, harina de arroz, proteína de altramuz	4,92	4,86	2,03	nr	88,18	5,32	3,09	2,22
	Almidón de maíz, huevo	3,96	8,28	4,53	nr	83,22	9,37	5,2	4,17
	Almidón de maíz	1,01	2	4,03	nr	92,96	2,33	1,07	1,26
	Almidón de maíz	0,91	2,03	5,43	nr	91,63	6,96	2,02	4,94
	Almidón de maíz	1,91	26,1	3,57	nr	68,42	8,22	6,1	2,11
	Almidón de maíz	2,08	18,32	3,98	nr	74,91	8,53	6,94	1,59
	Mezcla sin gluten comercial	3,3	0,97	1,37	nr	94,36	nr	nr	nr
	Harina de arroz	7,57	3,4	1,13	nr	87,9	nr	nr	nr
	Harina de arroz	7,1	3,7	1,31	nr	87,89	nr	nr	nr
	Harina de arroz, almidón de maíz, almidón de patata	14,97	0,2	1,47	nr	83,36	nr	nr	nr
	Harina de arroz, almidón de maíz, almidón de patata	3,63	1,87	1,03	nr	93,47	nr	nr	nr
	Harina de arroz, almidón de maíz, almidón de patata	12,33	9,57	1,46	nr	76,54	nr	nr	nr
Harina de arroz, almidón de patata	7,43	4,77	1,41	nr	86,39	nr	nr	nr	

Phimolsi- ripol y cols,35	Almidón de trigo sin gluten, harina de arroz (control)	5,54	nr	nr	nr	nr	2,29	0,1	2,19
	Almidón de trigo sin gluten, harina de arroz, salvado de arroz	6,08	nr	nr	nr	nr	2,46	0,66	1,8
	Almidón de trigo sin gluten, harina de arroz, salvado de arroz	7,58	nr	nr	nr	nr	5,97	0,58	5,39
	Almidón de trigo sin gluten, harina de arroz, salvado de arroz	6,87	nr	nr	nr	nr	4,44	0,4	4,05
	Almidón de trigo sin gluten, harina de arroz, salvado de arroz	6,73	nr	nr	nr	nr	5,03	0,71	4,32
Krupa- Kozak y cols,36	Mezcla sin gluten	2,52	1,9	3,03	nr	nr	2,29	0,1	2,19
	Mezcla sin gluten, caseinato de calcio	14,23	1,37	3,52	nr	nr	2,46	0,66	1,8
	Mezcla sin gluten, caseinato de calcio	14,86	0,67	3,12	nr	nr	5,97	0,58	5,39
	Mezcla sin gluten, hidrolizado de proteína de suero de leche	13,65	1,38	3,28	nr	nr	4,44	0,4	4,05
	Mezcla sin gluten, aislado de proteína de suero de leche	13,47	13,47	1,74	nr	nr	5,03	0,71	4,32

Ms: materia seca; nr: no reportado,

() Carbohidratos totales (d,b,) por diferencia: 100 – (peso en gramos [proteína + grasa + ceniza] en 100 g de alimento) (FAO, 2003),*

(1) Valor nutricional registrado en etiqueta (Muestras de pan sin gluten comercial, de acuerdo con informes de proveedores),

(2) Muestras sin gluten comerciales,

5.1. Estrategias para Mejorar Nutricionalmente los Panes sin Gluten

Las formulaciones más recientes aplicadas para la fabricación de productos sin gluten, contemplan además la calidad nutricional final de los productos de panadería sin gluten. La estrategia más común para mejorar el valor nutricional de los panes sin gluten se basa en incluir harinas procedentes de diversas fuentes y que posean un mayor valor nutricional. A pesar de que dichas harinas a menudo son presentadas como nuevos cultivos y materia prima, con frecuencia corresponden a materias primas que han sido utilizadas por las poblaciones locales durante siglos. En consecuencia la innovación en realidad está relacionada con la nueva aplicación de estas harinas hacia la obtención de productos sin gluten³⁷. Las harinas no tradicionales tales como las procedentes de pseudocereales (amaranto, quinoa y alforfón), raíces y tubérculos (patata, mandioca, batata y aroides comestibles: taro y ñame) y leguminosas (garbanzos, lentejas, frijoles secos, guisantes y soya)³⁸ son cada vez más populares, en la producción de alimentos sin gluten con gran calidad nutricional (Tabla 2). El amaranto es rico en lípidos, carbohidratos, fibra dietética y otros constituyentes tales como el escualeno, los tocoferoles, compuestos fenólicos, fitatos y vitaminas³⁹.

Vitali y cols,⁴³ compararon la composición nutricional de once materias primas (algarrobo, harina de soja, amaranto, batata naranja, batata roja, quinoa roja, alforfón, maíz, harina de arroz y garbanzo) (Tabla 2) aptas para la dieta sin gluten. Estos investigadores indicaron que el contenido de grasa osciló entre 0,53 g/100 g de materia seca (ms) en batata roja y hasta 24,19 g/100 g (ms) en harina de soja. En lo referente al contenido de carbohidratos, las harinas podrían clasificarse en tres grupos: bajo contenido de carbohidratos (harina de soja -10,64 g/100 g ms); contenido moderado de carbohidratos que oscila entre 48,12 g/100 g ms y 68,56 g/100 g (ms) (harina de trigo, algarrobo, amaranto, alforfón, maíz, arroz y garbanzo) y alto contenido de carbohidratos (> 80 g/100 g ms) observado en harinas de batata y quinoa roja. Sus contenidos en minerales esenciales y fibra dietética fueron significativamente más elevados que los de harina de trigo⁴³. Además los garbanzos, la harina de arroz, de maíz, quinoa y diferentes tipos de harina de patata, son fuentes de almidón resistente; por su parte, algarrobo, soja, alforfón y batata, contienen antioxidantes que han sido relacionados con efectos beneficiosos para la salud humana. Una vez establecida la composición aproximada de estas harinas, Hager y cols⁴¹ compararon la calidad nutricional de harinas sin gluten comerciales elaboradas a partir de teff, sorgo, maíz, quinoa, alforfón, avena y arroz, lo que confirmó que las harinas de maíz y arroz tienen un pobre contenido nutricional, mientras que las harinas procedentes de teff y pseudocereales como alforfón presentan una favorable composición de ácidos grasos y son ricas en proteínas y folatos. Las mezclas sin gluten basadas en quinoa y teff, poseen el beneficio adicional de un alto contenido en fibras y minerales (calcio, magnesio y hierro).

Tabla 2. Composición nutricional de diferentes panes sin gluten descrita en la literatura científica.

