

## Capítulo 7

### Inmunopatogenia de la enfermedad celíaca

E. Arranz<sup>1</sup>, E. Montalvillo<sup>1</sup>, J.A. Garrote<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de las mucosas, IBGM, Universidad de Valladolid-CSIC. Valladolid, España.

<sup>2</sup>Laboratorio de Genética y Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid, España.

[earranz@med.uva.es](mailto:earranz@med.uva.es), [jagarrote@saludcastillayleon.es](mailto:jagarrote@saludcastillayleon.es), [enalmonn@hotmail.com](mailto:enalmonn@hotmail.com)

Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.22>

#### Referenciar este capítulo

Arranz E, Montalvillo E, Garrote JA. *Inmunopatogenia de la enfermedad celíaca*. En Rodrigo L y Peña AS, editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. Barcelona, España: OmniaScience; 2012. p. 123-149.

## Resumen

La enfermedad celíaca es un trastorno inflamatorio crónico del intestino delgado mediado por el sistema inmune que afecta a individuos genéticamente susceptibles tras la ingestión de prolaminas de trigo y otros cereales. La interacción de factores genéticos y ambientales lleva a la pérdida de tolerancia al gluten y al desarrollo de una lesión intestinal, con repercusión clínica y funcional variable, que se caracteriza por aumento de linfocitos en el epitelio y lámina propia, pérdida de vellosidades, apoptosis de enterocitos y remodelación de la mucosa, y la presencia de anticuerpos anti-transglutaminasa. El modelo patogénico más aceptado incluye alteraciones de la digestión y al transporte transepitelial del gluten, y se centra en los mecanismos de la inmunidad adaptativa dependientes de la estimulación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> reactivos que reconocen péptidos de gluten deamidados por el enzima transglutaminasa tisular (TG2) junto a moléculas HLA-DQ2/DQ8, y la producción de citocinas pro-inflamatorias, en especial IFN $\gamma$ . El gluten tiene además un efecto *tóxico* directo sobre el epitelio, dependiente de la inmunidad innata y cuyo principal mediador es la IL-15, que se manifiesta por la expresión de moléculas de estrés en los enterocitos, y la activación de la función citotóxica de los linfocitos intraepiteliales. La interacción de IL-15 con su receptor, expresado en el epitelio, puede ser relevante en la inducción de la inmunidad adaptativa. Se necesita aún clarificar algunos aspectos, como el paso de péptidos hasta la lámina propia, la activación de la TG2, o los mecanismos que regulan la activación de la IL-15, entre otros.

## Abstract

Celiac disease is a chronic inflammatory process of the small intestine mediated by the immune system which affects to generically susceptible individuals following the ingestion of prolamins from wheat and other cereals. The interaction between genetic and environmental factors determines the loss of tolerance to gluten and the development of the intestinal lesion, with a variable clinical and functional repercussion, characterized by an increased number of lymphocytes within the epithelium and the lamina propria, enterocyte apoptosis, the transformation of the mucosa, and the presence of anti-transglutaminase antibodies. The most accepted model of pathogenesis of Celiac disease includes changes in the digestion and transepithelial transport of gluten, and it is focussed in the mechanisms of adaptive immunity triggered by the stimulation of CD4<sup>+</sup> T cells after recognition of gluten peptides deaminated by the enzyme tissue transglutaminase (tTG) in the context of HLA-DQ2/DQ8 molecules, and the production of proinflammatory cytokines, specially IFN $\gamma$ . Furthermore, gluten has also a direct *toxic* effect on the epithelium, which depends on the innate immunity with IL15 as the central mediator, and manifested by the epithelial expression of stress molecules and the activation of cytotoxic functions by intraepithelial lymphocytes. The interaction between IL15 and its receptor, expressed by epithelial cells, may be also relevant for the induction of adaptive immunity to gluten. Further clarification is needed on several issues, like the passage of gluten into the lamina propria, the activation of free tTG, or the mechanisms regulating the activity of IL15, among others.

## 1. Introducción

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enfermedad inflamatoria crónica del intestino delgado debida a una respuesta inmunológica inadecuada frente al gluten de trigo y proteínas relacionadas de otros cereales<sup>1-3</sup> que afecta a individuos genéticamente predispuestos en cualquier época de la vida. Es un trastorno frecuente con una prevalencia estimada cercana al 1% en la mayoría de las poblaciones estudiadas<sup>3-5</sup>, aunque sólo 1 de cada 7-10 casos ha sido diagnosticado<sup>6</sup>. La interacción desfavorable entre genes de predisposición y factores ambientales desencadena esta respuesta frente al gluten en la mucosa intestinal que incluye un componente innato, responsable de la lesión epitelial, y otro adaptativo mediado por linfocitos T CD4+ específicos de la lámina propia, y determinan la remodelación mucosa. Junto a la pérdida de la tolerancia oral al gluten, se han identificado también alteraciones que afectan a la digestión intraluminal<sup>7,8</sup>, a la acción directa de los péptidos de gluten sobre el epitelio, y al transporte transepitelial a la lámina propia mucosa<sup>9,10</sup>.

La activación de linfocitos T CD4+ de la lámina propia mucosa tras el reconocimiento de péptidos de gliadinas modificados por la enzima transglutaminasa 2 (TG2), en el contexto de las moléculas HLA-DQ2/DQ8, desencadena una respuesta inflamatoria dominada por citocinas de perfil Th1, en el que predomina el IFN $\gamma$ , y otras citocinas proinflamatorias (TNF $\alpha$ , IL-15 e IL-18), pero con ausencia de IL-12, y un descenso proporcional de la expresión de citocinas inmunorreguladoras como IL-10 y TGF $\beta$ <sup>11-14</sup>. Como consecuencia, se produce una lesión de la mucosa del intestino delgado que afecta a la absorción y utilización de nutrientes y cuya repercusión clínica y funcional varía según el grado de atrofia o remodelación mucosa (Figura 1).

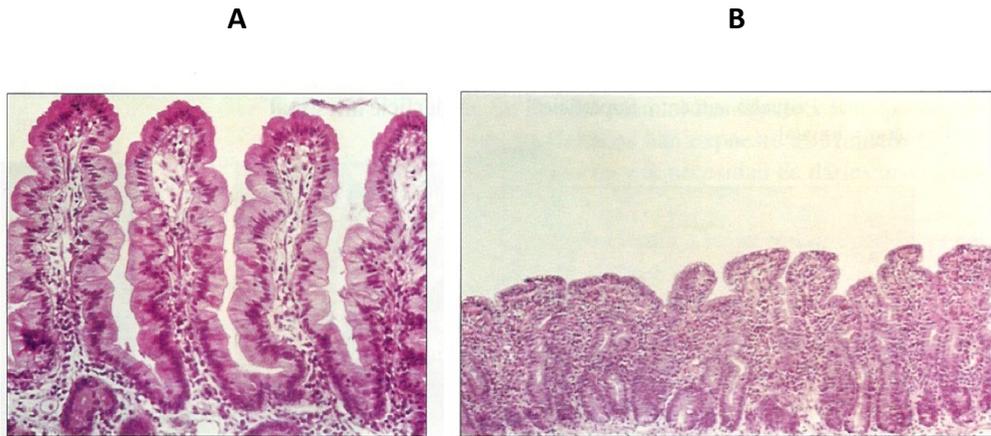


Figura 1. Mucosa duodenal de un paciente control no-EC (A) y de un paciente con enfermedad celíaca al diagnóstico (B) donde se muestra la lesión con atrofia vellositaria e hiperplasia de las criptas al microscopio óptico.

En la EC, la lesión característica del intestino delgado puede reconocerse en varias fases interrelacionadas, descritas por Marsh<sup>15</sup>. La lesión de Tipo 0, preinfiltrativa, se caracteriza por una mucosa de morfología normal, aunque la inmunidad humoral local está alterada; Tipo I, o lesión infiltrativa, muestra una arquitectura mucosa normal, pero el número de LIE está aumentado (>25/100 enterocitos); Tipo II, lesión hiperplásica, se caracteriza por criptas

alargadas o hiperplásicas, y se mantiene la altura de las vellosidades y la infiltración de LIE; Tipo III, lesión destructiva, puede ser parcial (3a), subtotal (3b) o total (3c); es la lesión típica diagnóstica, con pérdida de vellosidades y reorganización tisular; y Tipo IV, lesión hipoplásica, es una verdadera lesión atrófica, con formación de depósitos de colágeno, observada en un pequeño grupo de pacientes que no responden a la dieta sin gluten (EC Refractaria)<sup>16</sup>.

La sensibilización al gluten y la activación de una respuesta específica frente a estas proteínas en la mucosa intestinal, es un rasgo invariable de la EC; sin embargo, el factor precipitante puede ser otro y sería responsable de la expresión completa de la lesión mucosa, por ejemplo, en la forma de una lesión destructiva con pérdida de vellosidades intestinales. Según la hipótesis planteada hace años por Anne Ferguson<sup>17</sup>, factores candidatos pueden ser un aumento de la permeabilidad intestinal, defectos nutricionales, un aumento de la cantidad de gluten en la dieta, alteraciones o defectos de la digestión intraluminal del gluten ingerido, efectos adyuvantes de una infección gastrointestinal, o algún gen no asociado al HLA, todavía por identificar.

## 2. Teorías patogénicas de la enfermedad celíaca

La teoría metabólica consideraba que la EC era consecuencia de un defecto enzimático o de cualquier otro mecanismo que, en última instancia, implicaba una digestión incompleta del gluten, o de las gliadinas de trigo. Entre los estudios realizados para confirmar esta hipótesis, cabe señalar el que confirmó que los homogeneizados de la mucosa del intestino delgado de los pacientes celíacos no tratados, eran menos eficientes a la hora de degradar el producto de la digestión de gliadina con pepsina y-tripsina (PT), comparado con los homogenizados de los pacientes no celíacos. Estos resultados llevaron a proponer que la digestión incompleta de la gliadina, era la desencadenante de la respuesta inmunológica, mediante la llamada “hipótesis de la peptidasa perdida” o “hipótesis metabólica”<sup>18</sup>.

Esta hipótesis basada en una digestión incompleta de las proteínas del gluten en la mucosa intestinal de los pacientes celíacos, fue confirmada posteriormente utilizando digestiones PT tanto de alfa, beta, como gamma-gliadinas, además de otros muchos péptidos inmunodominantes<sup>19</sup>. Llama la atención, que en ninguno de estos estudios, se encontraban diferencias cualitativas en los péptidos generados entre la mucosa de pacientes celíacos y no-celíacos, y la única diferencia parecía estar en la cantidad, ya que en ambos casos se generaban los mismos péptidos, aunque en diferentes cantidades. En otros estudio no se observaron diferencias<sup>20</sup>, sino que por el contrario, los enzimas del borde en cepillo de los enterocitos de los pacientes celíacos, hidrolizaban PT-gliadina con la misma efectividad que los de los no-celíacos.

