

Capítulo 24

Microbiota intestinal y enfermedad celíaca

Moisés Laparra, Marta Olivares, Yolanda Sanz

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

mlaparra@iata.csic.es, m.olivares@iata.csic.es, yolsanz@iata.csic.es

Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.33>

Referenciar este capítulo

Laparra M, Olivares M, Sanz Y. *Microbiota intestinal y enfermedad celíaca*. En Rodrigo L y Peña AS, editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. Barcelona, España: OmniaScience; 2013. p. 479-496.

Resumen

La microbiota intestinal desempeña importantes funciones metabólicas e inmunológicas en el huésped que pueden influir en su estado de salud y en el riesgo de padecer ciertas enfermedades. Estudios epidemiológicos indican que factores ambientales, como el tipo de lactancia y la incidencia de infecciones gastrointestinales, que influyen en el ecosistema intestinal, también pueden estar implicados en el riesgo de padecer la enfermedad celíaca (EC). La lactancia materna parece ejercer un efecto protector frente al desarrollo de la enfermedad y a su vez favorece la colonización del intestino del recién nacido por bifidobacterias. Este proceso de colonización constituye un estímulo esencial para el desarrollo de adecuadas respuestas inmunológicas y para reforzar la función de la barrera intestinal frente a diversos alérgenos y patógenos. Estudios recientes sugieren alteraciones en el patrón de colonización en niños de riesgo en los primeros meses de vida, que podrían estar relacionados con el riesgo de padecer la enfermedad. También se ha demostrado que la microbiota intestinal de pacientes celíacos presenta alteraciones en comparación con la de controles sanos. Además, las alteraciones de la microbiota de los pacientes y alguno de sus aislados pueden contribuir al proceso de patogénesis activando respuestas inflamatorias de tipo Th1 características de la enfermedad. Como consecuencia, el uso de estrategias de intervención nutricional, basadas en la administración de probióticos, se está investigando como posible estrategia preventiva así como para mejorar la calidad de vida de los pacientes celíacos. Este tipo de intervención podría contribuir a restablecer el equilibrio intestinal y a atenuar la respuesta patológica al gluten en los pacientes, así como favorecer el desarrollo de un fenotipo de tolerancia al gluten en sujetos de riesgo por diversos mecanismos.

Abstract

Intestinal microbiota is considered to develop important metabolic and immunologic functions affecting the host's health and disease risk. Evidence from epidemiologic studies suggests that environmental factors influencing the intestinal ecosystem, such as type of milk-feeding practices and incidence of gastrointestinal infections, can also contribute to determining the risk of developing celiac disease (CD). Breast-feeding seems to exert a protective role against CD, and also favors bifidobacteria colonization in the infant's gut. Colonization of the newborn intestine is considered a critical stimulus for adequate development of immune and intestinal barrier functions, modulating host protection mechanisms against allergens and pathogens. Observational studies indicate that the gut colonization patterns of infants at genetic risk of developing CD differ from those of non-risk infants, which could also influence CD development. Imbalances in gut microbiota of CD patients in comparison to healthy controls have also been reported in several observational studies. It is hypothesized that these alterations and specific bacteria isolated from patients could contribute to CD pathogenesis by activation of the pro-inflammatory Th₁-type response characteristic of the disease according to *in vitro* and animal studies. Therefore, dietary intervention strategies based on the use of probiotics are being considered as potential adjuvant and preventive strategies to control the disease, as well as to improve quality of CD patients' life. These strategies could theoretically contribute to restoring the intestinal ecosystem, thereby ameliorating the severity of pathological manifestations of CD, and to developing a gluten-tolerant phenotype in subjects at risk as a consequence of different mechanisms.

1. Introducción

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica de carácter autoinmune, desencadenada por una intolerancia a las proteínas del gluten de los cereales, incluido el trigo, la cebada, el centeno y posiblemente la avena, que cursa con severas alteraciones funcionales y morfológicas de la mucosa del intestino delgado. Los cuadros típicos de la enfermedad suelen presentarse en los primeros años de vida y cursan frecuentemente con sintomatología gastrointestinal; no obstante, cada vez son más frecuentes las manifestaciones extra-intestinales o atípicas, especialmente en edades posteriores de la vida. La EC está también asociada a otras patologías de base inmunológica como dermatitis herpetiforme, déficit de IgA, diabetes Mellitus tipo I, tiroiditis y hepatitis autoinmune.^{1,2}

En esta patología intervienen factores genéticos y ambientales, principalmente el gluten; no obstante, otros factores como el tipo de lactancia, la incidencia de infecciones gastrointestinales y la composición de la microbiota intestinal también podrían estar involucrados como se esquematiza en la figura 1.³⁻⁵ La susceptibilidad genética a padecer la EC viene determinada por los alelos específicos HLA-DQ de clase II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) que codifican el heterodímero HLA-DQ2 o HLA-DQ8, que interviene en la presentación de antígenos. El 95% de los pacientes celíacos expresan las moléculas HLA-DQ2/DQ8, indicando que es un factor necesario para que se desarrolle la patología; no obstante, estos factores de riesgo también están presentes en el 30% de la población general y tan sólo un bajo porcentaje desarrolla la EC, lo que indica que su presencia no es suficiente para que se manifieste la enfermedad. Estudios sobre poblaciones de gemelos también han demostrado que en un 25% de los casos uno de los gemelos no desarrolla la EC,⁶ indicando que además del genotipo existen otros factores ambientales implicados en el desarrollo de esta patología.