Referencia	Productos sin gluten	Materia prima	Composición química (g/100 g, ms)					
			Proteína	Grasa	Ceniza	Fibra	Carbohidratos disponibles	Carbohidratos Totales (*)
Gularte y cols.53	Pastel en capas (control)	Harina de arroz	6,2	13	1,7	1,51	54,3	nr
	Pastel en capas, fibra	Harina de arroz, fibra de avena, goma guar	5,4	13,5	1,7	7,9	48,1	nr
	Pastel en capas, fibra	Harina de arroz, fibra de avena, inulina	5,5	13,6	1,8	7,9	48	nr
	Pastel en capas, fibra	Harina de arroz, fibra de avena	5,5	13,2	1,8	8,6	47,6	nr
	Pastel en capas, fibra	Harina de arroz, inulina	5,4	12,8	1,4	2,5	54,5	nr
Gularte y cols.54	Pastel en capas, garbanzo	Harina de arroz, harina de garbanzo	9,3	14,3	2,2	1,4	45,6	
	Pastel en capas, guisantes	Harina de arroz, harina de guisantes	8,7	13,7	2	2,3	46,2	
	Pastel en capas, lentejas	Harina de arroz, harina de lentejas	9,1	13,8	2	2,8	46	
	Pastel en capas, frijoles	Harina de arroz, harina de frijoles	9,4	13,5	2,2	2,5	45,5	

Cabrera Chávez y cols. ⁵²	Pasta (control)	Harina de arroz, harina de amaranto	12,9	2,9	1,3	5,5	nr	82,9
	Pasta (harina tratada)	Harina de arroz, harina de amaranto	12,9	3	1,3	5,9	nr	82,7
	Pasta (harina tratada)	Harina de arroz, harina de amaranto	12,6	2,9	1,3	5,9	nr	83,1
	Pasta	Harina de arroz	10,7	0,4	0,9	3,2	nr	87,9
	Pasta	Harina de arroz	10	0,4	1	3	nr	88,7

Ms: materia seca; nr: no reportado

() Carbohidratos totales (ms) por diferencia: 100 – (peso en gramos [proteína+grasa+ceniza] en 100 g de alimento) (FAO, 2003),*

El amaranto ha sido utilizado para producir otros alimentos sin gluten, como barritas de merienda⁵⁵. Dichas barritas han sido enriquecidas con fructanos como inulina y oligofructosa, al ser considerados estos ingredientes como prebióticos. Las barras elaboradas con amaranto han tenido muy buena aceptación, además presentan ventajas nutricionales asociadas a la reducción calórica y niveles superiores de fibra dietética en contraste con las barras de cereales comerciales.

Lee y cols.⁵⁶ definieron un patrón alimenticio sin gluten alternativo, en el cual se sustituyó los granos y almidones de un patrón dietético sin gluten “estándar”, definido mediante una revisión retrospectiva de registros históricos de la dieta de pacientes celíacos. La dieta alternativa propuesta contenía avena, pan sin gluten rico en fibra y quinoa, lo cual generó un incremento significativo del contenido de proteínas, hierro, calcio, fibra y en el contenido de vitamina B (riboflavina, niacina y folatos).

Otras materias primas tales como la harina de sorgo^{41,57-59}, harina de germen de algarrobo⁶⁰, harina de castaña^{61,62}, harina de chufa⁶³ y harina de teff^{41,57} también han sido utilizadas como innovadoras materias primas sin gluten. Generalmente se han obtenido panes sin gluten de buena calidad cuando se optimiza la receta para elaborar pan. La calidad nutricional de la harina elaborada con pseudocereales o teff es de mejor calidad que la de harina de trigo, pero sus propiedades para la elaboración del pan y sus características sensoriales, comprometen hasta cierto punto, su idoneidad para la elaboración de pan sin gluten.

Gambus y cols.⁶⁴ evaluaron el efecto nutricional de la harina de linaza, amaranto y/o alforfón, para la elaboración de dulces y caramelos, obteniendo un incremento del contenido proteínico, aunque,

considerando la composición de aminoácidos, el amaranto sería el producto de elección. Dichas harinas también permitieron elaborar productos sin gluten con mayor fibra dietética y, en el caso de la harina de linaza, también un incremento del ácido alfa-linoléico. Además, estos productos contenían más microelementos (potasio, fósforo, magnesio, calcio, hierro, manganeso, zinc y cobre). Los panecillos sin gluten también fueron elaborados con 10% de linaza molida, sin efecto sobre la calidad tecnológica de los panecillos, pero incrementaron significativamente el contenido de proteínas, grasa (incluyendo ácido alfa-linoléico), compuestos minerales, fibra dietética y fitatos⁶⁵.

Se han obtenido pasteles sin gluten elaborados con almidón y harina de maíz (1:1), de calidad sensorial aceptable, cuando esta ha sido remplazada con 30% de harina de lupino, con el beneficio adicional de que el lupino incrementa el contenido de proteína, calcio, hierro, manganeso, fósforo y zinc de los pasteles⁶⁶. Otra opción para elaborar productos sin gluten saludables es la utilización de banana verde, un subproducto de bajo valor comercial y poca utilidad industrial el cual se ha confirmado como una innovadora materia prima, con muchos beneficios para la industria alimentaria y para los celíacos que siguen una dieta sin gluten⁶⁷. Cuando se elabora pasta con harina de banana verde, el producto resultante presenta una gran aceptación por parte de los consumidores con EC⁶⁸. Algunos productos secundarios procedentes de la industria agrícola también han sido empleados como fuentes de nutrientes. Por ejemplo, la mandioca genera un elevado volumen de desecho, entre ellos la cáscara de mandioca, la que, después de ser deshidratada y molida, ha sido incorporada en la fórmula de pasteles sin gluten como sustituto de la harina de arroz⁶⁹. Una sustitución progresivamente más elevada de hasta el 100%, incrementó los contenidos de ceniza (3,1 a 4,8 g/100 g), lípidos (8,6 a 16,7 g/100 g) y fibras totales (4,1 a 19,3 g/100 g) e insolubles (3,5 a 17,3 g/100 g). Inclusive, se obtuvieron pasteles sensorialmente aceptables utilizando un 100% de harina de cáscara de mandioca.

Junto con la utilización de nuevas materias primas, el enriquecimiento proteínico también ha ganado interés y, con ese fin, también se han incorporado aislados de proteína de soja, así como harinas de leguminosas o aislados de proteína de leguminosas (Marco & Rosell, 2008a, b; Matos & Rosell, 2012b; Ziobro y cols., 2013a; Storck y cols., 2013). Generalmente, el enriquecimiento en proteínas del pan sin gluten conduce a una reducción, tanto en volumen específico, como en suavidad de miga, pero a pesar del efecto adverso sobre parámetros de calidad instrumental, el impacto nutricional es claramente evidente. Por ejemplo, los pasteles sin gluten, al ser enriquecidos con harinas de leguminosas (harina de arroz/harina de leguminosa, 50:50) como garbanzos, guisantes, lentejas y judías verdes, incrementaron su contenido proteínico en 30% (tabla 3) y en menor magnitud, grasa, minerales y contenido de fibra dietética, excepto en el caso del garbanzo³⁸.