En la actualidad, la hipótesis enzimática, considerada como un posible factor contribuyente en la inmunopatogenia de la EC ha quedado prácticamente olvidada, debido a una mejor caracterización molecular de la fisiopatología de esta enfermedad, que ha permitido desentrañar gran parte de los mecanismos inmunológicos, implicados en el desarrollo de la lesión del intestino delgado, así como al descubrimiento del haplotipo HLA-DQ2/DQ8 como un factor clave en la predisposición genética.

### 3. Teoría inmunológica como explicación de la enfermedad celíaca

#### 3.1 Inmunidad frente a los antígenos de la dieta. Tolerancia oral

En condiciones normales, la respuesta frente a las proteínas de la dieta es de tolerancia oral, que se define como la falta de respuesta inmunológica sistémica frente a determinados antígenos ingeridos, tras su administración posterior por vía sistémica<sup>21</sup>. Sin embargo, en la EC hay una pérdida de tolerancia frente al gluten y proteínas similares. La capacidad del sistema inmunológico del tracto digestivo para distinguir entre antígenos de la dieta y microorganismos patógenos podría explicarse porque éstos proporcionan un estímulo persistente, asocian otras señales de peligro, o invaden tejidos linfoides alejados de la mucosa. Se han descrito varios mecanismos responsables de la tolerancia oral: delección (apoptosis), anergia clonal (inactivación funcional de las células efectoras), e inducción de linfocitos T reguladores, que actúan mediante citocinas (TGF $\beta$  o IL-10)<sup>22,23</sup>.

La regulación de la respuesta frente a antígenos de la dieta, está determinada por la forma en la que los linfocitos T reconocen estos antígenos, el tipo y estado funcional de las células presentadoras de antígeno (CPA), como las células dendríticas (CDs). Datos de modelos animales y observaciones en humanos, han llevado a explicar la tolerancia oral, como el resultado de las condiciones inmunorreguladoras del intestino, que llevarían a la diferenciación de células T reguladoras (Treg)<sup>24,25</sup>, y de otras células de función homeostática, como las células T $\gamma\delta$ + y células NKT invariantes (iNKT). Otra posibilidad es que el intestino normal pueda responder con un perfil Th1, dominado por IFN $\gamma$ , incluso frente a antígenos de la dieta, que sería el resultado de un balance entre diferentes factores (integridad del epitelio, desarrollo de células T, inmunorregulación, etc.) La diferenciación Th1 no asociaría lesión tisular, debido al control de los linfocitos efectoras por CPA inmaduras, que tienen una vida media corta, y a la supresión inducida por células T reguladoras<sup>25</sup>.

Las Células Dendríticas (CDs) son las principales CPA, especialmente para las células T vírgenes, y tienen un papel clave en los fenómenos de homeostasis intestinal<sup>26-28</sup>, además de servir de nexo entre la respuesta inmunológica innata y adaptativa<sup>29,30</sup>. En ausencia de otras señales coestimuladoras, la presentación de antígenos por estas células favorece la inducción de tolerancia oral, al mostrar un descenso de su capacidad estimuladora y/o promover la diferenciación de células T reguladoras<sup>31</sup>, caracterizadas por el fenotipo CD4+CD25high<sup>24,32</sup>, y por el factor de transcripción FoxP3, clave en el desarrollo y maduración funcional de estas células<sup>33</sup>. Sin embargo, estudios recientes sugieren que aunque FoxP3 es un factor de transcripción ligado al fenotipo regulador, no es exclusivo de un único tipo celular y no sería el mejor marcador para identificar las células T de función reguladora<sup>34</sup>. Las CDs parecen tener también un papel importante en la inmunopatogénesis de la EC, debido a su capacidad de madurar en respuesta a señales de peligro, derivadas de la inmunidad innata, y favorecer la inducción de respuestas de la inmunidad adaptativa<sup>22,35</sup>.

Las células T reguladoras (Treg) son las principales células homeostáticas del sistema inmunológico, con un papel central en el control de la inflamación local. Estas células realizan su función al bloquear la expansión clonal de los linfocitos T, tanto CD4+ como CD8+, además de inhibir la producción de IL-2. Mediante la producción de citocinas moduladoras como IL-10 y TGF $\beta$ , las células Treg pueden modular la inflamación local al inhibir las respuestas Th1 y la producción de IFN $\gamma$ , a través de la cooperación con las células B en la síntesis de IgA<sup>36,37</sup>. Otras células implicadas en la homeostasis intestinal, son las células CD4+ Th3, que realizan su función a través de la producción de TGF $\beta$ <sup>38</sup>. Recientemente, se ha determinado que esta población

celular, depende en algún momento, de la presencia de FoxP3, por lo que se ha sugerido que las células Th3 y Treg podrían ser la misma población celular<sup>38</sup>.

Existe otra población CD4+ que no expresa el factor de transcripción FoxP3, ni la molécula CD25 en superficie y que tienen una función central en el control de la respuesta inflamatoria frente a los antígenos de la dieta<sup>39</sup>, como son los linfocitos Tr1, principales productores de la IL10 en el intestino. Bajo ciertas condiciones, los linfocitos Th1, Th2 o Th17, pueden convertirse en productores de IL10, por lo que las células Tr1 no serían más que linfocitos CD4+ estimulados de forma crónica, para la reducción de la producción de citocinas pro-inflamatorias y el mantenimiento de los niveles de IL10<sup>40</sup>. Dentro del intestino, la actividad de estas células no-Treg es más importante que la de las Treg en la tolerancia oral, ya que su número es mucho mayor que el representado por las células CD4+CD25+FoxP3+.

Además de las células Treg, hay otras células que pueden intervenir en el mantenimiento y regulación de la homeostasis intestinal y la tolerancia oral, son los linfocitos intraepiteliales (IEL)  $\gamma\delta$ +, que contribuyen significativamente a la población de células TCR+ circulantes<sup>41</sup>, y su número se encuentra aumentado en el intestino de los pacientes con EC<sup>42</sup>. Tras su interacción con el antígeno vía TCR, las células  $\gamma\delta$ + expresan de forma rápida y transitoria el receptor CCR7, que permite su migración a los nódulos linfáticos donde podrían actuar como CPA e inducir la diferenciación de células Treg específicas<sup>43</sup>.

Las células NKT invariantes (iNKT) muestran marcadores de células NK, como CD161 (NK1.1), y un TCR invariante  $V\alpha 24\beta 11$  que reconoce antígenos junto a moléculas CD1d (MHC-1), muy expresado en el epitelio intestinal<sup>44</sup>, y representan el 0,5-20% del total celular<sup>45,46</sup>. En el epitelio, además, se ha descrito una población CD3- con fenotipo NK-like, que disminuye drásticamente en los pacientes con EC<sup>47,48</sup>. Las células iNKT activadas tienen un carácter dual, la subpoblación iNKT CD4-CD8- produce citocinas de perfil Th1 (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), mientras que las células iNKTs CD4+ sintetizan citocinas tanto Th1 como Th2 (IL-4, IL-13)<sup>32,49,50</sup>. La adquisición de un perfil Th1 o Th2, depende de la fuerza de interacción entre el antígeno y la molécula CD1d, las citocinas predominantes en el microambiente local y otras señales co-estimuladoras<sup>45</sup>. Esta capacidad para producir de forma rápida grandes cantidades de citocinas Th1/Th2, confiere a las células iNKT un papel relevante en la tolerancia oral, al poder modular la maduración de las CDs hacia la vía tolerogénica, que interviene en la diferenciación de células Treg (IL-10 y TGF $\beta$ )<sup>44,51</sup>, además de inducir la depleción clonal de células T específicas de antígeno<sup>32</sup>.

El origen de las células inmunológicas presentes en la mucosa duodenal no está aclarado del todo. En condiciones fisiológicas, durante su activación, los linfocitos adquieren propiedades para la recirculación que dependen de la expresión de moléculas de adhesión y receptores para quimiocinas que dirigen su migración a tejidos y microambientes específicos<sup>52,53</sup>. Los linfocitos activados en el tejido linfoide intestinal tienden a volver al intestino. Esta migración selectiva está dirigida por la integrina  $\alpha 4\beta 7$ , cuyo ligando es la adhesina mucosal (MadCAM-1) de las vénulas de endotelio alto, placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos del intestino<sup>53</sup>. El receptor de quimiocinas CCR9 interviene en el reclutamiento de células T efectoras al intestino vía interacción con su ligando CCL25 (TECK), expresada selectivamente en parte del intestino<sup>54</sup>. Por el contrario, los ligandos de carbohidrato de selectinas P y E, son conocidos colectivamente como antígenos leucocitarios humanos (CLA)<sup>55</sup>. Otros receptores de quimiocinas como CCR4, CCR8 y CCR10 han sido implicados también en la migración selectiva a la piel<sup>55,56</sup>.

Por tanto, en enfermedades donde se conoce la implicación patogénica de una respuesta inmunológica mediada por linfocitos específicos de antígeno, como es el caso de la EC<sup>2, 57</sup>, cabe esperar que el perfil de marcadores de migración selectiva de las poblaciones celulares

circulantes en los pacientes celíacos esté aumentado. Sin embargo, hay poca información disponible sobre la expresión de estos marcadores celulares no solo en los pacientes con EC, sino también en la población general. Resultados preliminares<sup>31,58</sup>, en voluntarios adultos sanos sin enfermedades autoinmunes o malignas conocidas, sugieren que las CDs circulantes en sangre son doble positivas para los marcadores de migración a intestino y piel, mientras que los monocitos circulantes expresan preferentemente marcadores de intestino y los linfocitos T, expresan marcadores de intestino o de piel. Sin embargo, falta por confirmar esta información en el caso de los pacientes con EC.

### **3.2. El modelo patogénico de las 2 señales**

En la actualidad, la teoría inmunológica es la que mejor explica la patogenia de la EC. Tradicionalmente, se consideraba que lo ocurrido en la lámina propia mucosa, en el contexto de una respuesta mediada por linfocitos T CD4+, con restricción HLA-DQ2/8, y liberación de IFN $\gamma$ , era fundamental en el desarrollo de la enteropatía. Recientemente, se ha observado que la inmunidad innata, que actúa principalmente en el compartimento intraepitelial, es también determinante en la respuesta inmunológica frente al gluten. El modelo inmunopatogénico más aceptado establece que el gluten tiene un efecto doble mediado por la inmunidad innata (efecto tóxico directo del gluten sobre el epitelio) y la inmunidad adaptativa o específica (a través de los linfocitos T CD4+ de la lámina propia o tejido subyacente)<sup>59</sup>.