En los últimos años se han detectado desequilibrios en la composición de la microbiota intestinal en pacientes con EC y en individuos de riesgo.^{3,7,8} El proceso de colonización en los primeros estadios de la vida y la interacción de la microbiota intestinal con el sistema inmune innato y adaptativo en esta y posteriores etapas de la vida, podrían ser cruciales para el desarrollo de tolerancia oral a las proteínas del gluten y para determinar el riesgo y severidad de la patología.

En la actualidad, el único tratamiento para la EC es el seguimiento de una dieta estricta exenta de gluten a lo largo de toda la vida del paciente. Aunque la sintomatología suele remitir tras el seguimiento de esta estrategia dietética, su mantenimiento es difícil debido a la presencia de gluten en la mayoría de alimentos elaborados. Además, un porcentaje (8-18%) de pacientes presentan EC refractaria y no responden a esta pauta dietética (revisado por Mooney et al.⁹). Este hecho incrementa la necesidad de desarrollar estrategias terapéuticas y preventivas adicionales al seguimiento de una dieta exenta de gluten. Entre estas se incluyen la hidrólisis del gluten ingerido con enzimas proteolíticas, la utilización de agentes moduladores de la permeabilidad intestinal, el diseño de vacunas basadas en péptidos con especificidad por las moléculas HLA-DQ2 que faciliten la desensibilización al gluten y estrategias de intervención nutricional basadas en ingredientes alimentarios con propiedades inmunomoduladoras e influencia positiva en la función barrera intestinal.¹⁰

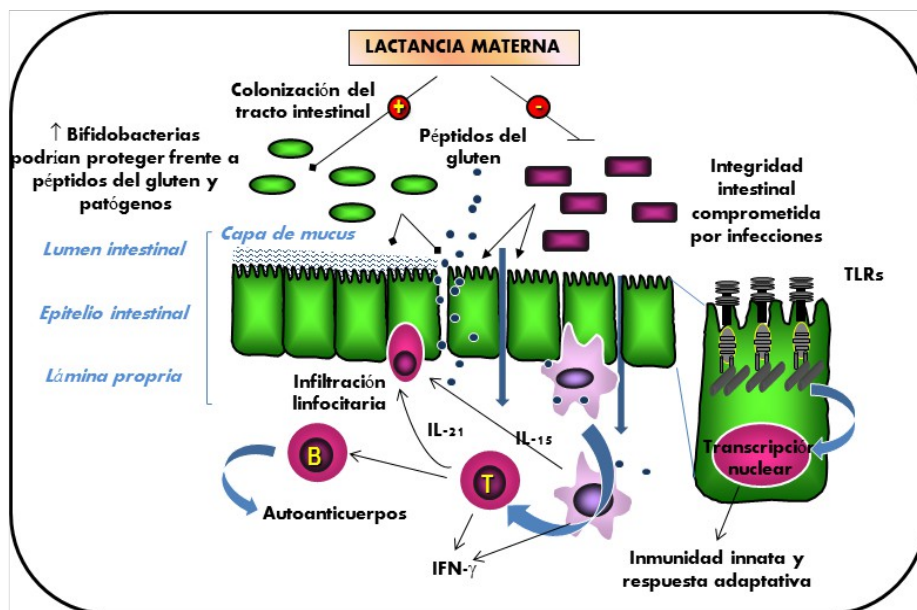


Figura 1. Influencia de la lactancia materna y microbiota intestinal en la patogénesis de la enfermedad celíaca.

2. Microbiota intestinal, lactancia y genotipo HLA-DQ

Entre los factores ambientales relacionados con la etiología de la EC, además de la ingesta de gluten, se incluyen el tipo de lactancia, el momento de introducción del gluten en la dieta, la incidencia de infecciones y la composición de la microbiota intestinal.^{3,11,12} Estudios epidemiológicos indican que la lactancia materna podría ejercer un efecto protector frente al desarrollo de la EC.¹³ Diversos trabajos han identificado la presencia de microorganismos y de oligosacáridos prebióticos en la leche materna y han descrito su efecto sobre la composición de la microbiota intestinal del lactante y la modulación de su sistema inmune, lo que podría influir también en el riesgo de sufrir ciertas patologías (revisado en Fernández et al.¹⁴). En los niños alimentados con lactancia materna las bifidobacterias predominan en la microbiota intestinal, mientras que la lactancia artificial favorece la colonización de una microbiota más heterogénea y más parecida a la de la población adulta.^{15,16} Por otro lado, el análisis comparativo de muestras de heces de gemelos y de población adulta e infantil con diferente grado de parentesco ha permitido concluir que el genotipo también condiciona la composición de la microbiota intestinal.¹⁷⁻²⁰ Los autores Toivanen et al.²¹ señalaron que ciertos genes del MCH podrían estar implicados en las diferencias en la microbiota fecal observadas en ratones con distinto fondo genético.