Galletas saladas elaboradas con fracciones de leguminosas (harina de garbanzo, lenteja verde y roja, guisante amarillo, judía pinta y blanca, así como proteína, almidón y aislados de fibra de guisantes) presentan características físicas similares y aceptación por parte de los consumidores, similares a las de productos existentes en el mercado⁷⁰. La composición nutricional de las galletas sin gluten fabricadas con dichas fracciones, también fue similar a la de las galletas comerciales, con la excepción del mayor aporte en hierro que se consigue en el caso de las galletas de garbanzo.

Asimismo, el enriquecimiento proteínico también ha sido llevado a cabo utilizando proteínas procedentes de fuentes animales, como proteínas lácteas o de huevo, Krupa-Kozak y cols.³⁶ analizaron el efecto de diferentes proteínas lácteas bajas en lactosa (12%) sobre la calidad de los panes sin gluten (Tabla 1). Dichos autores obtuvieron panes sin gluten ricos en proteína y en lo referente a su valor energético, podrían considerarse como una fuente de proteínas o ricos en proteínas, ya que proporcionan cerca del 15% de la energía. Considerando la regulación del Parlamento Europeo sobre declaraciones nutricionales, únicamente puede declararse un alimento como fuente de proteínas cuando, por lo menos, un 12% del valor energético de dicho alimento es proporcionado por la proteína, por lo que dichos panes pueden ser etiquetados como una fuente de proteínas.

En lo referente al enriquecimiento de fibra, los alimentos sin gluten no son ajenos a las nuevas tendencias en productos de panadería. De acuerdo con la Asociación Dietética Americana, la ingesta diaria de fibra recomendada para adultos, oscila entre 25 y 30 g/día con una proporción de fibra dietética insoluble/fibra dietética soluble de 3/1⁷¹. Los efectos fisiológicos de fibras solubles e insolubles son diferentes; mientras que los beneficios de la fibra dietética insoluble se relacionan con la regulación intestinal y absorción del agua, los beneficios dietéticos de la fibra soluble se asocian con la reducción del colesterol, mejor control de la diabetes y respuestas glicémicas postprandiales moderadas. Matos y cols.³¹ indicaron que los contenidos de fibra de panes sin gluten comerciales oscilaron entre 1,30 y 7,20 g/100 g, lo que confirma la gran variabilidad en la composición nutricional de dichos productos. Se han utilizado fibras cereales procedentes de trigo, maíz, avena y cebada para enriquecer fórmulas para pan sin gluten basadas en almidón de maíz, harina de arroz e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)⁷². La adición de dichas fibras en proporciones de 3, 6 y 9 g/100 g condujo a la fabricación de panes con mayor contenido de fibra. Cuando se adicionaron en proporciones de 9 g/100 g, los panes resultantes contenían 7 g/100 g de fibra dietética, por lo que podrían ser etiquetados como ricos en fibra, pero su aceptación se podría ver comprometida por la disminución en la aceptación sensorial. En otros casos se han utilizado diferentes fracciones de salvado de arroz, especialmente aquellas con mayor proporción de fibra soluble dietética, pudiendo adicionarse hasta un 10% en la formulación de panes sin gluten y en los panes obtenidos se mejora el color de la corteza ya que este es más oscuro, además presentar mayor volumen específico y miga más suave³⁵ (Tabla 1). De forma similar, se ha propuesto la fabricación de pasteles sin gluten, enriquecidos con fibras solubles e insolubles como inulina y fibra de avena, respectivamente (Tabla 3)⁵³. En este caso particular, las fibras afectaron significativamente la hidrólisis in vitro del almidón, sobre todo, a la hidrólisis de la fracción de almidón lentamente digerible. Globalmente la combinación fibra de avena-inulina produjo mejores pasteles sin gluten.

La harina pre-gelatinizada elaborada con almidón y bagazo de mandioca (70:30), almidón de mandioca y harina de amaranto ha sido mezclada en una proporción de 10:60:30, respectivamente, para obtener pasta sin gluten enriquecida en fibra con un contenido de fibra dietética de 9,37 g/100 g⁷³.

Fuentes de fibra tales como el salvado de arroz (Phimolsiripol y cols., 2012) y la inulina (Krupa-Kozak y cols., 2012; Phimolsiripol y cols., 2013) han sido evaluadas para el desarrollo de panes sin

gluten mejorados nutricionalmente. Muy recientemente, se ha agregado goma de *Psyllium* y fibra de remolacha a panes sin gluten (Cappa y cols., 2013); en este caso la adsorción de agua debe ser adaptada, debido a la capacidad de las fibras para ligar el agua. Dichas fibras mejoran la manejabilidad de las masas, pero gracias a su capacidad de formar una película, el *Psyllium* contribuyó al desarrollo del pan y presentó un efecto anti- envejecimiento, más efectivo.

No obstante, aunque numerosos estudios científicos han subrayado diversas opciones para mejorar nutricionalmente los productos sin gluten, la industria no ha incorporado realmente este conocimiento en los productos comercializados. De hecho Do Nascimento y cols.⁷⁴ analizaron las etiquetas de 324 productos incluyendo productos sin gluten y sus equivalentes con gluten. Este estudio confirmó la escasa variedad de productos sin gluten existente y que las materias primas utilizadas se redujeron a cinco tipos de harinas: arroz, mandioca, maíz, soja y patata; no se encontró la presencia de pseudocereales, sugerida en la literatura científica.

5.2. Enriquecimiento de Productos sin Gluten con Minerales y Vitaminas

Los panes sin gluten también han sido objeto de atención en lo referente a su nivel de micronutrientes. Suliburska y cols.⁷⁵ determinaron el contenido y liberación de minerales (Ca, Mg, Fe, Zn y Cu) en productos sin gluten seleccionados (pan, galletas, pasta, potaje de maíz y soplo de guisantes) en el mercado de Polonia (Tabla 4). Los resultados demostraron que el contenido de minerales varió considerablemente entre los diversos tipos de productos y fue relativamente bajo. Entre los productos analizados, el pan se caracterizó por un elevado contenido de calcio y zinc y un contenido relativamente alto de magnesio. No obstante, el pan mostró el contenido de hierro y cobre más bajo. Adicionalmente, la biodisponibilidad potencial de minerales en productos sin gluten, se encontró en un rango del 10 al 70% y dependió de los elementos y composición del producto analizado. Los investigadores concluyeron que debe considerarse la conveniencia de enriquecer productos sin gluten con minerales.

Tabla 4, Contenido de minerales en fórmulas de alimentos sin gluten descritas en literatura científica.