Este modelo inmunopatogénico integra varios elementos necesarios en la mucosa del intestino delgado<sup>1, 60, 61</sup>, como la presencia de péptidos de gluten (tóxicos e inmunogénicos), el efecto de alguno de estos péptidos sobre el epitelio, la actividad del enzima TG2, la presencia de CPA que expresan moléculas HLA-DQ, y de linfocitos T CD4+ reactivos al gluten. Los péptidos tóxicos, no reconocidos por las células T, tienen un efecto rápido e inespecífico sobre el epitelio, mientras que la respuesta a los péptidos inmunogénicos es más tardía, después de atravesar el epitelio para llegar a la lámina propia mucosa donde sufren deamidación por la TG2 para unirse con alta afinidad a las moléculas HLA-DQ2 o DQ8. Los linfocitos T específicos de gluten reconocen estos epítopos T modificados en el contexto de moléculas DQ2 o DQ8 de membrana en CPA locales, como las CDs. Estas respuestas inmunológicas (innata y adaptativa) desencadenan distintos mecanismos de lesión, con citotoxicidad epitelial, y reestructuración de la matriz extracelular (la denominada transformación mucosa).

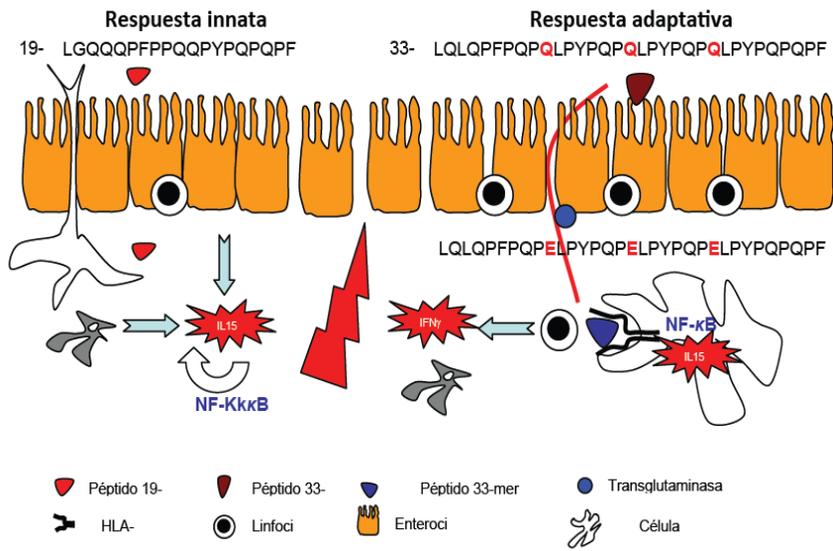
El gluten de trigo contiene 2 familias de proteínas, gliadinas y gluteninas (insoluble en alcohol), con fragmentos lesivos para los enfermos con EC, y que se encuentran también en las proteínas del centeno (secalinas), cebada (hordeinas), y avena (aveninas). Las proteínas de la gliadina pueden subdividirse en  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas, y en subunidades de alto peso molecular (HMW, siglas en inglés), peso molecular medio (MMW) y bajo peso molecular (LMW) para las gluteninas<sup>62</sup>. Todas estas proteínas reciben el nombre genérico de prolaminas por compartir una secuencia de aminoácidos muy similar y un alto contenido de los aminoácidos hidrofóbicos glutamina y prolina<sup>63,64</sup>. Los péptidos denominados tóxicos inducen daño intestinal en cultivo de biopsias de duodeno<sup>65</sup>, o tras ser administrados in vivo sobre el intestino proximal o distal<sup>66</sup>; y los inmunogénicos, estimulan líneas celulares T, con restricción DQ2/DQ8, obtenidas del intestino o sangre periférica de pacientes con EC<sup>67</sup>.

### **3.3. Respuesta innata frente al gluten**

Algunos fragmentos del gluten, como p31-49 o 31-43 de la  $\alpha$ -gliadina, inducen una respuesta inmunológica inmediata de tipo innato, no relacionada con los linfocitos T, ni con la presentación

antigénica dependiente de moléculas HLA-DQ2/8, aunque los mecanismos aún no están completamente dilucidados<sup>68</sup>. En un modelo de cultivo ex vivo de biopsia de pacientes con EC, se ha observado que la respuesta inmediata inducida por el péptido 31-49 se asocia a la expresión de IL-15, ciclooxygenasa (COX-2) y los marcadores de activación CD25 y CD83 por células mononucleares de la lámina propia<sup>69</sup>. Además, se desencadena estrés oxidativo mediado por la formación de óxido nítrico, que proviene principalmente de la inducción de iNOS en los enterocitos<sup>70,71</sup>, y que induce a su vez la expresión en estas células de ligandos como MICA<sup>72</sup>. La gliadina es capaz también de debilitar las uniones de tipo tight-junctions localizadas entre las células del epitelio intestinal<sup>9</sup>.

Los Linfocitos Intraepiteliales (LIEs) se localizan en la zona basolateral de las células epiteliales y desempeñan un papel importante en la vigilancia inmunológica del epitelio intestinal. La población de LIEs en el intestino delgado es una mezcla de células T TCR $\alpha\beta$ +, células TCR $\gamma\delta$ + T, y



*Figura 2. El gluten tiene un efecto dual en la mucosa del intestino delgado. Péptidos tóxicos, como el 19-mer, inducen una respuesta inmunológica innata inespecífica caracterizada por la presencia de IL-15, producida por los enterocitos. La IL-15 activa a su vez al factor de transcripción NF- $\kappa$ B en las células adyacentes, que aumenta la producción de IL-15, y la inducción de iNOS, responsables de una situación de estrés oxidativo, y de la retroalimentación de la respuesta innata. La expresión de moléculas como MICA y/o HLA-E está aumentada en los enterocitos y la IL-15 desencadena fenómenos de citotoxicidad (apoptosis) sobre estas células, al inducir la expresión de moléculas NKG2D y NKG2C (ligandos de MICA y HLA-E respectivamente) en los linfocitos intraepiteliales. Finalmente, la IL-15 puede debilitar las uniones tight-junctions entre los enterocitos. La respuesta adaptativa se ve facilitada por el aumento de la permeabilidad intestinal que permite el paso de péptidos inmunogénicos como el 33-mer hasta la lámina propia, donde son deaminados por la enzima transglutaminasa tisular (TG2). Además, la IL-15 activa a las células dendríticas, que aumenta la expresión en superficie de moléculas co-estimuladora, necesarias para una presentación antigénica eficaz y restringida por HLA-DQ2/8, a los linfocitos T. Estos linfocitos desencadenan una respuesta Th1, con predominio de IFN $\gamma$  y ausencia de IL-10, y la liberación por células del estroma, de factores de crecimiento keratinocítico y metaloproteasas. El perfil Th1 de citocinas es responsable de la lesión, caracterizada por linfocitosis intraepitelial, hiperplasia de las criptas y aplanamiento de las vellosidades, pero también puede atraer nuevas células pro-inflamatorias a la lámina propia.*

células NK, aunque gran parte de ellos son linfocitos TCR $\alpha\beta$ +CD8+ T<sup>2</sup>. Además, la mayoría de los LIEs TCR+ expresan diversos receptores de tipo NK que son distintos de los expresados por las células T circulantes en sangre periférica<sup>73</sup>. Estos receptores NK actúan no sólo como moléculas coestimuladoras, sino también como activadores de linfocitos T en situaciones de estrés<sup>74</sup>. En la EC activa, el número de LIEs CD8+ TCR $\alpha\beta$ + and TCR $\gamma\delta$ + está muy elevado. No está claro si esta situación depende de cambios en la homeostasis del epitelio o es una consecuencia del entorno proinflamatorio creado por la respuesta mediada por los linfocitos T CD4+ de la lámina propia mucosa.

El principal mecanismo que desencadena la respuesta innata depende de la liberación de IL-15 por los enterocitos<sup>75</sup>. En la EC, se observa expresión de IL-15 tanto en los enterocitos del epitelio superficial como en las células mononucleares de la lámina propia mucosa<sup>76,77</sup>. La IL-15 favorece la supervivencia, activación y proliferación de los LIEs, con independencia de la interacción vía TCR, además de controlar la expansión clonal de los LIE TCR $\gamma\delta$  y de células con receptores NKG2D<sup>78,79</sup>, cuyos ligandos son las moléculas MICA (MHC-I-no clásica) expresadas por los enterocitos<sup>76,77,80</sup>. Además, la IL-15 favorece una reprogramación tipo NK de los LIE al activar las cascadas de señalización intracelular de perforinas/granzimas y de Fas/FasL que contribuyen a desencadenar la inflamación y la citotoxicidad sobre los enterocitos<sup>75,78,81</sup>. La IL-15 favorece la retroalimentación de la respuesta inmunológica al inducir la secreción de mediadores de inflamación no específicos, como ácido araquidónico y leucotrienos, por los LIE. También induce la formación del enzima Óxido Nítrico Sintasa inducible (iNOS)<sup>67, 71</sup> por células del estroma de la lámina propia, mediante un mecanismo dependiente del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, que favorece la presencia de especies reactivas del oxígeno y el estrés oxidativo. Finalmente, IL-15 contribuye a debilitar las uniones tight-junctions<sup>9</sup>, con el aumento de la permeabilidad intestinal y el paso del gluten a la lámina propia mucosa. En la inmunopatogenia de la EC, la IL-15 actúa como mediador de la respuesta innata y la lesión epitelial, además de promover la supervivencia de los linfocitos T específicos y el mantenimiento de la respuesta inflamatoria<sup>82</sup> (Figura 2).

En la EC Refractaria (ECR), la supervivencia, expansión y adquisición del fenotipo NK por parte de los LIEs es mucho más pronunciada que en la EC clásica, posiblemente como resultado de la presencia de grandes cantidades de IL-15. En la ECR de tipo II, los pacientes presentan una población clonal aberrante de LIEs que pierden la expresión en superficie del TCR CD3. En estudios que utilizan líneas de LIEs aberrantes de pacientes con ECR tipo II, se ha observado que bajo estimulación con IL-15, estas células expresan granzima B y son capaces de lisar la línea celular epitelial HT29, lo que sugiere un papel de los LIEs aberrantes en el daño epitelial continuo presente en la ECR II<sup>83</sup>. Por lo tanto, la transformación NK que sufren los LIEs vía IL-15 es un paso esencial en la inmunopatogenia de la ECR.