En el contexto de la EC, un estudio prospectivo de una cohorte de recién nacidos con riesgo de sufrir EC por sus antecedentes familiares mediante PCR a tiempo real demostró que tanto el tipo de lactancia como el genotipo HLA-DQ influyen en el proceso de colonización intestinal de la microbiota.^{4,22} En niños con un alto riesgo de sufrir la enfermedad, analizado con independencia del tipo de lactancia, se observó una reducción en el número de *Bifidobacterium* spp. y de la

especie *B. longum*; no obstante, la lactancia materna atenuó las diferencias y favoreció la colonización por especies de este género. También se observó un incremento del número de bacterias del género *Staphylococcus* asociado con el mayor riesgo genético, en niños lactantes, con leche materna y artificial. Además, se detectó un aumento en el número de *B. fragilis* asociado con el riesgo genético pero sólo en niños alimentados con fórmula.⁴ En un subgrupo de esta cohorte también se evaluó la colonización por especies del género *Bacteroides* mediante DGGE y se demostró que la diversidad en especies era mayor en los niños alimentados con lactancia artificial que en los niños alimentados con lactancia materna.²² El análisis de prevalencia, al considerar sólo el tipo de alimentación, mostró que la microbiota intestinal de los niños alimentados por lactancia artificial se caracterizaba por la presencia de *B. intestinalis* y la de los alimentados por lactancia materna por *B. uniformis*. Por otro lado, el análisis en función del genotipo demostró mayor diversidad en especies en los niños con bajo riesgo que en los de alto riesgo; además, se detectó mayor prevalencia de las especies *B. vulgatus* y *B. uniformis* que en los niños con alto y bajo riesgo, respectivamente. Al considerar las variables de tipo de lactancia y riesgo genético de manera conjunta, se concluyó que la prevalencia de *B. uniformis* caracterizaba la microbiota intestinal de los niños de bajo riesgo y estaba favorecida por la lactancia materna. Globalmente, se observó que la lactancia materna atenuaba las diferencias de la microbiota relacionadas con el genotipo, lo que podría explicar en parte el efecto protector que se le ha atribuido a la lactancia materna sobre el desarrollo de la EC.

3. Infecciones y enfermedad celíaca

Algunos estudios epidemiológicos han relacionado la incidencia de infecciones, de origen bacteriano o viral, con el riesgo de sufrir la EC. Se han propuesto varias hipótesis para explicar la asociación entre la incidencia de infecciones y la EC, incluyendo la similitud entre el antígeno bacteriano o viral y los péptidos inmunogénicos de la gliadina que podría provocar una reacción similar; y la sobre-estimulación del sistema inmune secundaria a una infección con producción de citoquinas inflamatorias TNF- α , INF- γ o IL-15 (revisado en Jabri y Sollid²³).

Un estudio realizado en Suiza en el que se analizaron los datos perinatales de más de tres mil niños que habían desarrollado la EC, mostró que el principal factor de riesgo para su aparición había sido la exposición a infecciones durante la etapa neonatal.²⁴ Un estudio posterior se centró en establecer una asociación a través de las diferencias en los niveles séricos de anticuerpos frente a algunos agentes infecciosos entre individuos sanos y celíacos. Los resultados mostraron una menor prevalencia de anticuerpos IgG en los pacientes celíacos, lo que sugirió que las infecciones por los tres virus testados (rubeola, citomegalovirus y el virus Epstein-Barr) podrían ejercer un efecto protector sobre el desarrollo de la EC.¹²

Kagnoff et al.²⁵ propusieron que la aparición de la EC podía desencadenarse a partir de una infección por el adenovirus tipo 12 por la similitud que la secuencia de la alfa-gliadina presenta con la proteína E1d de este virus. La detección de un incremento en los anticuerpos IgG frente a la proteína E1d en sueros de niños celíacos respecto a los niveles del grupo control, parecía respaldar esta hipótesis.²⁶ Sin embargo, otros estudios han llegado a conclusiones contradictorias. Así, Howdle et al.²⁷ no encontraron diferencias en los niveles séricos de esta proteína entre pacientes celíacos y controles. Otro agente infeccioso que se ha asociado a la EC en estudios epidemiológicos es el virus de la hepatitis C. Esta asociación se basó en el hecho de

que la incidencia de patologías hepáticas crónicas en pacientes con EC es 15 veces mayor que en la población no celíaca²⁸ y que en un 5% de los casos la aparición de patologías hepáticas autoinmunes se acompañan de celiaquía.²⁹ No obstante, a pesar de que este virus se considera un agente capaz de desencadenar procesos autoinmunes secundarios, los estudios no indican que exista un incremento de enfermedad celíaca en pacientes con hepatitis C,³⁰ y la asociación podría ser simplemente casual.³¹ Un estudio prospectivo con mil novecientos treinta y un niños con el genotipo de riesgo para la EC indicó que una mayor incidencia de infecciones por rotavirus, basada en los niveles séricos de anticuerpos frente a este patógeno, incrementaba el riesgo de sufrir la enfermedad. De igual manera, hay estudios que asocian la EC con infecciones por *Campylobacter jejuni*³² y *Giardia lamblia*³³ en casos individuales. Estas observaciones parecen sugerir la posible implicación de las infecciones gastrointestinales en el desencadenamiento de la EC, a través de un aumento de la permeabilidad intestinal, o bien, por una amplificación de la respuesta inmune frente a los péptidos del gluten.