Referencia	Productos sin gluten	Principal materia prima utilizada	Contenido de minerales				
			(mg/100g, ms)				
			Ca	Mg	Fe	Zn	Cu
Krupa-Kozak y cols.76 (*)	Pan sin gluten (control)	Almidón de maíz, almidón de patata, inulina	15	nr	nr	nr	nr
	Carbonato de calcio	Almidón de maíz, almidón de patata, inulina, carbonato de calcio	1,09	nr	nr	nr	nr
	Cloruro de calcio	Almidón de maíz, almidón de patata, inulina, cloruro de calcio	1,05	nr	nr	nr	nr
	Citrato de calcio	Almidón de maíz, almidón de patata, inulina, citrato de calcio	1,09	nr	nr	nr	nr
	Lactato de calcio	Almidón de maíz, almidón de patata, inulina, lactato de calcio	1,12	nr	nr	nr	nr
Cabrera-Chávez y cols.52	Pasta (control)	Harina de arroz, harina de amaranto	29,6	nr	7,5	7,1	
	Pasta (harina tratada)	Harina de arroz, harina de amaranto	29,9	nr	7,6	7,3	
	Pasta (harina tratada)	Harina de arroz, harina de amaranto	28,8	nr	7,6	7,2	
	Pasta	Harina de arroz	3,6	nr	1,6	0,7	
	Pasta	Harina de arroz	3,6	nr	1,7	0,7	

Suliburska y cols. ⁷⁵ (*)	Pan	Harina de maíz	44,62	31,4	1,14	2,46	0,07
	Pasta	Harina de maíz, aislado de proteína de guisante	18,96	19,7	2,66	1,75	0,41
	Gachas de maíz	Gachas de maíz	3,43	33,1	1,29	1,63	0,09
	Soplado de guisantes	Almidón de maíz, almidón de trigo sin gluten, huevo	45,8	13,61	1,85	6,37	0,18
	Galletas	Almidón de maíz, almidón de patata, almidón de trigo sin gluten	25,7	15,73	1,4	0,83	0,08

*Ms: materia seca; nr: no reportado,
(*) Productos sin gluten comercializados selectos,*

De hecho, este tema ha sido tratado en varias investigaciones sobre la suplementación de vitaminas y minerales en panes sin gluten. Kiskini y cols.⁷⁷ estudiaron la posibilidad de producir pan sin gluten fortificado con hierro, utilizando compuestos de hierro selectos. Los productos fortificados con pirofosfato férrico, fueron los más aceptables ya que presentaron características sensoriales y nutricionales aceptables. La incorporación de harina de alforfón (10-40%) también es un modo de enriquecer panes sin gluten, especialmente en cobre y manganeso⁷⁸. Una investigación más reciente llevada a cabo por Krupa-Kozak y cols.⁷⁶ sobre la fortificación de pan sin gluten con inulina, utilizando diversas fuentes de calcio orgánicas y no orgánicas (Tabla 4) confirmó que todos los panes experimentales fueron significativamente más ricos en calcio en contraste con el control, lo que confirmó la fortificación. Además la evaluación sensorial de los panes fortificados con calcio reveló que el carbonato de calcio fue la sal más recomendada para la fortificación de panes sin gluten.

Debe resaltarse el hecho de que incluso el enriquecimiento con folato debería considerarse muy seriamente, ya que diferentes estudios han concluido que los pacientes celíacos que cumplen una dieta sin gluten, presentan una baja ingesta de folatos, así como niveles subóptimos de folato y B12, posiblemente debido al bajo contenido de folato en productos sin gluten⁷⁹.

El buen control glucémico es particularmente importante en la enfermedad celíaca, ya que existe una mayor incidencia de diabetes tipo I entre pacientes con EC⁸⁰. De hecho, diversos estudios han evaluado el índice glicémico (IG) de productos sin gluten^{31,80,81}. En general, los pseudocereales como quinoa y amaranto han presentado algunos efectos hipoglucémicos y han sido recomendados como alternativa a ingredientes tradicionales en la elaboración de productos sin gluten con

menor IG⁸⁰ (Álvarez-Jubete y cols., 2010a). Por otro lado, panes sin gluten elaborados con almidón, han presentado valores de índice glicémico estimados entre 83,3 y 96,1, por lo que este tipo de panes podría ser considerado como un alimento con alto índice glicémico³¹. Por lo tanto, es necesario seleccionar una materia prima apropiada al elaborar productos sin gluten para reducir el IG de pacientes celíacos. Por ejemplo, al elaborar pasta fresca de huevo con avena o teff, se reduce significativamente el IG, en contraste con el de pasta de trigo, presentando propiedades sensoriales similares, aunque el gusto de pasta elaborada con teff requirió mejoras adicionales⁸².

La inclusión de fructanos prebióticos tipo inulina ha sido descrita como una alternativa para la reducción del índice glicémico de panes sin gluten ya que hasta un tercio de estos fructanos, se pierde durante el horneado⁸³. En panes enriquecidos con 8% de fibra dietética, la adición de un 12% de estos fructanos, proporciona 4 g de fructanos por 50 g de porción de pan y con un índice glicémico y una carga glucémica de 48 y 8 respectivamente, en contraste con un IG de 71 y 12 de carga glucémica, en ausencia de este prebiótico.

Junto con la modificación de composición en los alimentos para el control del índice glicémico, otros investigadores proponen controlar la distribución de tamaño de partícula de la materia prima o en el caso de cereales sin gluten, controlar las variedades⁸⁴. En el caso de harina de arroz, la heterogeneidad del tamaño de partícula es responsable del patrón diferente de hidrólisis enzimática del almidón; este efecto depende del tipo de grano. La harina procedente de arroz de grano largo, experimenta una hidrólisis enzimática inferior⁸⁴. Aunque incluso el proceso de elaboración de pan puede ser utilizado para modular efectivamente la digestibilidad de almidón de panes de arroz sin gluten⁸⁵. Las características de la harina unida a una baja hidratación durante el mezclado o amasado se han reportado como una combinación adecuada para limitar la gelatinización del almidón y controlar la digestibilidad *in vitro* de almidón⁸⁵.

5.3. Otras Opciones para Mejorar Nutricionalmente los Alimentos sin Gluten

Junto con diferentes ingredientes y aditivos, un modo interesante de mejorar la calidad nutricional de los alimentos sin gluten es la utilización de masa madre. Esta es una antigua práctica de elaboración de productos de trigo que utiliza pan de masa fermentada o masas madre para mejorar la fermentación y la textura, gusto, aroma, propiedades nutricionales y durabilidad del producto. La masa madre promueve principalmente acidificación y proteólisis al liberar múltiples metabolitos microbianos, que son los responsables de la mejora de la calidad del pan. No obstante, esta práctica se ha extendido recientemente a productos sin gluten, ya que junto con los beneficios antes mencionados, la masa madre es un producto natural que puede mejorar el valor nutricional. Es bien conocido el papel que desempeña la masa madre en la acidificación, producción de exopolisacáridos y activación de enzimas, tales como proteasas, amilasas y fitasas, así como la producción de sustancias antimicrobianas como el propionato. Otros beneficios descritos incluyen la disminución de la respuesta glicémica, el incremento de la biodisponibilidad de fibra dietética y fitoquímicos y la producción de compuestos nutricionalmente activos, como péptidos y derivados

de amino ácidos y exopolisacáridos, potencialmente prebióticos^{86,87}. No obstante, existe poca información sobre la utilización de la masa madre en productos de panadería sin gluten⁸⁸. La fermentación microbiana mediante bacterias de ácido láctico y levaduras es uno de los métodos más ecológicos y económicos para intentar mejorar la calidad de los alimentos sin gluten con características saludables⁸⁹.