La gliadina podría tener un efecto tóxico directo sobre el intestino y la inducción de una respuesta de la inmunidad innata en el duodeno dependiente de gliadina no sería exclusiva de los pacientes con EC. En líneas celulares Caco-2, la estimulación con gliadina induce un aumento de la apoptosis y la permeabilidad transepitelial<sup>84</sup>. Se ha descrito que la gliadina induce la maduración de CDs en el ratón, además de la liberación de quimiocinas<sup>85</sup>. En líneas celulares de enterocitos, la gliadina y los péptidos derivados 13- y 33-mer aumentan la permeabilidad intestinal, dependiente de zonulina<sup>9</sup>, pero también la expresión de genes proinflamatorios y la secreción de citocinas en líneas de macrófagos<sup>86</sup>. Al contrario de otras proteínas de la dieta, la gliadina puede inducir también la expresión de marcadores de maduración y la liberación de citocinas y quimiocinas en las CDs, a través de un mecanismo dependiente de NF $\kappa$ B<sup>85</sup>. En este contexto, se ha sugerido que la gliadina podría ser un inductor inespecífico de la IL-15 en el duodeno tanto de pacientes con EC como de individuos no-EC<sup>87</sup>. Estudios recientes indican que

la membrana apical de los enterocitos puede reconocer fragmentos de gluten a través del receptor de quimiocinas CXCR3<sup>88</sup>. Además, algunas CPA como monocitos, macrófagos y CDs, pueden reconocer al gluten a través del receptor de reconocimiento de patrones TLR4<sup>86,89</sup>. Curiosamente, la cascada de señalización intracelular en ambos mecanismos (CXCR3 y TLR4) converge en el factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88). Queda por conocer, sin embargo, cuál es el papel de estos receptores en el contexto de la respuesta innata en el intestino, e identificar si son los únicos receptores implicados en esta respuesta.

### 3.4. Más allá de la respuesta innata: Interacción IL-15 /IL-15 R $\alpha$

Pese a que los efectos de la IL-15 se consideran tradicionalmente asociados a la inmunidad innata, también tienen importancia en la inducción de la inmunidad adaptativa, lo que se hace especialmente patente en la EC, donde, además de los efectos innatos como la reprogramación NK-like de los LIE<sup>78,79,81</sup> o la inducción de moléculas de estrés/MICA en los enterocitos<sup>72</sup>, puede actuar también como un claro nexo de unión entre ambos tipos de respuestas inmunológicas al ser un potente activador de las CDs<sup>90,91</sup> y, con ello, de los linfocitos T CD4+ específicos. La IL-15 se convierte así en iniciador de la expansión clonal y de la respuesta inmunológica de tipo Th1 que se manifestará por linfocitosis intraepitelial, hiperplasia de las criptas y aplanamiento de las vellosidades.

El receptor de la IL-15 comparte dos subunidades con el de la IL-2: IL-2R $\beta$  e IL-2R $\gamma$  e IL-2R $\gamma$ / $\gamma$ c<sup>91,92</sup>. El receptor  $\gamma$ c es también compartido con otras citocinas (IL-4, IL-7, IL-9 e IL-21) cada una de las cuales disponen de otras sub-unidades específicas responsables de la especificidad de unión y, por tanto, de la señalización posterior<sup>93</sup>. Sin embargo, pese a esta similitud en el receptor, IL-15 e IL-2 juegan papeles muy diferentes. Así, la IL-2 parece ser un modulador clave en los procesos inmunológicos adaptativos dependientes de células T, mientras que la IL-15 presenta un rango de actuación mucho más amplio, aunque centrado principalmente en la respuesta innata<sup>90</sup>. La sub-unidad del receptor, IL-15R $\alpha$ , es la encargada de conferir la especificidad de ligando<sup>(92, 94)</sup>. De hecho, la IL-15 presenta una alta especificidad de unión al receptor IL-15R $\alpha$ , proteína transmembrana tipo I, incluso en ausencia de las subunidades IL-15R $\beta$  e IL-15R $\gamma$ / $\gamma$ c<sup>92</sup>. Se han detectado niveles de mRNA de IL-15R $\alpha$  en una amplia variedad de sistemas celulares, inmunológicos como no inmunológicos,<sup>92,94</sup> lo que sugiere tanto un complejo mecanismo regulador, como que la señalización IL-15/IL-15R $\alpha$  pueda interrelacionar diferentes sistemas celulares entre sí<sup>95</sup>. Además, la IL-15 es capaz de modular positivamente a la IL-21, otra citocina implicada en la EC<sup>96</sup>.

Estudios recientes han encontrado que el duodeno de los pacientes con EC presenta niveles aumentados del receptor de la IL-15 (IL-15 R) comparados con el intestino de pacientes sin EC. El hecho de que los niveles más elevados del IL-15R se mantengan incluso tras la normalización histológica completa de la mucosa en los pacientes tratados con dieta sin gluten sugiere que se trata de un factor pre-disponible al desarrollo de la patología. Dichos niveles elevados del IL-15R confieren en los pacientes con EC un menor umbral de respuesta inmunológica frente a la IL-15<sup>97,98</sup>. Este mecanismo basado en un menor umbral inmunológico a la IL-15 por parte de los pacientes con EC podría ser clave en la patogénesis, ya que facilita la conexión entre el establecimiento de una respuesta inmunológica innata frente al gluten, y de una respuesta inmunológica adaptativa frente a esta proteína, que impide el desarrollo de los mecanismos de la tolerancia oral.

### 3.5. Respuesta adaptativa frente al gluten

La transglutaminasa tisular (TG2) es un enzima de amplia distribución en el organismo, cuya principal función es catalizar la modificación de proteínas mediante transamidación o deamidación. En la EC, la TG2 tiene un papel fundamental en el mecanismo patogénico mediante la modificación enzimática de los péptidos inmunodominantes de gliadina, que aumenta su afinidad por la molécula HLA-DQ<sup>99</sup> pero, además, es el principal (auto)antígeno de los anticuerpos séricos específicos que tienen gran valor en el diagnóstico<sup>100</sup>. En los pacientes con EC en actividad, la TG2 se expresa en el borde en cepillo epitelial y en la zona subepitelial de la lámina propia mucosa<sup>101</sup>. El principal sustrato exógeno de la TG2 es la gliadina, que contiene aminoácidos de carga positiva. La TG2 induce la sustitución ordenada y específica de residuos de glutamina por otros de ácido glutámico con carga negativa<sup>100</sup>, lo que favorece la interacción con otros aminoácidos básicos localizados en posiciones de anclaje de las moléculas HLA-DQ2 y DQ8, y aumenta su capacidad de estimular a los linfocitos T CD4+<sup>101,102</sup>. La modificación enzimática que desenmascara los epítomos más inmunogénicos de la gliadina y otras prolaminas, o da lugar a otros nuevos por interacción con proteínas de la matriz extracelular, podría ser responsable de la pérdida de la tolerancia y la aparición de enfermedades autoinmunes<sup>103,104</sup>.

Las gliadinas son una mezcla heterogénea de más de 40 componentes que contienen varios péptidos inmunogénicos, frente a los que los pacientes muestran distinta sensibilidad e incluso, un mismo paciente podría responder a más de uno. Los péptidos inmunodominantes, como los de la región<sup>57-75</sup> de la  $\alpha$ -gliadina, inducen respuestas inmunológicas específicas en casi todos los pacientes<sup>105-107</sup>. Se han identificado los principales epítomos en las  $\alpha$ - y  $\gamma$ -gliadinas, y también en las gluteninas, muchos se unen a HLA-DQ2, y otros a DQ8 y, en la mayoría, la deamidación por la TG2 aumenta su antigenicidad, excepto en los derivados de las gluteninas<sup>101,102,108</sup>. La riqueza de glutamina y prolina, y su localización en la estructura primaria influye en la inmunogenicidad de los péptidos, al determinar la conformación molecular y servir de residuo de anclaje preferente en los motivos de unión a la molécula HLA-DQ, además de controlar la especificidad de la TG2, que actúa sobre los residuos de glutamina en posiciones adyacentes a los de prolina, en secuencias del tipo QXP, pero no QP o QXXP (Q=glutamina, P=prolina, X=otro)<sup>1,107,108</sup>. Mediante algoritmos basados en la separación entre estos residuos, y en la presencia/ausencia de otros aminoácidos, se ha podido predecir la existencia de más de 50 péptidos inmunogénicos en el gluten de trigo, hordeinas y secalinas, y casi ausentes en las aveninas<sup>108</sup>.

En la EC activa, se ha observado un aumento del transporte a través del epitelio tanto de fragmentos tóxicos como inmunogénicos<sup>109</sup>. La digestión intraluminal incompleta del gluten puede originar fragmentos residuales, como el péptido de 33 aminoácidos de la  $\alpha$ -gliadina<sup>71,110</sup>, cuyo contenido en glutamina y prolina confiere la resistencia a la proteólisis por los enzimas digestivos, favoreciendo la formación de grandes fragmentos con varios epítomos T inmunodominantes, que son los sustratos preferidos de la TG2<sup>111</sup>. El enzima de origen bacteriano prolilendopeptidasa (PEP) induce la rápida degradación de este fragmento e impide la formación de epítomos T capaces de activar la respuesta inmunológica lesiva para el intestino<sup>110</sup>.

La inmunidad adaptativa mediada por linfocitos T específicos requiere que la presentación antigénica a los linfocitos T de la lámina propia sea llevada a cabo por CPA portadoras del elemento de restricción HLA-DQ2/DQ8. Las moléculas HLA-DQ2 y DQ8 confieren susceptibilidad mediante su principal función que es la de presentar pequeños péptidos de gluten a los linfocitos T CD4+ del intestino en la membrana de las CPA, aunque también podrían modular el desarrollo del repertorio de los linfocitos T en el tino<sup>112</sup>. Los linfocitos T CD4+ reconocen

péptidos de gliadina en el contexto de moléculas DQ2/DQ8, que unen fragmentos peptídicos con aminoácidos de carga negativa en posiciones determinadas de los motivos estructurales de unión, localizados en posición central (4<sup>o</sup>,6<sup>o</sup>,7<sup>o</sup>) para HLA-DQ2, y más externa (1<sup>o</sup>,4<sup>o</sup>,9<sup>o</sup>) para HLA-DQ8<sup>104,112</sup>. El hecho de que en cada péptido, los residuos deaminados estén en posiciones diferentes sugiere que la respuesta inmunológica específica para el gluten podría generarse frente a varios motivos patogénicos.

Las principales CPAs de la lámina propia mucosa son los macrófagos (20%) y, sobre todo, las CDs (80%). Las CDs proceden en su mayoría de monocitos extravasados que son reclutados a la mucosa inflamada, donde se diferencian *in situ*<sup>30,35</sup>. En la lesión celíaca en fase activa, se observa un aumento de las CPA, principalmente CDs, que expresan marcadores de activación en su superficie. Estas CDs, con fenotipo HLA-DQ2+ CD11c+ CD68- CD1c- BDCA3-, juegan un papel central en la activación de los linfáticos T de memoria reactivos al gluten que se acumulan en el intestino delgado de los pacientes con EC, y que son responsables en última instancia de la lesión tisular<sup>35,113</sup>. Las CPAs pueden ser activadas también como consecuencia de la IL-15 liberada durante la respuesta innata inducida por el gluten<sup>114,115</sup>. En un modelo animal, se ha observado que el gluten de trigo digerido induce la maduración de las CDs, junto a la expresión de moléculas coestimuladoras, y la secreción de quimiocinas<sup>85</sup>. En la EC, se observa una rápida acumulación de CDs CD14+CD11c+ que precede a los cambios estructurales, indicando que este subtipo está directamente relacionado con la inmunopatología de la enfermedad. La expresión de CCR2 y CD14 en estas células podría indicar que son monocitos extravasados de sangre periférica<sup>116</sup>.