4. Microbiota intestinal en pacientes celíacos

En los últimos años se han descrito alteraciones en la composición de la microbiota intestinal en biopsias y heces de niños y adultos celíacos en comparación con la de controles.^{7,8,34} El análisis microbiológico de biopsias duodenales por técnicas de hibridación *in situ* y citometría de flujo demostró que la relación entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en pacientes celíacos, en el momento del diagnóstico y tras el tratamiento con una dieta exenta de gluten durante al menos 2 años, era inferior a la detectada en individuos control, así como la relación entre bacterias potencialmente beneficiosas (*Bifidobacterium* + *Lactobacillus*) y potencialmente perjudiciales (*E. coli* + *Bacteroides*).⁷ Análisis realizados por PCR a tiempo real, han demostrado que el número de *Bacteroides* spp. de la microbiota duodenal y fecal de pacientes con enfermedad celíaca (tratados o no con dieta exenta de gluten) era superior a los detectados en individuos control.³⁴ El número de *E. coli* y *Staphylococcus* spp. también fue mayor en pacientes no tratados en comparación con controles, pero sus concentraciones se normalizaron tras el seguimiento de una dieta exenta de gluten. Las concentraciones de *Bifidobacterium* spp. y *B. longum* en heces y biopsias de pacientes celíacos fueron inferiores a las de controles, aunque en biopsias las diferencias fueron estadísticamente significativas sólo entre pacientes en el momento del diagnóstico y controles.⁸

El análisis de los grupos filogenéticos y la prevalencia de genes asociados a factores de virulencia en enterobacterias asiladas de heces de niños celíacos y sanos también han mostrado diferencias significativas.³⁵ El análisis de los grupos filogenéticos (A, B, C y D) de clones de *E. coli* demostró que en el grupo control no había diferencias en su proporción, mientras que en los dos grupos de niños celíacos los aislados comensales (A y B1) pertenecían, principalmente, al grupo filogenético A. En la distribución de los clones virulentos, representados por los grupos filogenéticos B2 y D, también se observaron diferencias entre los dos grupos de niños celíacos, siendo los aislados del grupo B2 los más frecuentes en casos de pacientes con EC activa y los del grupo D en pacientes con EC tratada con dieta sin gluten. Otros autores también describieron la mayor prevalencia de los grupos filogenéticos virulentos, especialmente el B, en pacientes con la enfermedad de Crohn y con colitis ulcerosa.³⁶ Además, en celíacos los clones de *E. coli* de los grupos filogenéticos virulentos (B2 y D) de niños con EC en fase activa y no activa presentaron una mayor carga de genes que codifican para factores de virulencia que aquellos aislados del

grupo control. La prevalencia de los genes que codifican para la fimbria P, la cápsula K5 y la hemolisina fue significativamente mayor en los dos grupos de celíacos que en los niños sanos. Estos resultados sugieren que la microbiota entérica de pacientes celíacos tiene un mayor potencial patogénico que la de sanos, lo que podría favorecer el desarrollo o agravar los síntomas de la enfermedad.³⁵ El análisis de aislados del género *Staphylococcus* en medio de cultivo selectivo también ha puesto de manifiesto que los niños celíacos, tratados y sin tratar, presentan mayor abundancia de *Staphylococcus epidermidis* con genes de resistencia a metacilina, que es uno de los principales patógenos implicados en infecciones nosocomiales.³⁷ Por último, el análisis de aislados del género *Bacteroides* ha permitido detectar un incremento de la especie *B. fragilis*, productora de metaloproteasas e implicada en infecciones oportunistas, en pacientes celíacos, tratados y no tratados, en comparación con sanos.³⁸

Globalmente, todos estos estudios indican que existen desequilibrios en la composición de la microbiota intestinal de pacientes celíacos en comparación con controles; el hecho de que estas alteraciones sólo se restablezcan parcialmente tras el seguimiento de una dieta sin gluten indica que no son sólo una consecuencia secundaria del proceso inflamatorio asociado a la fase activa de la enfermedad y que podrían jugar un papel más relevante en su etio-patogénesis.

5. Mecanismos de patogénesis de la microbiota

La tolerancia oral a los componentes de los alimentos constituye un proceso biológicamente complejo resultante de la interacción entre distintos factores ambientales y genéticos del individuo, y que puede depender de la edad, dosis y periodo postnatal de contacto con el antígeno, estructura y composición antigénica e integridad de la barrera intestinal y grado de activación del sistema inmune de la mucosa en el momento de la exposición.^{39,40} Los mecanismos mediante los que alteraciones de la microbiota intestinal pueden contribuir a la etiología o patogénesis de la EC derivan de su interacción con las células epiteliales e inmunocompetentes con activación de mecanismos de transmisión de señales y mediadores de la inflamación, su capacidad para degradar o reducir el glicocalix y mucus secretado que van a condicionar las propiedades barrera del epitelio intestinal y su posible translocación hasta la lámina propia.^{41,42}