Se han llevado a cabo intentos de fermentación de pseudocereales con el fin de obtener productos sin gluten mejorados nutricionalmente. Por ejemplo, la obtención de masas madre de quinoa fue posible mediante la utilización del *Lactobacillus plantarum* CRL 778, que permitió una mayor producción de ácido láctico que en el caso del trigo⁹⁰. Este tipo de fermentación estimuló la hidrólisis de proteínas mediante proteasas endógenas, lo que ocurrió más rápidamente en quinoa que en trigo (alcanzando un 40-100% en quinoa después de unas 8 horas de incubación, frente a solamente 0-20% en trigo). La hidrólisis de proteínas fue paralela a la liberación de péptidos y amino ácidos y se incrementó progresivamente la concentración de compuestos antifúngicos (ácidos feniláctico y hidroxifeniláctico) sintetizados a partir de fenilalanina y tirosina⁹⁰.

Aunque los pseudocereales son buenas fuentes de vitaminas, minerales y fibras, también pueden mejorarse mediante germinación. Las semillas germinadas también pueden adicionarse para fortificar alimentos sin gluten⁹¹. La germinación del amaranto, alforfón, maíz, mijo, arroz, sorgo y quinoa puede reducir su contenido de antinutrientes. Su utilización para fortificar y enriquecer naturalmente alimentos sin gluten tiene un gran potencial. Por ejemplo, maltas de avena y quinoa (obtenidas mediante germinación) han sido incorporadas en pan sin gluten elaborado con arroz y patata, obteniendo mejor miga debido a la actividad de amilasas e hidrólisis de proteínas⁹²,

La detoxificación del gluten de la dieta en cereales con gluten mediante escisión enzimática del fragmento de gliadina a través de la acción de las prolil- endopeptidasas (PEPs) procedentes de diferentes organismos, representa una corriente relativamente nueva que puede ser utilizada para la producir alimentos sin gluten procedentes de cereales con gluten; también pueden ser ingeridos como terapia oral⁹³. Adicionalmente, la degradación de péptidos tóxicos puede conseguirse mediante la germinación de enzimas del cereal y transamidación de harinas de cereal⁹⁴. Estos tratamientos pueden producir harinas con calidades nutricionales y de horneado similares a las de los cereales tóxicos. La transglutaminasa microbiana modifica selectivamente los residuos de glutamina del gluten mediante una transamidación con éster de metil de lisina o ligamiento cruzado de cadenas de péptidos para su eliminación mediante filtrado, lo que conlleva la detoxificación del gluten⁹³.

Se ha descrito que la digestión de la harina del trigo, mediante proteasas de hongos y lactobacilos presentes en masas madre, es una opción para la obtención de alimentos seguros para pacientes celíacos⁸⁶. Curiel y cols.⁹⁵ han aplicado la combinación de fermentación mediante bacterias de ácido láctico y proteasas procedentes de masas madre, a la elaboración de pasta sin gluten experimental. Estos investigadores formularon la pasta sin gluten con harina de arroz pre-gelatinizada en una proporción con harina de trigo (1:1), lo que favoreció la hidrólisis completa de la harina de

trigo. La harina de trigo detoxificada condujo a la elaboración de pasta con mejores propiedades sensoriales, digestibilidad y calidad nutricional.

Incluso se han llevado a cabo estudios *in vivo* con ratones para analizar la antigenicidad de una masa madre de centeno sometida a una extensa hidrólisis de prolaminas. La cuantificación de gluten mediante ELISA R5 competitiva confirmó una extensa degradación del epítipo R5 del gluten, pero la hidrólisis de secalinas en masa fermentada germinada de centeno es incompleta, aunque esto abre nuevas opciones para pacientes con EC con diversos grados de intolerancia⁹⁶.

6. Conclusión

La terapia nutricional mediante adaptación personalizada de la nutrición es fundamental para el tratamiento de individuos con EC. No obstante, numerosos estudios han indicado que, aunque la eliminación del gluten es la única medida efectiva para paliar los síntomas de la EC, las deficiencias nutricionales presentes antes del diagnóstico no se corrigen completamente y otras podrían aparecer después de un tiempo de cumplimiento de una dieta sin gluten a largo plazo.

Por otro lado, los productos sin gluten están compuestos por complejas combinaciones de ingredientes, lo que difiere significativamente de los alimentos con gluten y, en consecuencia, su composición es relativamente variada. Por ello, el cumplimiento prolongado de la dieta sin gluten podría ocasionar desbalances nutricionales en algunos individuos con EC.

En general, los alimentos sin gluten presentes en el mercado, aunque cumplen con las expectativas del consumidor en lo referente a su calidad y disponibilidad, a menudo no satisface completamente los requerimientos dietarios de consumidores con EC debido a su composición, lo que plantea reconsiderarla teniendo en mente el tipo de consumidores, e incluso, su rango de edad.

Actualmente, se investiga intensamente para tratar de satisfacer las necesidades de individuos con EC y anualmente se lanza al mercado un gran número de nuevos alimentos sin gluten. Estrategias diversas, tales como cambios en las formas de cultivo del cereal, diseño de fórmulas balanceadas y enriquecidas, procesamiento de alimentos y detoxificación del gluten, se encuentran entre las opciones más interesantes. Se está llevando a cabo una extensa investigación sobre la EC y tecnología de los alimentos sin gluten, pero aún no existe fecha para poder disponer de alimentos sin gluten nutricionalmente equivalentes a sus equivalentes con gluten.

Reconocimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Consejo Superior Español de Investigaciones Científicas (CSIC), del Ministerio Español de Economía y Sostenibilidad (Proyecto IPT-2012-0487-060000 y Proyecto AGL2011-23802), el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y la Generalitat Valenciana (Proyecto Prometeo/2017/189).

Referencias

1. Gil-Humanes J, Piston F, Altamirano-Fortoul R, Real A, Comino I, Sousa C et al. *Reduced-Gliadin Wheat Bread: An Alternative to the Gluten-Free Diet for Consumers Suffering Gluten-Related Pathologies*. *PloS one*. 2014; 9(3).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090898>
2. Denery-Papini S, Nicolas Y, Popineau Y. *Efficiency and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods*. *Journal of Cereal Science*. 1999; 30(2): 121-31.
<http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1999.0268>
3. Rosell CM, Barro F, Sousa C, Mena MC. *Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection*. *Journal of Cereal Science*. 2014; 59(3): 354-64.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.001>
4. Matos ME, Rosell CM. *Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance*. *Journal of the science of food and agriculture*. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6732>
5. Fasano A, Catassi C. *Celiac Disease*. *New England Journal of Medicine*. 2012; 367(25): 2419-26.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcp1113994>
PMid:23252527
6. Worosz MR, Wilson NLW. *A Cautionary Tale of Purity, Labeling and Product Literacy in the Gluten-Free Market*. *J Consum Aff*. 2012; 46(2): 288-318.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-6606.2012.01230.x>
7. Catassi C, Fasano A. *Celiac disease*. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2008; 24(6): 687-91.
<http://dx.doi.org/10.1097/MOG.0b013e32830edc1e>
PMid:19122516
8. Malterre T. *Digestive and Nutritional Considerations in Celiac Disease. Could Supplementation Help?* *Alternative Medicine Review*. 2009; 14(3): 247-57.
PMid:19803549
9. Malandrino N, Capristo E, Farnetti S, Leggio L, Abenavoli L, Addolorato G et al. *Metabolic and nutritional features in adult celiac patients*. *Digestive Diseases*. 2008; 26(2): 128-33.
<http://dx.doi.org/10.1159/000116770>
PMid:18431062
10. Saturni L, Ferretti G, Bacchetti T. *The Gluten-Free Diet: Safety and Nutritional Quality*. *Nutrients*. 2010; 2(1): 16-34.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu2010016>
PMid:22253989 PMCID:PMC3257612