Los linfocitos T CD4+ de la lámina propia mucosa reconocen péptidos de gliadina como el 33-mer (fragmento 56-88 de la  $\alpha$ -gliadina), modificados por la TG2 y presentados junto a moléculas HLA-DQ2 o DQ8 por las CDs<sup>22, 35, 106, 115, 117</sup>, dando lugar a una respuesta dominada por citocinas de perfil Th1, con predominio de IFN $\gamma$  y otras citocinas pro-inflamatorias (TNF $\alpha$ , IL18, entre otras) y un descenso proporcional de citocinas reguladoras o de función anti-inflamatoria (IL-10 y TGF $\beta$ )<sup>118,119</sup>. Este perfil pro-inflamatorio será el implicado en última instancia en los mecanismos de remodelación tisular.

La presencia de linfocitos T CD4+ específicos de gluten ha sido confirmada en la lámina propia mucosa del intestino delgado de pacientes con EC, de los que se obtuvieron clones celulares específicos de gluten<sup>118</sup>. Estas células expresan el Receptor de Células T (TCR) $\alpha\beta$  y un fenotipo CD45RO+ de células memoria y, tras su estimulación, producen citocinas de tipo Th0/Th1, con predominio de IFN $\gamma$  pero ausencia de Interleucina-12 (IL-12), patrón que desaparece en fase de remisión<sup>11,115,120</sup>. El aumento de la producción de citocinas Th1 se relaciona con reacciones de hipersensibilidad retardada y fenómenos autoinmunes y, en estudios funcionales, se ha observado que la activación de estas células se asocia con alteraciones de la matriz extracelular de la lámina propia y la proliferación epitelial<sup>120</sup>.

La diferenciación de los linfocitos T CD4+ hacia un fenotipo predominantemente Th1 o Th2 de producción de citocinas, depende de la naturaleza y concentración del antígeno, el tipo de CPA, y de la concentración local de citocinas<sup>26</sup>. Una alteración en el balance de citocinas podría explicar los hallazgos en el intestino celíaco, donde una respuesta Th anormal o descontrolada frente al gluten conduciría a la inflamación y la lesión intestinal. Sin embargo, la ausencia del principal factor inductor Th1 (IL-12) sugiere que la diferenciación de las células Th1 efectoras podría estar relacionada con otras citocinas, entre ellas, el Interferón- $\alpha$  (IFN $\alpha$ ), o la Interleuquina-18 (IL-18), que comparten con aquella alguna de sus funciones<sup>104</sup>. Además, otras enteropatías mediadas por respuestas Th1 e IL-12, como la enfermedad de Crohn, muestran

lesiones más severas con pérdida tisular, y el grado de lesión se relaciona con los niveles de Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ).

En el intestino celíaco podría haber un aumento de IFN $\gamma$  en paralelo con la alteración del balance entre citocinas pro- y anti-inflamatorias, como IFN $\gamma$  y TGF $\beta$ . El epitelio y lámina propia del intestino sano expresan TGF $\beta$ , pero en la EC, disminuye en el epitelio superficial y desaparece de las criptas, aumentando en la lámina propia alrededor de macrófagos y linfocitos T activados, donde no hay destrucción tisular. El IFN $\alpha$  puede intervenir en la diferenciación de células Th1, promoviendo la producción de IFN $\gamma$ , y se ha observado que la administración de IFN $\alpha$  en individuos susceptibles puede promover respuestas Th1 asociadas con una lesión de tipo hiperplásico<sup>115</sup>. Aunque falta por confirmar, el IFN $\alpha$  podría ser secretado por fibroblastos y macrófagos activados o incluso por CDs de la lámina propia<sup>75</sup> tras un episodio de infección intestinal, y contribuiría a la inflamación rescatando células T activadas de la apoptosis, manteniendo las células T memoria tras desaparecer el estímulo, y aumentando la expresión de moléculas coestimuladoras en las CPA locales. Al contrario de la IL-12, la IL-18, producida por macrófagos y CDs, y células del epitelio, no actúa sobre células vírgenes sino sobre células memoria y células efectoras, potenciando la expresión de IFN $\gamma$  dependiente de IL-12 o de IFN $\alpha$ . En condiciones normales, el intestino expresa IL-18, sin embargo ésta aumenta en la EC a expensas de su forma madura que requiere la intervención del Enzima Conversor de la IL-1 $\beta$  (ICE) o de proteasas locales<sup>12</sup>.

En la EC en fase activa, hay un aumento del número células plasmáticas de la lámina propia, con una densidad dos a tres veces superior en la lesión celíaca<sup>121</sup>, y la EC se caracteriza por la presencia de una variedad de anticuerpos séricos frente a moléculas propias y extrañas<sup>122</sup>. En 1997, la TG2 fue identificada como el principal autoantígeno reactivo con los anticuerpos antiendomiso<sup>122</sup>. Se han descrito también otros autoanticuerpos diferentes, que incluyen anticuerpos frente a proteínas de tipo actina, distintos tipos de colágeno y varios miembros de la familia de la transglutaminasa: TG3, TG6, y Factor XII<sup>124</sup>. Es importante mencionar que han se han encontrado complejos formados por IgA/TG3 en la piel de pacientes con dermatitis herpetiforme<sup>57,123</sup>, y se ha asociado la presencia de anticuerpos frente a la enzima neuronal TG6 con la ataxia<sup>124</sup>. Estos hallazgos podrían explicar el desarrollo de manifestaciones extraintestinales en la EC.

Los linfocitos B son también CPA profesionales vía receptor BCR. Hay pocos linfocitos B vírgenes o de memoria, y la mayoría son blastos plasmáticos o células plasmáticas de la lámina propia con escasa expresión de moléculas HLA de clase II<sup>125</sup>. Es probable que los linfocitos B jueguen un papel más importante como CPA en los nódulos linfoides mesentéricos para la amplificación de la respuesta de células T frente al gluten. Los linfocitos B específicos para TG2 estimularían preferentemente a los linfocitos T reactivos frente a péptidos específicos de la gliadina deaminada, lo que explicaría por qué los anticuerpos frente a estos péptidos son buenos predictores de EC.

#### **4. Interacción entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa**

La inducción de la respuesta adaptativa en la EC está estrechamente controlada por la inmunidad innata. Las CDs no sólo reconocen patógenos invasores sino que deciden qué tipo de respuesta efectora debe desplegarse. Está claro que sin señales provenientes de las CDs intestinales, la respuesta de linfocitos T específica de gluten no podría desencadenarse. Recientemente, utilizando la línea celular de macrófagos humanos THP-1<sup>126</sup>, se ha demostrado

que la gliadina es capaz de estimular la producción de citocinas e inducir la maduración de CD derivadas de monocitos<sup>127</sup>. En otros estudios con cultivos de tejido *ex vivo* se observó que la gliadina y el fragmento p31-43 derivado de la gliadina pueden inducir la secreción de IL-15<sup>67</sup> y aumentar la citotoxicidad de los LIEs<sup>78,79</sup>. La IL-15 es producida especialmente por CDs activadas, y otras CPAs, de forma que las CDs intervienen simultáneamente en dos respuestas efectoras, adaptativa (mediada por linfocitos T CD4+ específicos de gluten) e innata (mediada por LIEs)<sup>128, 129</sup>.

La producción de IL-15 por las CDs dependiente de la respuesta de linfocitos T específicos podría explicar por qué la respuesta innata frente a la gliadina se produce únicamente en el duodeno de los pacientes celíacos y no en el resto de individuos. Un estado proinflamatorio de la mucosa sería un pre-requisito indispensable para que la gliadina desencadene la inmunidad innata. Se desconoce aún cuál es el mecanismo por el que la gliadina, y en especial el fragmento p31-43, es capaz de estimular directamente la producción de IL-15, aunque estudios recientes sugieren que la TG2 podría tener un importante papel en el proceso<sup>68</sup>.

## 5. Transporte del gluten a través del epitelio

En condiciones normales, los péptidos proteicos son hidrolizados en la luz del intestino dando lugar a otros más pequeños o a aminoácidos aislados mediante peptidasas gástricas, pancreáticas y del borde en cepillo intestinal antes del transporte transepitelial a la lámina propia mucosa. La digestión intraluminal incompleta del gluten origina fragmentos residuales, como el de posición 57-75 de la  $\alpha$ -gliadina, resistente a la proteólisis enzimática debido a su contenido en glutamina y prolina, que incluye varios epítomos T inmunodominantes<sup>8</sup>. Debido a su gran tamaño, los péptidos de gluten como el llamado 33mer no se absorben fácilmente a través de los mecanismos normales que siguen las proteínas de la dieta. Las principales teorías establecen que la gliadina podría alcanzar la lámina propia donde tiene lugar la respuesta inmunológica adaptativa a través de 2 rutas principales: ruta transcelular a través de los enterocitos y ruta paracelular a través de las tight-junctions (TJs), entre los enterocitos. Una tercera posibilidad implica el acceso directo del gluten a la lámina propia gracias a la captación directa realizada por las CDs. Sin embargo, la ausencia de estudios que aborden esta cuestión en un modelo de biopsias humanas dificulta el esclarecimiento del tema.

La gran mayoría de las proteínas de la dieta son absorbidas, en forma de aminoácidos sencillos o como pequeños péptidos, a través del epitelio intestinal mediante transporte transcelular. Este proceso implica mecanismos de endocitosis en la membrana apical y, durante su tránsito a la membrana basal, los endosomas son generalmente conjugados con lisosomas que portan a su vez más proteasas, lo que facilita la degradación completa de los péptidos<sup>130</sup>. Sin embargo, la estructura antigénica de la gliadina favorece un transporte diferencial dentro de los enterocitos<sup>10,109</sup> que podría asociar la evasión de los lisosomas, alcanzando la lámina propia en un contexto inmunogénico. Varios estudios avalan esta posibilidad y se ha observado que en los pacientes con EC existe un transporte elevado desde la membrana apical de los enterocitos hasta la basal mediante un mecanismo dependiente de IFN $\gamma$ <sup>131,132</sup>. El IFN $\gamma$  debilita la barrera intestinal, favoreciendo la internalización de las uniones TJ, y en un modelo de células Caco-2, se ha observado que la estimulación con IFN $\gamma$  se asocia con un incremento de la translocación del péptido 33mer<sup>10</sup>.

Recientemente, se ha identificado otro posible mecanismo de transporte transepitelial de la gliadina que estaría mediado por el receptor de la transferrina CD7<sup>109</sup>. Este receptor CD71 está

sobreexpresado en la superficie apical de los enterocitos en la EC activa y se une a la IgA secretada. Experimentos de transcitosis realizados *ex vivo* sugieren que CD71 puede mediar el transporte de complejos IgA-gliadina, y en los pacientes con EC activa se han encontrado también complejos IgG-gliadina. Dado que el receptor neonatal Fc (FcRn) es expresado en las células epiteliales del intestino humano y pueden mediar la transcitosis apical a basolateral de los inmunocomplejos IgG-antígeno<sup>109</sup>, FcRn podría también transportar antígenos a través de la barrera epitelial por transcitosis de inmunocomplejos formados por IgG anti-gliadina y gliadina.