Estudios *in situ* en asas intestinales de ratas han demostrado que la presencia de comensales potencialmente patógenos (*E. coli* CBL2) o patógenos (*Shigella*) agrava las alteraciones en la permeabilidad intestinal causada por las gliadinas y favorece la translocación de las mismas a la lámina propia.⁴³ En condiciones fisiológicas, el epitelio intestinal constituye una barrera casi impermeable a macromoléculas, sin embargo, la EC está asociada a un aumento de la permeabilidad intestinal⁴⁴ que facilita el acceso de los péptidos derivados de las gliadinas a la lámina propia y su interacción con los componentes responsables de la respuesta inmunológica. Las gliadinas, al igual que algunos patógenos, provocan alteraciones en proteínas relacionadas con las uniones intercelulares y relocalización de los distintos componentes moleculares (zonulina, ocludina, cadherina y claudinas) que las conforman.⁴⁵ La relocalización de los componentes en las uniones estrechas y el aumento de permeabilidad paracelular ocurren de modo paralelo a la respuesta inflamatoria con la producción de citoquinas como el factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interleuquina 1 β (IL-1 β). Éstas ejercen una función importante favoreciendo aún más el aumento de permeabilidad intestinal e infiltración linfocitaria^{46,47} y la activación del factor nuclear de transcripción kappa-B (Nf κ B).⁴⁸

La influencia de la microbiota y el genotipo sobre la composición del glicocalix del epitelio intestinal también se ha considerado un posible mecanismo de patogénesis en el contexto de la EC. El glicocalix en el epitelio intestinal tiene una función importante en la prevención del contacto directo de los compuestos ingeridos y patógenos intestinales con las células epiteliales.⁴³ Estudios previos han demostrado alteraciones en la proporción y/o composición de los glicoconjugados que componen el glicocalix y capa de mucus en pacientes celíacos.⁴⁹ Los pacientes celíacos presentan una mayor proporción de residuos de D-galactosa y $\alpha(1,2)$ -fucosa, si bien, estos no se encuentran en la mucosa de los individuos sanos⁴⁹ que si presentan residuos de β -gal(1 \rightarrow 3)galNAc.⁵⁰ Así se ha sugerido que patrones particulares de glicosilación podían favorecer la adhesión de diversos patógenos. Aunque, también se ha postulado que estos cambios en los patrones de glicosilación podrían ser motivados por alteraciones en la microbiota intestinal. Diversos estudios han demostrado modificaciones en los patrones de fucosilación y/o galactosilación de los distintos glicoconjugados en el epitelio intestinal de distintos modelos animales.⁵¹⁻⁵³ Sin embargo, se carece de estudios relativos a la función particular del genotipo del hospedador y la composición de la microbiota en los patrones de glicosilación y en el riesgo de padecer la EC.

La capa de mucus secretada al medio luminal constituye una barrera física a los componentes dietéticos y a las bacterias comensales y patógenas intestinales. Esta barrera depende en gran medida de su composición en diferentes mucinas.^{41,42} Estudios *ex vivo* han evidenciado mayores niveles de expresión (mRNA) de mucina tipo 2 (MUC2) en biopsias de pacientes celíacos en comparación con los niveles encontrados en biopsias de individuos sometidos a una dieta sin gluten.⁵⁰ La biosíntesis y secreción de MUC2 constituye un proceso que se ha asociado a un posible mecanismo de defensa del organismo frente a infecciones por patógenos intestinales,^{54,55} limitando también la proporción de comensales en contacto con la mucosa epitelial.⁵⁵ No obstante, la mayor expresión de MUC2 en pacientes celíacos también se ha asociado a metaplasia de células goblet⁵⁰ relacionada con atrofia y daño de la mucosa intestinal.⁵⁶ En este sentido, en asas intestinales de rata se ha demostrado que las gliadinas reducen el número de células productoras de mucus y que esta reducción es aún más acusada en presencia de patógenos intestinales (*Shigella* CBD8) y potenciales (*E. coli* CBL2).⁴³

También se ha postulado que la disbiosis intestinal detectada en individuos celíacos podría ser consecuencia de una alteración en la producción de péptidos antimicrobianos en el huésped como las defensinas (hD5 y hD6).⁵⁰ Sin embargo, otro estudio llevado a cabo en adultos celíacos con una dieta libre de gluten demuestra una menor expresión de hD1 en biopsias duodenales, mientras que la de hD2, -3 y -4 no sufren modificaciones significativas en sus niveles de expresión.⁵⁷ La producción de defensinas forma parte primordial en los mecanismos de defensa del hospedador y modula la composición del ecosistema intestinal.^{58,59} Estos péptidos se producen en respuesta a antígenos bacterianos como el lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gram negativas y el peptidoglicano (muramildipéptido) de bacterias Gram positivas.⁶⁰ A pesar que en individuos celíacos se ha detectado un menor número de copias de los genes que codifican defensinas, esto no siempre se relaciona con una reducción en la producción final de los péptidos activos.⁶¹

Los TLRs tienen una función primordial durante el desarrollo de la respuesta inmune innata frente a antígenos ambientales así como en la discriminación entre bacterias comensales y patógenos intestinales.⁶² La estimulación de los TLRs activa distintas vías de señalización y regula