11. Brambilla P, Picca M, Dilillo D, Meneghin F, Cravidi C, Tischer MC et al. *Changes of body mass index in celiac children on a gluten-free diet.* Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2013; 23(3): 177-82.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2011.10.002>
PMid:22209739
12. Wierdsma NJ, van Bokhorst-de van der Schueren MAE, Berkenpas M, Mulder CJJ, van Bodegraven AA. *Vitamin and Mineral Deficiencies Are Highly Prevalent in Newly Diagnosed Celiac Disease Patients.* Nutrients. 2013; 5(10): 3975-92.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5103975>
PMid:24084055 PMCid:PMC3820055
13. Caruso R, Pallone F, Stasi E, Romeo S, Monteleone G. *Appropriate nutrient supplementation in celiac disease.* Annals of Medicine. 2013; 45(8): 522-31.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2013.849383>
PMid:24195595
14. Ohlund K, Olsson C, Hernell O, Ohlund I. *Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet.* Journal of Human Nutrition and Dietetics. 2010; 23(3): 294-300.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2010.01060.x>
PMid:20337845
15. Mariani P, Viti MG, Montuori M, La Vecchia A, Cipolletta E, Calvani L et al. *The gluten-free diet: A nutritional risk factor for adolescents with celiac disease?* Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 1998; 27(5): 519-23.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-199811000-00004>
PMid:9822315
16. Hallert C, Grant C, Grehn S, Granno C, Hulten S, Midhagen G et al. *Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years.* Alimentary pharmacology & therapeutics. 2002; 16(7): 1333-9.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2036.2002.01283.x>
17. Haapalahti M, Kulmala P, Karttunen TJ, Paajanen L, Laurila K, Maki M et al. *Nutritional status in adolescents and young adults with screen-detected celiac disease.* Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2005; 40(5): 566-70.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.MPG.0000154658.16618.F9>
PMid:15861017
18. Shepherd SJ, Gibson PR. *Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease.* Journal of Human Nutrition and Dietetics. 2013; 26(4): 349 58.
<http://dx.doi.org/10.1111/jhn.12018>
PMid:23198728

19. Martin J, Geisel T, Maresch C, Krieger K, Stein J. *Inadequate Nutrient Intake in Patients with Celiac Disease: Results from a German Dietary Survey*. *Digestion*. 2013; 87(4): 240-6.
<http://dx.doi.org/10.1159/000348850>
PMid:23751356
20. Kautto E, Ivarsson A, Norstrom F, Hogberg L, Carlsson A, Hornell A. *Nutrient intake in adolescent girls and boys diagnosed with coeliac disease at an early age is mostly comparable to their non-coeliac contemporaries*. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2014; 27(1): 41-53.
<http://dx.doi.org/10.1111/jhn.12125>
PMid:23701396
21. Preusse H, Glaser G. *Additional diet-related nutritional costs for patients with celiac disease*. *Ernaehrungs-Umschau*. 2009; 56(10): 554-9.
PMid:24299846
22. Singh J, Whelan K. *Limited availability and higher cost of gluten-free foods*. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2011; 24(5): 479-86.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2011.01160.x>
PMid:21605198
23. Dura A, Błaszczak W, Rosell CM. *Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase treatments*. *Carbohydrate Polymers*. 2014; 101(1): 837-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.013>
PMid:24299846
24. Ozola L, Straumite E (Eds.). *Consumers' attitude towards availability and quality of gluten-free products in the latvian market*. 18th Annual International Scientific Conference - Research for Rural Development 2012. Jelgava. 2012.
25. Penagini F, Dilillo D, Meneghin F, Mameli C, Fabiano V, Zuccotti GV. *Gluten-Free Diet in Children: An Approach to a Nutritionally Adequate and Balanced Diet*. *Nutrients*. 2013; 5(11): 4553-65.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5114553>
PMid:24253052 PMCID:PMC3847748
26. Altobelli E, Paduano R, Gentile T, Caloisi C, Marziliano C, Necozone S et al. *Health-related quality of life in children and adolescents with celiac disease: survey of a population from central Italy*. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2013; 11.
<http://dx.doi.org/10.1186/1477-7525-11-204>
27. Baranska A, Tigchelaar E, Smolinska A, Dallinga JW, Moonen EJC, Dekens JAM et al. *Profile of volatile organic compounds in exhaled breath changes as a result of gluten-free diet*. *Journal of Breath Research*. 2013; 7(3).
<http://dx.doi.org/10.1088/1752-7155/7/3/037104>
PMid:23774130

28. Dar YL. *Advances and ongoing challenges in the development of gluten-free baked goods*. Cereal Foods World. 2013; 58(6): 298-304.
<http://dx.doi.org/10.1094/CFW-58-6-0298>
29. Thompson T, Dennis M, Higgins LA, Lee AR, Sharrett MK. *Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods?* Journal of Human Nutrition and Dietetics. 2005; 18(3): 163-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2005.00607.x>
PMid:15882378
30. Thompson T. *Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet*. Journal of the American Dietetic Association. 2000; 100(11): 1389-96.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-8223\(00\)00386-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00386-2)
31. Matos ME, Rosell CM. *Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads*. Plant Foods for Human Nutrition. 2011; 66(3):224-30.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-011-0244-2>
PMid:21769691
32. Valletta E, Fornaro M, Cipolli M, Conte S, Bissolo F, Danchielli C. *Celiac disease and obesity: need for nutritional follow-up after diagnosis*. European journal of clinical nutrition. 2010; 64(11): 1371-2.
<http://dx.doi.org/10.1038/ejcn.2010.161>
PMid:20717130
33. Pagliarini E, Laureati M, Lavelli V. *Sensory evaluation of gluten-free breads assessed by a trained panel of celiac assessors*. European Food Research and Technology. 2010; 231(1): 37-46.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-010-1249-z>
34. Matos ME, Rosell CM. *Quality Indicators of Rice-Based Gluten-Free Bread-Like Products: Relationships Between Dough Rheology and Quality Characteristics*. Food and Bioprocess Technology. 2013; 6(9): 2331-41.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0903-9>
35. Phimolsiripol Y, Mukprasirt A, Schoenlechner R. *Quality improvement of ricebased gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran*. Journal of Cereal Science. 2012; 56(2): 389-95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.001>
36. Krupa-Kozak U, Baczek N, Rosell CM. *Application of Dairy Proteins as Technological and Nutritional Improvers of Calcium-Supplemented Gluten-Free Bread*. Nutrients. 2013 Nov;5(11):4503-20.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5114503>
PMid:24241213 PMCID:PMC3847745
37. Dini C, Garcia MA, Vina SZ. *Non-traditional flours: frontiers between ancestral heritage and innovation*. Food & Function. 2012; 3(6): 606-20.
<http://dx.doi.org/10.1039/c2fo30036b>
PMid:22499487