El péptido P31-43 puede tener 2 efectos importantes en la alteración del tráfico vesicular intracelular: modifica el reciclaje del complejo IL-15/IL-15R $\alpha$ , que favorece su sobreexpresión y la activación de la inmunidad innata; y aumenta la proliferación de los enterocitos en las criptas a través de la cooperación entre la IL-15 y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), con la consecuente remodelación de la mucosa duodenal. Además, la acumulación del péptido en los lisosomas de los enterocitos produce la activación de la respuesta innata vía ROS-TG2, actuando la TG2 como activadora de la ubiquitinación y la degradación proteosómica que conduce a la inflamación mucosa, disminuyendo la expresión de la molécula PPAR $\gamma$ <sup>132</sup>.

Las proteínas de la luz intestinal pueden pasar al interior por transporte paracelular entre los enterocitos. La permeabilidad intestinal está aumentada en los pacientes celíacos por alteración de las uniones estrechas o TJs entre los enterocitos, comparado con los individuos control no celíacos. Este hallazgo parece tener un componente genético ya que también se observa en familiares no afectados de los pacientes<sup>9</sup>. Sin embargo, por sí misma no explica el tráfico masivo de péptidos que se produce en la EC activa. Otra posibilidad implica un efecto activo de la gliadina sobre la permeabilidad intestinal favoreciendo su debilitamiento. El gluten es reconocido en la membrana apical de los enterocitos a través del receptor de quimiocinas CXCR3, lo que favorece la secreción paracrina de la proteína zonulina<sup>88</sup>. Cuando es reconocida por los enterocitos adyacentes, la zonulina dispara una cascada de señalización intracelular que implica la reorganización de todo su citoesqueleto, y favorece el desacoplamiento de las uniones TJs entre los enterocitos<sup>9,10,133</sup>. Por tanto, la gliadina, además de actuar de forma indirecta a través del efecto de la IL-15, puede inducir también una apertura de las TJs, que destruye la integridad de la barrera epitelial y favorece que los péptidos de mayor tamaño alcancen más fácilmente la lámina propia.

## **6. Mecanismos de inflamación en la enfermedad celíaca**

La presencia en la lámina propia de mediadores pro-inflamatorios no es suficiente para desencadenar el daño tisular. Ninguna de las citocinas que se conocen implicadas en la EC es responsable en última instancia de los mecanismos de lesión, ya que son moléculas mediadoras liberadas como consecuencia de las respuestas innata y adaptativa, o como parece más probable, de la interacción entre las dos. La inflamación y la lesión intestinal suelen ser el resultado de la interacción entre células linfoides y no-linfoides, que liberan distintos mediadores, muchos son inespecíficos, capaces de relacionarse y amplificar las señales que culminan en la lesión tisular de la mucosa intestinal. Los mecanismos no específicos están mediados por una respuesta inmunológica innata que no requiere de presentación antigénica y, por tanto, de la intervención de los linfocitos T. El factor de transcripción NF-kB<sup>134,135</sup> juega un papel principal en este tipo de respuestas, y entre sus numerosos efectos, se incluye la secreción de IL-15 por los enterocitos, como en el caso de la EC<sup>75</sup>. La IL-15, principal citocina de la respuesta inmunológica innata, es a su vez un factor de retroalimentación positiva para la señal

que induce la expresión de NF- $\kappa$ B en las células adyacentes<sup>135</sup>. Otro de los efectos del NF $\kappa$ B es la inducción del enzima iNOS (óxido nítrico sintasa inducible)<sup>67,71</sup> cuya presencia en la lámina propia constituye un factor de estrés oxidativo, que repercute en la re-inducción del NF- $\kappa$ B y el mantenimiento de la respuesta inflamatoria.

EL NF- $\kappa$ B juega también un papel clave en la conexión entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa. Las CDs, que inician la inmunidad adaptativa en la lámina propia mediante la presentación antigénica a los linfocitos T CD4+ reactivos al gluten<sup>136</sup> necesitan de la activación de este factor de transcripción para poder aumentar la expresión en membrana de moléculas HLA (DQ2/8) y coestimuladoras (CD80/B7.1, CD86/B7.2, CD83) y, con ello, la función de presentación de antígeno<sup>137</sup>. Además, estas células pueden ser activadas por poblaciones celulares de la inmunidad innata, como NK, iNKT y/o T $\gamma\delta$ , activadas a su vez por las señales de estrés inducidas en el contexto de la inmunidad innata<sup>44,136</sup>. Por tanto, las CDs actuarían como un sensor capaz de unir las respuestas innata y adquirida y, una vez activadas, estimularían también la expansión y función de estas células de la inmunidad innata, y la producción rápida de perforinas y granzimas, además de ser una fuente de IFN $\gamma$ <sup>44,45</sup>. Ambos bucles de retroalimentación, formados por la interacción entre linfocitos innatos/CDs y la activación del sistema NF $\kappa$ B/IL-15 -iNOS, contribuirían a mantener la situación de estrés en la mucosa intestinal.

Los fibroblastos del estroma son también susceptibles al microambiente local de estrés (presencia de óxido nítrico, IFN $\gamma$ , IL-15, etc.) Como resultado, estas células secretan el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) a la lámina propia<sup>120</sup>, que parece estar implicado en la hiperplasia de las criptas, característica de una lesión tipo Marsh II. Aumenta también la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular y la síntesis de quimiocinas, que contribuyen al reclutamiento de células inflamatorias, y se estimula la síntesis de metaloproteasas (MMPs), junto al bloqueo de sus inhibidores tisulares (TIMP-1). Las MMPs son una familia de endopeptidasas cuya principal función es la degradación de componentes de la matriz extracelular (como proteoglicanos y glicoproteínas), y la destrucción de la mucosa<sup>25,138</sup>, que se manifiesta según su severidad en las formas de lesión destructiva tipo III de Marsh. En el intestino inflamado aumenta la expresión de algunas MMPs, y en la EC se ha descrito una correlación entre los mecanismos de inflamación inespecíficos, como los niveles de expresión de MMP-12, y la presencia de IFN $\gamma$ ; con el grado de lesión mucosa<sup>139</sup>.

## 7. Enfermedad celíaca y microbiota intestinal

En los pacientes con EC se han detectado alteraciones en la microbiota intestinal caracterizadas por un incremento de bacterias Gram-negativas y una reducción de bifidobacterias<sup>140</sup>. Estudios recientes han encontrado diferencias en la microbiota fecal de los pacientes con EC no tratada, que vuelve a restaurarse parcialmente tras la dieta sin gluten<sup>141</sup>. Componentes específicos de la microbiota intestinal pueden influenciar fenotípicamente y funcionalmente la maduración de las células dendríticas y sus interacciones con las células epiteliales. Esto podría definir el papel de las células dendríticas en la progresión de la enfermedad<sup>142</sup>. Sin embargo, se necesitan más estudios para explicar cómo puede afectar estos cambios en la fibra intestinal sobre la patogénesis y el pronóstico de la EC.

Resultados preliminares de nuestro grupo sugieren la presencia en el extracto proteico intestinal de 7 bandas con actividad gliadinasa específica que son de naturaleza metaloproteasa y podrían derivar de la actividad microbiana. Este podría ser un factor diferencial que permitiría identificar con más de un 90% de fiabilidad el origen del explante duodenal sea de un paciente celíaco (en

actividad o en remisión), o de un paciente control no-EC. Los datos conocidos no permiten asegurar que las diferentes poblaciones bacterianas recientemente descritas en el duodeno de pacientes celíacos<sup>143,144</sup> sean las portadoras de estas gliadinasas. Sin embargo, el que esta actividad enzimática no se haya revelado prácticamente en ningún individuo no-celíaco parece apuntar a que la población bacteriana y la actividad derivada puedan participar en la patogénesis de la EC<sup>145</sup>.

## **8. Algunas cuestiones sin resolver**

Primero, falta por aclarar cómo entran los péptidos inmunogénicos de gliadina desde la luz intestinal hasta la lámina propia en los primeros estadios de la EC. Se ha sugerido que los péptidos pueden ser transportados durante un incremento de la permeabilidad intestinal secundaria a una infección vírica del intestino<sup>109, 146</sup>, o por retrotranscitos mediada por IgA<sup>147, 148</sup>.

Segundo, el péptido p31-49 de la  $\alpha$ -gliadina tiene un efecto directo sobre el epitelio intestinal. Sin embargo, aunque este efecto tóxico parece claro, se desconoce cómo se produce y cómo contribuye al desarrollo de la EC.

Tercero, la TG2 es un factor crucial en la presentación antigénica de péptidos derivados del gluten. En condiciones basales, la TG2 se expresa de forma inactiva intracelularmente o en la superficie celular. Falta por conocer cómo se activa la TG2 y se libera en la EC. Se ha propuesto que la TG2 es liberada tras producirse el daño tisular inducido por la respuesta inicial de células T frente a péptidos no procesados del gluten. Otra alternativa no excluyente es que la activación del TLR3 por sus ligandos durante una infección enteroviral pueda resultar en la activación de la TG2<sup>148</sup>.

Cuarto, en la EC activa, la ruptura en la regulación de la IL-15 lleva a la sobreexpresión masiva de IL-15, aunque se desconoce cómo ocurre. La dieta sin gluten tiene un efecto directo sobre el descenso de la expresión de IL-15 junto a la disminución de la respuesta adaptativa mediada por linfocitos T CD4+; por tanto, estas células podrían tener un efecto directo sobre la expresión de IL-15. Otra posibilidad es que las señales derivadas de la respuesta innata a través de TLRs puedan ser responsables de los niveles elevados de IL-15<sup>83</sup>.

## Referencias

1. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55. <http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
2. Jabri B, Sollid LM. *Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease*. Nat Rev Immunol. 2009; 9(12): 858-70. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2670>
3. 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>
4. Dube C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, et al. *The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review*. Gastroenterology. 2005; 128(4 Suppl 1): S57-67. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.014>
5. Koning F. *Celiac disease: caught between a rock and a hard place*. Gastroenterology. 2005; 129(4): 1294-301. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.07.030>
6. Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. *Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg*. Lancet. 1994; 343(8891): 200-3. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90989-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90989-X)
7. Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM, Khosla C. *Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002; 283(4): G996-G1003.
8. 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>
9. 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>
10. Menard S, Lebreton C, Schumann M, Matysiak-Budnik T, Dugave C, Bouhnik Y, et al. *Paracellular versus transcellular intestinal permeability to gliadin peptides in active celiac disease*. Am J Pathol. 2012; 180(2): 608-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.10.019>
11. Forsberg G, Hernell O, Melgar S, Israelsson A, Hammarstrom S, Hammarstrom ML. *Paradoxical coexpression of proinflammatory and down-regulatory cytokines in intestinal T cells in childhood celiac disease*. Gastroenterology. 2002; 123(3): 667-78. <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.35355>
12. Salvati VM, MacDonald TT, Bajaj-Elliott M, Borrelli M, Staiano A, Auricchio S, et al. *Interleukin 18 and associated markers of T helper cell type 1 activity in coeliac disease*. Gut. 2002; 50(2): 186-90. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.2.186>
13. Leon AJ, Garrote JA, Blanco-Quiros A, Calvo C, Fernandez-Salazar L, Del Villar A, et al. *Interleukin 18 maintains a long-standing inflammation in coeliac disease patients*. Clin Exp Immunol. 2006; 146(3): 479-85. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03239.x>
14. Leon AJ, Gomez E, Garrote JA, Arranz E. *The pattern of cytokine expression determines the degree of mucosal damage*. Gut. 2007; 56(3): 441-3. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.110361>
15. Marsh MN. *Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue')*. Gastroenterology. 1992; 102(1): 330-54.