la expresión de distintos genes y citoquinas inflamatorias lo que les confiere un papel crítico en la activación y severidad de la respuesta inmune innata. La respuesta frente a estos estímulos parece estar asociada a la interacción con las moléculas del sistema de histocompatibilidad (MHC-II) contribuyendo a la maduración de los linfocitos T “helper”.⁶³ Estudios recientes han sugerido la participación de los TLRs en la EC.⁶⁴⁻⁶⁶ En estos estudios se reporta una mayor expresión de TLR2⁶⁴⁻⁶⁶ y TLR9,⁶⁵ mientras que los resultados sobre el efecto en la expresión del TLR4 son más controvertidos.⁶⁴⁻⁶⁶ En ningún caso se reportan alteraciones significativas en la expresión de TLR3^{65,66} y/o TLR5.⁶⁵ Aunque recientes estudios *in vivo* han demostrado el papel crítico de la producción de interferón (IFN)- α/β en la activación y maduración de células T, CD4+ y CD8+, durante las fases iniciales de infecciones víricas.⁶⁷ El incremento en la expresión de TLR2 y TLR4 también se ha confirmado en células dendríticas y monocitos de niños celíacos incluso tras su tratamiento con dieta exenta de gluten.⁶⁸ Los diferentes estudios parecen sugerir que la señalización molecular a través de estos receptores, mediada por su interacción con componentes bacterianos como por ejemplo el LPS de bacterias Gram negativas, podría contribuir a la activación y severidad de la respuesta inmune innata y a la enteropatía. Además, distintos componentes de la familia de los TLRs, asociados a la señalización molecular por la vía MyD88, son potentes inductores de la producción de interferones tipo I con la consiguiente traducción de genes inducibles como respuesta a moléculas microbianas y/o víricas.⁶⁹ Esta interacción contribuye significativamente a la respuesta inmune mediada por células T.⁷⁰ Además, diversas citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF y los interferones también pueden favorecer la aparición de procesos autoinmunes.⁷¹

La posible influencia de las alteraciones de la composición de la microbiota intestinal en el proceso inflamatorio característico de la EC se ha evaluado principalmente mediante estudios *in vitro*.⁷² En este trabajo se detectó que la microbiota fecal de pacientes celíacos inducía mayor producción de citoquinas inflamatorias *in vitro* en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) que la de sanos, lo que podría contribuir al desarrollo del perfil de citoquinas tipo Th1 característico de la EC. Estudios posteriores confirmaron que cultivos puros de enterobacterias (*E. coli* IATA-CBL2 y *Shigella* IATA-CBD8), aisladas de heces de celíacos, activaban la secreción de IL-12 y/o IFN- γ asociada a un aumento en la expresión de moléculas HLA-DR y CD40 en PBMCs.⁷³ Estos resultados sugieren que determinados componentes de la microbiota alterada de celíacos junto con los péptidos del gluten podrían contribuir al proceso de inflamación de la EC. Utilizando un modelo de asas intestinales, la inoculación conjunta de *E. coli* IATA-CBL2, gliadinas e IFN- γ demostró su influencia negativa reduciendo la producción del inhibidor de metaloproteasas (TIMP-1) y una mayor secreción del factor de crecimiento endotelial (VEGF).⁷³ Además, recientes estudios *in vitro* sugieren un potencial papel en la EC para distintas cepas de *Bacteroides fragilis*, las cuales, presentan factores de virulencia que pueden favorecer la alteración de la permeabilidad del epitelio intestinal y contribuyen a la producción de patrones peptídicos derivados de las gliadinas con potencial inflamatorio.³⁸

En general, las evidencias científicas existentes, sugieren la convergencia parcial de los mecanismos de acción de los péptidos del gluten y de potenciales patógenos de la microbiota intestinal, que podría agravar la respuesta inflamatoria y la alteración de la permeabilidad intestinal en la EC.

6. Mecanismos de protección de potenciales probióticos

En base a las asociaciones establecidas entre la EC y la disbiosis intestinal, se ha sugerido la posibilidad de utilizar estrategias de intervención sobre el ecosistema intestinal, basadas en la administración de probióticos,^{3,74} para el restablecimiento y mantenimiento del estado de salud y la reducción del riesgo de enfermedad en estos pacientes. Los probióticos se han definido como microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas ejercen un efecto beneficioso sobre el huésped.⁷⁵ Entre los mecanismos por los que los probióticos podrían contribuir a la adquisición de tolerancia oral a los antígenos de la dieta, así como a reducir la severidad con que se presenta la EC y a la recuperación de los pacientes diagnosticados, se incluyen los efectos inmunomoduladores, la capacidad para hidrolizar y reducir la toxicidad de péptidos derivados de las gliadinas, la mejora de las propiedades barrera del epitelio intestinal y el restablecimiento de la composición de la microbiota intestinal.