38. Gularte MA, Gomez M, Rosell CM. *Impact of Legume Flours on Quality and In Vitro Digestibility of Starch and Protein from Gluten-Free Cakes*. Food and Bioprocess Technology. 2012; 5(8): 3142-50.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0642-3>
39. Venskutonis PR, Kraujalis P. *Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2013; 12(4): 381-412.
<http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12021>
40. Vitali D, Klarić DA, Dragojević IV. *Nutritional and functional properties of certain gluten-free raw materials*. Czech Journal of Food Sciences. 2010; 28(6): 495-505.
41. Hager AS, Wolter A, Jacob F, Zannini E, Arendt EK. *Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours*. Journal of Cereal Science. 2012; 56(2): 239-47.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.005>
42. Rai S, Kaur A, Singh B. *Quality characteristics of gluten free cookies prepared from different flour combinations*. Journal of Food Science and Technology-Mysore. 2014; 51(4): 785-9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0547-1>
PMid:24741176 PMCID:PMC3982011
43. Vitali D, Klaric DA, Dragojevic IV. *Nutritional and Functional Properties of Certain Gluten-Free Raw Materials*. Czech Journal of Food Sciences. 2010; 28(6): 495-505.
44. Renzetti S, Behr J, Vogel RF, Arendt EK. *Transglutaminase polymerisation of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) proteins*. Journal of Cereal Science. 2008; 48(3): 747-54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2008.04.005>
45. Mezaize S, Chevallier S, Le Bail A, de Lamballerie M. *Optimization of Gluten-Free Formulations for French-Style Breads*. Journal of Food Science. 2009; 74(3): E140-E6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01096.x>
PMid:19397719
46. Torbica A, Hadnadev M, Dapcevic T. *Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour*. Food Hydrocolloids. 2010; 24(6-7): 626-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.004>
47. Mariotti M, Pagani MA, Lucisano M. *The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures*. Food Hydrocolloids. 2013; 30(1): 393-400.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.07.005>
48. Krupa-Kozak U, Wronkowska M, Soral-Smietana M. *Effect of Buckwheat Flour on Microelements and Proteins Contents in Gluten-Free Bread*. Czech Journal of Food Sciences. 2011; 29(2): 103-8.

49. de la Barca AMC, Rojas-Martinez ME, Islas-Rubio AR, Cabrera-Chavez F. Gluten-Free Breads and Cookies of Raw and Popped Amaranth Flours with Attractive Technological and Nutritional Qualities. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2010; 65(3): 241-6.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-010-0187-z>
PMid:20734143
50. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. *Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients*. *Trends in Food Science & Technology*. 2010; 21(2): 106-13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
51. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. *Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009; 60: 240-57.
<http://dx.doi.org/10.1080/09637480902950597>
PMid:19462323
52. Cabrera-Chávez F, Calderón de la Barca AM, Islas-Rubio AR, Marti A, Marengo M, Pagani MA et al. *Molecular rearrangements in extrusion processes for the production of amaranth-enriched, gluten-free rice pasta*. *LWT - Food Science and Technology*. 2012; 47(2): 421-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.040>
53. Gularte MA, de la Hera E, Gómez M, Rosell CM. *Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties*. *LWT - Food Science and Technology*. 2012; 48(2): 209-14.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.03.015>
54. Gularte MA, Gómez M, Rosell CM. *Impact of Legume Flours on Quality and In Vitro Digestibility of Starch and Protein from Gluten-Free Cakes*. *Food and Bioprocess Technology*. 2012; 5(8): 3142-50.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0642-3>
55. Capriles VD, Areas JAG. *Amaranth bars enriched with fructans: acceptability and nutritional value*. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*. 2010; 60(3): 291-7.
56. Lee AR, Ng DL, Dave E, Ciaccio EJ, Green PHR. *The effect of substituting alternative grains in the diet on the nutritional profile of the gluten-free diet*. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2009; 22(4): 359-63.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2009.00970.x>
PMid:19519750
57. Renzetti S, Dal Bello F, Arendt EK. *Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase*. *Journal of Cereal Science*. 2008; 48(1): 33-45.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.011>
58. Onyango C, Mutungi C, Unbehend G, Lindhauer MG. *Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch*. *Lwt-Food Science and Technology*. 2011; 44(3): 681-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.006>

59. Onyango C, Mutungi C, Unbehend G, Lindhauer MG. *Rheological and textural properties of sorghum-based formulations modified with variable amounts of native or pregelatinised cassava starch*. *Lwt-Food Science and Technology*. 2011; 44(3): 687-93.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.019>
60. Smith BM, Bean SR, Herald TJ, Aramouni FM. *Effect of HPMC on the Quality of Wheat-Free Bread Made from Carob Germ Flour-Starch Mixtures*. *Journal of Food Science*. 2012; 77(6): C684-C9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02739.x>
PMid:22671523
61. Moreira R, Chenlo F, Torres MD. *Rheology of Gluten-Free Doughs from Blends of Chestnut and Rice Flours*. *Food and Bioprocess Technology*. 2013; 6(6): 1476-85.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0927-1>
62. Moreira R, Chenlo F, Torres MD, Prieto DM. *Technological Assessment of Chestnut Flour Doughs Regarding to Doughs from Other Commercial Flours and Formulations*. *Food and Bioprocess Technology*. 2012; 5(6): 2301-10.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0524-8>
63. Demirkesen I, Sumnu G, Sahin S. *Quality of Gluten-Free Bread Formulations Baked in Different Ovens*. *Food and Bioprocess Technology*. 2013; 6(3): 746-53.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0712-6>
64. Gambus H, Gambus F, Pastuszka D, Wrona P, Ziobro R, Sabat R et al. *Quality of gluten-free supplemented cakes and biscuits*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009; 60: 31-50.
<http://dx.doi.org/10.1080/09637480802375523>
PMid:19330630
65. Pastuszka D, Gambus H, Sikora M. *Nutritional and dietary value of gluten-free rolls with flaxseeds added*. *Zywnosc-Nauka Technologia Jakosc*. 2012; 19(3): 155-67.
<http://dx.doi.org/10.15193/zntj/2012/82/155-167>
66. Levent H, Bilgicli N. *Enrichment of gluten-free cakes with lupin (*Lupinus albus L.*) or buckwheat (*Fagopyrum esculentum M.*) flours*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2011; 62(7): 725-8.
<http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2011.572546>
PMid:21568822
67. De Gouveia PF, Zandonadi RP. *Green banana: new alternative for gluten-free products*. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2013; 24(3): 49-52.
68. Zandonadi RP, Botelho RBA, Gandolfi L, Ginani JS, Montenegro FM, Pratesi R. *Green Banana Pasta: An Alternative for Gluten-Free Diets*. *J Acad Nutri Diet*. 2012;112(7):1068-72.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2012.04.002>
PMid:22889636