16. Malamut G, Meresse B, Cellier C, Cerf-Bensussan N. *Refractory celiac disease: from bench to bedside*. Semin Immunopathol. 2012; 34(4): 601-13.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0322-z>
17. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. *Clinical and pathological spectrum of coeliac disease--active, silent, latent, potential*. Gut. 1993; 34(2): 150-1.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.34.2.150>
18. Carchon H, Serrus M, Eggermont E. *Digestion of gliadin peptides by intestinal mucosa from control or coeliac children*. Digestion. 1979; 19(1): 1-5.  
<http://dx.doi.org/10.1159/000198315>
19. Cornell HJ, Wills-Johnson G. *Structure-activity relationships in coeliac-toxic gliadin peptides*. Amino Acids. 2001; 21(3): 243-53. <http://dx.doi.org/10.1007/s007260170010>
20. Bruce G, Woodley JF, Swan CH. *Breakdown of gliadin peptides by intestinal brush borders from coeliac patients*. Gut. 1984; 25(9): 919-24.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.25.9.919>
21. Chehade M, Mayer L. *Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities*. J Allergy Clin Immunol. 2005; 115(1): 3-12; quiz 3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.008>
22. Mowat AM. *Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens*. Nat Rev Immunol. 2003; 3(4): 331-41. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1057>
23. Faria AM, Weiner HL. *Oral tolerance*. Immunol Rev. 2005;206:232-59.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00280.x>
24. Mills KH. *Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection?* Nat Rev Immunol. 2004; 4(11): 841-55. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1485>
25. Macdonald TT, Monteleone G. *Immunity, inflammation, and allergy in the gut*. Science. 2005; 307(5717): 1920-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1106442>
26. Mowat AM, Donachie AM, Parker LA, Robson NC, Beacock-Sharp H, McIntyre LJ, et al. *The role of dendritic cells in regulating mucosal immunity and tolerance*. Novartis Found Symp. 2003; 252: 291-302; discussion -5.
27. 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(5): 507-14. <http://dx.doi.org/10.1038/ni1192>
28. Niess JH, Reinecker HC. *Dendritic cells: the commanders-in-chief of mucosal immune defenses*. Curr Opin Gastroenterol. 2006; 22(4): 354-60.  
<http://dx.doi.org/10.1097/01.mog.0000231807.03149.54>
29. Rossi M, Young JW. *Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity*. J Immunol. 2005; 175(3): 1373-81.
30. Beacock-Sharp H, Donachie AM, Robson NC, Mowat AM. *A role for dendritic cells in the priming of antigen-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes by immune-stimulating complexes in vivo*. Int Immunol. 2003; 15(6): 711-20.  
<http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxg067>
31. 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(7): 1275-86.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21893>
32. La Cava A, Van Kaer L, Fu Dong S. *CD4+CD25+ Tregs and NKT cells: regulators regulating regulators*. Trends Immunol. 2006; 27(7): 322-7.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2006.05.003>
33. Shevach EM, McHugh RS, Piccirillo CA, Thornton AM. *Control of T-cell activation by CD4+ CD25+ suppressor T cells*. Immunol Rev. 2001; 182: 58-67.  
<http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-065X.2001.1820104.x>

34. 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. 2011; 73(3): 223-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2011.12.017>
35. Raki M, Tollefsen S, Molberg O, 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(2): 428-38. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.002>
36. Mowat AM, Parker LA, Beacock-Sharp H, Millington OR, Chirido F. *Oral tolerance: overview and historical perspectives.* Ann N Y Acad Sci. 2004; 1029: 1-8. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1309.001>
37. 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. 2012; 34(2): 237-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.01.016>
38. 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(8): 1775-85. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20070602>
39. Gianfrani C, Levings MK, Sartirana C, Mazzarella G, Barba G, Zanzi D, et al. *Gliadin-specific type 1 regulatory T cells from the intestinal mucosa of treated celiac patients inhibit pathogenic T cells.* J Immunol. 2006; 177(6): 4178-86.
40. O'Garra A, Vieira P. *T(H)1 cells control themselves by producing interleukin-10.* Nat Rev Immunol. 2007; 7(6): 425-8. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2097>
41. Thielke KH, Hoffmann-Moujahid A, Weisser C, Waldkirch E, Pabst R, Holtmeier W, et al. *Proliferating intestinal gamma/delta T cells recirculate rapidly and are a major source of the gamma/delta T cell pool in the peripheral blood.* Eur J Immunol. 2003; 33(6): 1649-56. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.200323442>
42. 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(4): 476-82. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.35.4.476>
43. Locke NR, Stankovic S, Funda DP, Harrison LC. *TCR gamma delta intraepithelial lymphocytes are required for self-tolerance.* J Immunol. 2006; 176(11): 6553-9.
44. Yu KO, Porcelli SA. *The diverse functions of CD1d-restricted NKT cells and their potential for immunotherapy.* Immunol Lett. 2005; 100(1): 42-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2005.06.010>
45. van der Vliet HJ, Molling JW, von Blomberg BM, Nishi N, Kolgen W, van den Eertwegh AJ, et al. *The immunoregulatory role of CD1d-restricted natural killer T cells in disease.* Clin Immunol. 2004; 112(1): 8-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2004.03.003>
46. Zeissig S, Kaser A, Dougan SK, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS. *Role of NKT cells in the digestive system. III. Role of NKT cells in intestinal immunity.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2007; 293(6): G1101-5. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00342.2007>
47. Eiras P, Leon F, Camarero C, Lombardia M, Roldan E, Bootello A, et al. *Intestinal intraepithelial lymphocytes contain a CD3- CD7+ subset expressing natural killer markers and a singular pattern of adhesion molecules.* Scand J Immunol. 2000; 52(1): 1-6. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3083.2000.00761.x>

48. Leon F, Roldan E, Sanchez L, Camarero C, Bootello A, Roy G. *Human small-intestinal epithelium contains functional natural killer lymphocytes*. Gastroenterology. 2003; 125(2): 345-56. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00886-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00886-2)
49. Cardell SL. *The natural killer T lymphocyte: a player in the complex regulation of autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice*. Clin Exp Immunol. 2006; 143(2): 194-202. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02942.x>
50. Seino K, Taniguchi M. *Functionally distinct NKT cell subsets and subtypes*. J Exp Med. 2005; 202(12): 1623-6. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20051600>
51. Munz C, Dao T, Ferlazzo G, de Cos MA, Goodman K, Young JW. *Mature myeloid dendritic cell subsets have distinct roles for activation and viability of circulating human natural killer cells*. Blood. 2005; 105(1): 266-73. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-06-2492>
52. 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>
53. 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)
54. Zabel BA, Agace WW, Campbell JJ, Heath HM, Parent D, Roberts AI, et al. *Human G protein-coupled receptor GPR-9-6/CC chemokine receptor 9 is selectively expressed on intestinal homing T lymphocytes, mucosal lymphocytes, and thymocytes and is required for thymus-expressed chemokine-mediated chemotaxis*. J Exp Med. 1999; 190(9): 1241-56. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.190.9.1241>
55. Ohmori K, Fukui F, Kiso M, Imai T, Yoshie O, Hasegawa H, et al. *Identification of cutaneous lymphocyte-associated antigen as sialyl 6-sulfo Lewis X, a selectin ligand expressed on a subset of skin-homing helper memory T cells*. Blood. 2006; 107(8): 3197-204. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-05-2185>
56. Clark RA, Chong B, Mirchandani N, Brinster NK, Yamanaka K, Dowgiert RK, et al. *The vast majority of CLA+ T cells are resident in normal skin*. J Immunol. 2006; 176(7): 4431-9.
57. Qiao SW, Iversen R, Raki M, Sollid LM. *The adaptive immune response in celiac disease*. Semin Immunopathol. 2012; 34(4): 523-40. <http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0314-z>
58. Ng SC, Benjamin JL, McCarthy NE, Hedin CR, Koutsoumpas A, Plamondon S, et al. *Relationship between human intestinal dendritic cells, gut microbiota, and disease activity in Crohn's disease*. Inflamm Bowel Dis. 2011; 17(10): 2027-37. <http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21590>
59. Brandtzaeg P. *The changing immunological paradigm in coeliac disease*. Immunol Lett. 2006; 105(2): 127-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2006.03.004>
60. Gianfrani C, Auricchio S, Troncone R. *Adaptive and innate immune responses in celiac disease*. Immunol Lett. 2005; 99(2): 141-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2005.02.017>
61. Koning F, Gilissen L, Wijmenga C. *Gluten: a two-edged sword. Immunopathogenesis of celiac disease*. Springer Semin Immunopathol. 2005; 27(2): 217-32. <http://dx.doi.org/10.1007/s00281-005-0203-9>
62. 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>

63. Sturges RP, Ellis HJ, Ciclitira PJ. *Cereal chemistry, molecular biology, and toxicity in coeliac disease*. Gut. 1991; 32(9): 1055-60. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.32.9.1055>
64. Shewry PR, Halford NG, Tatham AS, Popineau Y, Lafiandra D, Belton PS. *The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties*. Adv Food Nutr Res. 2003; 45: 219-302. [http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526\(03\)45006-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526(03)45006-7)
65. 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.
66. Ellis HJ, Ciclitira PJ. *In vivo gluten challenge in celiac disease*. Can J Gastroenterol. 2001; 15(4): 243-7.
67. 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)
68. Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Rispo A, et al. *Unexpected role of surface transglutaminase type II in celiac disease*. Gastroenterology. 2005; 129(5): 1400-13. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.07.054>
69. Londei M, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Quarantino S, Maiuri L. *Gliadin as a stimulator of innate responses in celiac disease*. Mol Immunol. 2005; 42(8): 913-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2004.12.005>
70. 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(5): 529-35. <http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199905000-00011>
71. De Stefano D, Maiuri MC, Iovine B, Ialenti A, Bevilacqua MA, Carnuccio R. *The role of NF-kappaB, IRF-1, and STAT-1alpha transcription factors in the iNOS gene induction by gliadin and IFN-gamma in RAW 264.7 macrophages*. J Mol Med (Berl). 2006; 84(1): 65-74. <http://dx.doi.org/10.1007/s00109-005-0713-x>
72. Martin-Pagola A, Perez-Nanclares G, Ortiz L, Vitoria JC, Hualde I, Zaballa R, et al. *MICA response to gliadin in intestinal mucosa from celiac patients*. Immunogenetics. 2004; 56(8): 549-54. <http://dx.doi.org/10.1007/s00251-004-0724-8>
73. Jabri B, de Serre NP, Cellier C, Evans K, Gache C, Carvalho C, et al. *Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease*. Gastroenterology. 2000; 118(5): 867-79. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(00\)70173-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70173-9)
74. Cheroutre H, Lambomez F, Mucida D. *The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes*. Nat Rev Immunol. 2011; 11(7): 445-56. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3007>
75. 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>
76. 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>
77. Mention JJ, Ben Ahmed M, Begue B, Barbe U, Verkarre V, Asnafi V, et al. *Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease*. Gastroenterology. 2003; 125(3): 730-45. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01047-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01047-3)