Estudios comparativos entre animales libres de gérmenes y convencionales indican que la colonización del intestino por la microbiota es necesaria para el adecuado desarrollo de las respuestas inmunitarias de la mucosa y a nivel sistémico, como por ejemplo la producción de inmunoglobulinas y antígenos.⁷⁶ Estudios realizados con algunas cepas probióticas indican que tienen un papel importante en diversos procesos que dependen directamente del tejido linfoide asociado a mucosas, como la tolerancia oral a los antígenos ambientales y la propia microbiota comensal, y la liberación de quimioquinas y citoquinas que determina el equilibrio de las poblaciones linfocitarias Th1/Th2.⁷⁷ Además, pueden participar en la respuesta innata a través de su interacción con los TLRs de células epiteliales y presentadoras de antígenos. En el marco de la EC son relativamente escasos los estudios que han valorado la capacidad inmunomoduladora de cepas probióticas o bacterias potencialmente beneficiosas.^{74,78-80} El modelo de ratón transgénico que expresa las moléculas HLA-DQ8, sensibilizado con gliadina y adyuvante^{74,78,79} que presenta una respuesta celular característica Th1, aunque no desarrolla daño de la mucosa intestinal, ha sido utilizado para el valorar el efecto de distintas especies de lactobacilos (*L. paracasei*, *L. fermentum* y *L. casei*) y *Bifidobacterium lactis*. Estos estudios han demostrado que cepas de estas especies tienen un efecto activador más que supresor sobre la respuesta inmune innata y adaptativa. Al cultivar células dendríticas inmaduras de médula ósea, aisladas de estos animales, con los lactobacilos se favoreció la maduración de células dendríticas y en algunas la producción de TNF α específica frente a gliadinas, tanto *ex vivo*, como *in vivo*.⁷⁹ Además, la co-administración de *L. casei* a animales sensibilizados potenció la respuesta de células T CD4+ frente a gliadinas. En este contexto, se ha sugerido que la cepa *L. casei* ATCC 9595 podría ser utilizada como coadyuvante en vacunas favoreciendo la respuesta inmune celular.⁷⁸ Otro estudio realizado con la cepa *Bifidobacterium longum* CECT 7347 en ratas lactantes sensibilizadas con interferón- γ por vía intraperitoneal y a las que se administró gliadinas oralmente,⁸⁰ permitió reproducir parcialmente la enteropatía.^{80,81} En este modelo la administración de la bifidobacteria causó una menor proporción de células CD4+ y CD4+Foxp3+ (células T reguladoras) a nivel sistémico y redujo la producción de TNF- α y aumentó la de IL-10 en el intestino delgado, en comparación con el modelo de enfermedad al que se administró un placebo. En la modulación de la respuesta celular desencadenada por las gliadinas la producción de IL-10 desempeñan un papel fundamental, reduciendo la producción de IFN- γ y proliferación celular específica del antígeno y las células T reguladoras.^{82,83}

En este sentido, estudios *in vitro* también pusieron de manifiesto que distintas bifidobacterias (*B. longum* CECT 7347 y *B. bifidum* CECT 7365) ejercen un efecto positivo favoreciendo la producción de IL-10 e inhibiendo la de IFN- γ en células mononucleares aisladas de sangre periférica.⁷² Posteriores estudios *in vivo* con un modelo animal de asas intestinales demostraron que *B. bifidum* CECT 7365 promueve la proliferación de células “goblet” productoras de mucus, cuya proporción se reduce al aumentar la secreción de IFN- γ .⁴³ Además, con la administración conjunta de la bifidobacteria e IFN- γ no se observaron efectos negativos en la expresión de zonulina-1 y se cuantificó una mayor producción de factores quimiotácticos (MCP-1) e inhibidores de metaloproteasas (TIMP-1), evidenciando un menor daño tisular causado por el IFN- γ . Por otro lado, estudios *in vitro* han demostrado que la especie *B. longum* CECT 7347 es capaz de aumentar el grado de digestión de las gliadinas dando lugar a la aparición de patrones peptídicos con un menor potencial inflamatorio que los generados durante el proceso de digestión gastrointestinal.⁸⁴ En otros estudios también se ha detectado que distintas especies del género *Rothia*, principalmente presentes en la cavidad oral, poseen capacidad proteolítica sobre las gliadinas, pero su posible efecto *in vivo* se desconoce.^{85,86}

El potencial inmunomodulador de los probióticos también se ha demostrado en otras patologías inflamatorias o autoinmunes. En ratones que reproducen un modelo experimental de colitis se ha demostrado que algunas cepas probióticas, capaces de inducir *in vitro* la producción de IL-10 y disminuir IL-12, ejercen un efecto protector *in vivo* frente a la colitis.⁸⁷ De modo similar, se han demostrado efectos positivos del compuesto probiótico VSL#3 en la diabetes autoinmune de ratón.⁸⁸ En humanos, ciertos probióticos también han demostrado ser útiles en la remisión de la pouchitis, si bien, su eficiencia es más controvertida en pacientes con colitis ulcerosa y en enfermedad de Crohn.⁸⁹

En el contexto de la EC, los estudios realizados *in vitro* y en animales de experimentación sugieren que cepas como *B. longum* CECT 7347 podrían ejercer efectos protectores favoreciendo la síntesis de citoquinas anti-inflamatorias y reguladoras y reduciendo la respuesta inflamatoria y tóxica mediada por las gliadinas y las alteraciones de la microbiota; no obstante, se requiere de estudios en humanos con adecuado diseño experimental para valorar la eficacia y grado de protección que la bacteria evaluada en estudios preclínicos puede conferir a los pacientes.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado con los proyectos AGL2011-25169 y Consolider Fun-C-Food CSD2007-00063 del Ministerio de Economía y Competitividad español. M. Laparra posee un contrato postdoctoral del CSIC y M. Olivares una beca predoctoral del CSIC.