69. Souza TAC, Soares MS, Campos MRH, Souza TSC, Dias T, Fiorda FA. *Gluten free cakes made with broken rice and cassava peel*. *Semina-Ciencias Agrarias*. 2013; 34(2): 717-27.
<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p717>
70. Han J, Janz JAM, Gerlat M. *Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions*. *Food Research International*. 2010; 43(2): 627-33.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.015>
71. Borderias AJ, Sanchez-Alonso I, Perez-Mateos M. *New applications of fibres in foods: Addition to fishery products*. *Trends in Food Science & Technology*. 2005; 16(10): 458-65.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.011>
72. Sabanis D, Lebesi D, Tzia C. *Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread*. *Lwt-Food Science and Technology*. 2009; 42(8): 1380-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.010>
73. Fiorda FA, Soares MS, da Silva FA, Grosmann MVE, Souto LRF. *Microstructure, texture and colour of gluten-free pasta made with amaranth flour, cassava starch and cassava bagasse*. *Lwt-Food Science and Technology*. 2013; 54(1): 132-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.020>
74. do Nascimento AB, Fiates GMR, dos Anjos A, Teixeira E. *Analysis of ingredient lists of commercially available gluten-free and gluten-containing food products using the text mining technique*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2013; 64(2): 217-22.
<http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2012.718744>
PMid:22946669
75. Suliburska J, Krejpcio Z, Regula J, Grochowicz A. *Evaluation of the content and the potential bioavailability of minerals from gluten-free products*. *Acta Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria*. 2013; 12(1): 75-9.
76. Krupa-Kozak U, Altamirano-Fortoul R, Wronkowska M, Rosell CM. *Breadmaking performance and technological characteristic of gluten-free bread with inulin supplemented with calcium salts*. *European Food Research and Technology*. 2012; 235(3): 545-54.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1782-z>
77. Kiskini A, Mandala I, Argiri K, Kapsokefalou M, Komaitis M, Kostaropoulos A. *Iron-fortified gluten-free products. Functional and nutritional characteristics*. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2007; 51: 299.
78. Krupa-Kozak U, Wronkowska M, Soral-Śmietana M. *Effect of buckwheat flour on microelements and proteins contents in gluten-free bread*. *Czech Journal of Food Sciences*. 2011; 29(2): 103-8.
79. Bituh M, Zizic V, Krbavcic IP, Zadro Z, Baric IC. *Gluten-Free Products Are Insufficient Source of Folate and Vitamin B(12) for Coeliac Patients*. *Food Technology and Biotechnology*. 2011; 49(4): 511-6.

80. Berti C, Riso P, Monti LD, Porrini M. *In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts*. European Journal of Nutrition. 2004; 43(4): 198-204.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00394-004-0459-1>
PMid:15309439
81. Novotni D, Cukelj N, Smerdel B, Bituh M, Dujmic F, Curic D. *Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough*. Journal of Cereal Science. 2012; 55(2): 120-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2011.10.008>
82. Hager AS, Czerny M, Bez J, Zannini E, Arendt EK. *Starch properties, in vitro digestibility and sensory evaluation of fresh egg pasta produced from oat, teff and wheat flour*. Journal of Cereal Science. 2013; 58(1): 156-63.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.03.004>
83. Capriles VD, Areas JAG. *Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure, quality, sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads*. Food & Function. 2013; 4(1): 104-10.
<http://dx.doi.org/10.1039/C2FO10283H>
PMid:23032642
84. De La Hera E, Gomez M, Rosell CM. *Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties*. Carbohydrate Polymers. 2013; 98(1): 421-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.002>
PMid:23987363
85. de la Hera E, Rosell CM, Gomez M. *Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility*. Food Chemistry. 2014; 151: 526-31.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.115>
PMid:24423566
86. Gobbetti M, Rizzello CG, Di Cagno R, De Angelis M. *How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods*. Food microbiology. 2014; 37: 30-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012>
PMid:24230470
87. Poutanen K, Flander L, Katina K. *Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective*. Food microbiology. 2009; 26(7): 693-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.011>
PMid:19747602
88. Moroni AV, Dal Bello F, Arendt EK. *Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue?* Food microbiology. 2009; 26(7): 676-84.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.001>
PMid:19747600

89. Zannini E, Pontonio E, Waters DM, Arendt EK. *Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives*. Applied microbiology and biotechnology. 2012; 93(2): 473-85.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3707-3>
PMid:22094979
90. Dallagnol AM, Pescuma M, De Valdez GF, Rollan G. *Fermentation of quinoa and wheat slurries by Lactobacillus plantarum CRL 778: proteolytic activity*. Applied microbiology and biotechnology. 2013; 97(7): 3129-40.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4520-3>
PMid:23129182
91. Omary MB, Fong C, Rothschild J, Finney P. *Effects of Germination on the Nutritional Profile of Gluten-Free Cereals and Pseudocereals: A Review*. Cereal Chemistry. 2012; 89(1): 1-14.
<http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-01-11-0008>
92. Makinen OE, Zannini E, Arendt EK. *Germination of Oat and Quinoa and Evaluation of the Malts as Gluten Free Baking Ingredients*. Plant Foods for Human Nutrition. 2013; 68(1): 90-5.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-013-0335-3>
PMid:23386201
93. Wieser H, Koehler P. *Detoxification of Gluten by Means of Enzymatic Treatment*. Journal of Aoac International. 2012; 95(2): 356-63.
http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Wieser
PMid:22649919
94. Comino I, Moreno ML, Real A, Rodríguez-Herrera A, Barro F, Sousa C. *The gluten-free diet: Testing alternative cereals tolerated by celiac patients*. Nutrients. 2013; 5(10): 4250-68.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu5104250>
PMid:24152755 PMCID:PMC3820072
95. Curiel JA, Coda R, Limitone A, Katina K, Raulio M, Giuliani G et al. *Manufacture and characterization of pasta made with wheat flour rendered gluten-free using fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria*. Journal of Cereal Science. 2014; 59(1): 79-87.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.09.011>
96. Freitag TL, Loponen J, Messing M, Zevallos V, Andersson LC, Sontag-Strohm T et al. *Testing safety of germinated rye sourdough in a celiac disease model based on the adoptive transfer of prolamina-primed memory T cells into lymphopenic mice*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2014; 306(6): G526-G34.