78. 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(3): 357-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.020>
79. 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(3): 367-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>
80. Maiuri L, Ciacci C, Vacca L, Ricciardelli I, Auricchio S, Quarantino S, et al. *IL-15 drives the specific migration of CD94+ and TCR-gammadelta+ intraepithelial lymphocytes in organ cultures of treated celiac patients*. *Am J Gastroenterol*. 2001; 96(1): 150-6.
81. 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(1): 118-26. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02132.x>
82. Fehniger TA, Caligiuri MA. *Interleukin 15: biology and relevance to human disease*. *Blood*. 2001; 97(1): 14-32. <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V97.1.14>
83. Mention JJ, Ben Ahmed M, Begue B, Barbe U, Verkarre V, Asnafi V, et al. *Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease*. *Gastroenterology*. 2003; 125(3): 730-45. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01047-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01047-3)
84. 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)
85. Nikulina M, Habich C, Flohe SB, Scott FW, Kolb H. *Wheat gluten causes dendritic cell maturation and chemokine secretion*. *J Immunol*. 2004; 173(3): 1925-33.
86. 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(4): 2512-21.
87. 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(6): 889-90. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.118265>
88. 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. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.023>
89. Freitag TL, Rietdijk S, Junker Y, Popov Y, Bhan AK, Kelly CP, et al. *Gliadin-primed CD4+CD45RBlowCD25- T cells drive gluten-dependent small intestinal damage after adoptive transfer into lymphopenic mice*. *Gut*. 2009; 58(12): 1597-605. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.186361>
90. 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*. *Nat Immunol*. 2001; 2(12): 1138-43. <http://dx.doi.org/10.1038/ni729>
91. 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(3): 1179-87.
92. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. *Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology*. *Semin Immunopathol*. 2012; 34(4): 551-66. <http://dx.doi.org/10.1007/s00281-012-0316-x>

93. Anderson DM, Kumaki S, Ahdieh M, Bertles J, Tometsko M, Loomis A, et al. *Functional characterization of the human interleukin-15 receptor alpha chain and close linkage of IL15RA and IL2RA genes*. J Biol Chem. 1995; 270(50): 29862-9. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.270.50.29862>
94. Waldmann TA, Tagaya Y. *The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens*. Annu Rev Immunol. 1999; 17: 19-49. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.17.1.19>
95. 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 Rev. 2006; 17(4): 259-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.05.001>
96. Sarra M, Cupi ML, Monteleone I, Franze E, Ronchetti G, Di Sabatino A, et al. *IL-15 positively regulates IL-21 production in celiac disease mucosa*. Mucosal Immunol. 2013; 6(2): 244-55.
97. Bernardo D, Garrote JA, Allegretti Y, Leon A, Gomez E, Bermejo-Martin JF, et al. *Higher constitutive IL15R alpha expression and lower IL-15 response threshold in coeliac disease patients*. Clin Exp Immunol. 2008; 154(1): 64-73. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03743.x>
98. Harris KM, Fasano A, Mann DL. *Monocytes differentiated with IL-15 support Th17 and Th1 responses to wheat gliadin: implications for celiac disease*. Clin Immunol. 2010; 135(3): 430-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2010.01.003>
99. 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>
100. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. *Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease*. Nat Med. 1997; 3(7): 797-801. <http://dx.doi.org/10.1038/nm0797-797>
101. Molberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, et al. *Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease*. Nat Med. 1998; 4(6): 713-7. <http://dx.doi.org/10.1038/nm0698-713>
102. van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Pena S, Mearin L, Papadopoulos G, et al. *Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity*. J Immunol. 1998; 161(4): 1585-8.
103. Schuppan D. *Current concepts of celiac disease pathogenesis*. Gastroenterology. 2000; 119(1): 234-42. <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2000.8521>
104. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55. <http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
105. Arentz-Hansen H, McAdam SN, Molberg O, 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(3): 803-9. <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.35381>
106. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AV. *In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope*. Nat Med. 2000; 6(3): 337-42. <http://dx.doi.org/10.1038/73200>

107. 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>
108. Koning F, Vader W. *Gluten peptides and celiac disease*. Science. 2003; 299(5606): 513-5; author reply -5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.299.5606.513>
109. 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(3): 696-707.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01049-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01049-7)
110. Piper JL, Gray GM, Khosla C. *Effect of prolyl endopeptidase on digestive-resistant gliadin peptides in vivo*. J Pharmacol Exp Ther. 2004; 311(1): 213-9.  
<http://dx.doi.org/10.1124/jpet.104.068429>
111. 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>
112. Sollid LM. *Molecular basis of celiac disease*. Annu Rev Immunol. 2000;18:53-81.  
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.53>
113. Beitnes AC, Raki 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(2): 186-94.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02549.x>
114. Ouaz F, Arron J, Zheng Y, Choi Y, Beg AA. *Dendritic cell development and survival require distinct NF-kappaB subunits*. Immunity. 2002; 16(2): 257-70.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613\(02\)00272-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00272-8)
115. Monteleone G, Pender SL, 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(3): 425-9. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.48.3.425>
116. Beitnes AC, Raki 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. 7(3): e33556. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0033556>
117. Arentz-Hansen H, McAdam SN, Molberg O, 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(3): 803-9.  
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.35381>
118. 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(3): 551-63.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70134-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70134-9)
119. Leon F, Sanchez L, Camarero C, Roy G. *Cytokine production by intestinal intraepithelial lymphocyte subsets in celiac disease*. Dig Dis Sci. 2005; 50(3): 593-600.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-005-2480-5>
120. Salvati VM, Bajaj-Elliott M, Poulosom R, Mazzarella G, Lundin KE, Nilsen EM, et al. *Keratinocyte growth factor and coeliac disease*. Gut. 2001; 49(2): 176-81.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.49.2.176>
121. Farstad IN, Halstensen TS, Kvale D, Fausa O, Brandtzaeg P. *Topographic distribution of homing receptors on B and T cells in human gut-associated lymphoid tissue: relation of L-selectin and integrin alpha 4 beta 7 to naive and memory phenotypes*. Am J Pathol. 1997; 150(1): 187-99.

122. Dieterich W, Storch WB, Schuppan D. *Serum antibodies in celiac disease*. Clin Lab. 2000; 46(7-8): 361-4.
123. 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(6): 747-57. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20011299>
124. Hadjivassiliou M, Aeschlimann P, Strigun A, Sanders DS, Woodroffe N, Aeschlimann D. *Autoantibodies in gluten ataxia recognize a novel neuronal transglutaminase*. Ann Neurol. 2008; 64(3): 332-43. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.21450>
125. Farstad IN, Carlsen H, Morton HC, Brandtzaeg P. *Immunoglobulin A cell distribution in the human small intestine: phenotypic and functional characteristics*. Immunology. 2000; 101(3): 354-63. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00118.x>
126. Jelinkova L, Tuckova L, Cinova J, Flegelova Z, Tlaskalova-Hogenova H. *Gliadin stimulates human monocytes to production of IL-8 and TNF-alpha through a mechanism involving NF-kappaB*. FEBS Lett. 2004; 571(1-3): 81-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2004.06.057>
127. Palova-Jelinkova L, Rozkova D, Pecharova B, Bartova J, Sediva A, Tlaskalova-Hogenova H, et al. *Gliadin fragments induce phenotypic and functional maturation of human dendritic cells*. J Immunol. 2005; 175(10): 7038-45.
128. Stepniak D, Koning F. *Celiac disease--sandwiched between innate and adaptive immunity*. Hum Immunol. 2006; 67(6): 460-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2006.03.011>
129. 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>
130. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. *Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms*. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1165: 195-205. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04037.x>
131. 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>
132. 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*. 2010; Gut. 59(3): 311-9. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.183608>
133. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A, et al. *Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines*. Scand J Gastroenterol. 2006; 41(4): 408-19. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520500235334>
134. Ali S, Mann DA. *Signal transduction via the NF-kappaB pathway: a targeted treatment modality for infection, inflammation and repair*. Cell Biochem Funct. 2004; 22(2): 67-79. <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.1082>
135. Bonizzi G, Karin M. *The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity*. Trends Immunol. 2004; 25(6): 280-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2004.03.008>
136. Munz C, Steinman RM, Fujii S. *Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity*. J Exp Med. 2005; 202(2): 203-7. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20050810>

137. Calder VL, Bondeson J, Brennan FM, Foxwell BM, Feldmann M. *Antigen-specific T-cell downregulation by human dendritic cells following blockade of NF-kappaB*. Scand J Immunol. 2003; 57(3): 261-70. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3083.2003.01228.x>
138. Pender SL, MacDonald TT. *Matrix metalloproteinases and the gut - new roles for old enzymes*. Curr Opin Pharmacol. 2004; 4(6): 546-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2004.06.005>
139. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Bauer M, Della Riccia DN, Bizzini F, Biagi F, et al. *Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa*. Lab Invest. 2005; 85(3): 397-407. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.3700225>
140. Sanz Y, De Pama G, Laparra M. *Unraveling the ties between celiac disease and intestinal microbiota*. Int Rev Immunol. 2011; 30(4): 207-18. <http://dx.doi.org/10.3109/08830185.2011.599084>
141. 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. 94(8): 1724-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.03.025>
142. 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.
143. 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*. Am J Gastroenterol. 2004; 99(5): 894-904. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04157.x>
144. Nadal I, Donat 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>
145. Bernardo D, Garrote JA, Nadal I, Leon AJ, Calvo C, Fernandez-Salazar L, et al. *Is it true that coeliacs do not digest gliadin? Degradation pattern of gliadin in coeliac disease small intestinal mucosa*. Gut. 2009; 58(6): 886-7. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.167296>
146. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L, et al. *Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study*. Am J Gastroenterol. 2006; 101(10): 2333-40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00741.x>
147. 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>
148. 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(3): e1861.