Referencias

1. Setty M, Hormaza L, Guandalini S. *Celiac disease: risk assessment, diagnosis, and monitoring*. Mol Diagn Ther. 2008; 12(5): 289-98.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF03256294>
2. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. *Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies*. Gastroenterology. 2009; 137(6): 1912-33.
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.008>
3. Sanz Y, De Palma 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>
4. De Palma G, Capilla A, Nova E, Castillejo G, Varea V, Pozo T et al. *Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: the PROFICEL study*. PLoS One. 2012; 7(2): e30791.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030791>
5. Pozo-Rubio T, Capilla A, Mujico JR, De Palma G, Marcos A, Sanz Y et al. *Influence of breastfeeding versus formula feeding on lymphocyte subsets in infants at risk of coeliac disease: the PROFICEL study*. Eur J Nutr. 2012; Doi: 10.1007/s00394-012-0367-8.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00394-012-0367-8>
6. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M et al. *The first large population based twin study of coeliac disease*. Gut. 2002; 50: 624-8.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.5.624>
7. 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: 1669-74. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.47410-0>
8. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and non-active coeliac disease*. BMC Microbiol. 2008; 8: 232. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-8-232>
9. Mooney PD, Evans KE, Singh S, Sanders DS. *Treatment failure in coeliac disease: a practical guide to investigation and treatment of non-responsive and refractory coeliac disease*. J Gastrointest Liver Dis. 2012; 21(2): 197-203.
10. Sanz Y. *Novel perspectives in celiac disease therapy*. Mini-Rev Med Chem. 2009; 9(3): 359-67. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557510909030359>
11. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55. <http://dx.doi.org/10.1038/nri885>
12. Plot L, Amital H, Barzilai O, Ram M, Nicola B, Shoenfeld Y. *Infections may have a protective role in the etiopathogenesis of celiac disease*. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1173: 670-84. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04814.x>
13. Persson LA, Ivarsson A, Hernell O. *Breast-feeding protects against celiac disease in childhood epidemiological evidence*. Adv Exp Med Biol. 2002; 503: 115-23.
http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-0559-4_13
14. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R et al. *The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease*. Pharmacol Res. 2012;
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2012.09.001>
15. Salminen S, Isolauri E. *Intestinal colonization, microbiota, and prebiotics*. J Pediatr. 2006; 149: S115-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.06.062>

16. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. *Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH)*. *Anaerobe*. 2011; 17(6): 478-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.009>
17. Van de Merwe JP, Stegeman JH, Hazenberg MP. *The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease?* *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1983; 49(2): 119-24. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00393669>
18. Zoetendal EG, Akkermans ADL, Akkermans-van Vliet WM, de Visser JAGM, de Vos WM. *The Host Genotype Affects the Bacterial Community in the Human Gastrointestinal Tract*. *Microb Ecol Health Dis*. 2001; 13(3): 129-34. <http://dx.doi.org/10.1080/089106001750462669>
19. Stewart JA, Chadwick VS, Murray A. *Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children*. *J Med Microbiol*. 2005; 54: 1239-42. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.46189-0>
20. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. *Development of the Human Infant Intestinal Microbiota*. *PLoS Biol*. 2007; 5(7): e177. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>
21. Toivanen P, Vaahtovuori J, Eerola E. *Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora*. *Infect Immun*. 2001; 69(4): 2372-7. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.4.2372-2377.2001>
22. Sánchez E, De Palma G, Capilla A, Nova E, Pozo T, Castillejo G et al. *Influence of environmental and genetic factors linked to celiac disease risk on infant gut colonization by Bacteroides species*. *Appl Environ Microbiol*. 2011; 77(15): 5316-23. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00365-11>
23. 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>
24. Sandberg-Bennich S, Dahlquist G, Källén B. *Coeliac disease is associated with intrauterine growth and neonatal infections*. *Acta Paediatr*. 2002; 91(1): 30-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2002.tb01635.x>
25. Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, Unsworth DJ et al. *Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease*. *Gut*. 1987; 28(8): 995-1001. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.28.8.995>
26. Lähdeaho ML, Lehtinen M, Rissa HR, Hyöty H, Reunala T, Mäki M. *Antipeptide antibodies to adenovirus E1b protein indicate enhanced risk of celiac disease and dermatitis herpetiformis*. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993; 101(3): 272-86. <http://dx.doi.org/10.1159/000236457>
27. Howdle PD, Blair Zajdel ME, Smart CJ, Trejdosiewicz LK, Blair GE, Losowsky MS. *Lack of a serologic response to an E1B protein of adenovirus 12 in coeliac disease*. *Scand J Gastroenterol*. 1989; 24(3): 282-96. <http://dx.doi.org/10.3109/00365528909093047>
28. Lindgren S, Sjöberg K, Eriksson S. *Unsuspected coeliac disease in chronic "cryptogenic" liver disease*. *Scand J Gastroenterol*. 1994; 29(7): 661-74. <http://dx.doi.org/10.3109/00365529409092489>
29. Volta U, De Franceschi L, Molinaro N, Cassani F, Muratori L, Lenzi M et al. *Frequency and significance of anti-gliadin and anti-endomysial antibodies in autoimmune hepatitis*. *Dig Dis Sci*. 1998; 43(10): 2190-5. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026650118759>

30. Hernández L, Johnson TC, Naiyer AJ, Kryszak D, Ciaccio EJ, Min A et al. *Chronic hepatitis C virus and celiac disease, is there an association?* Dig Dis Sci. 2008; 53(1): 256-61. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-007-9851-z>
31. Garg A, Reddy C, Duseja A, Chawla Y, Dhiman RK. *Association between celiac disease and chronic hepatitis C virus infection.* J Clin Exp Hepatol. 2011; 1(1): 41-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0973-6883\(11\)60116-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0973-6883(11)60116-3)
32. 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>
33. Verdú EF, Mauro M, Bourgeois J, Armstrong D. *Clinical onset of celiac disease after an episode of Campylobacter jejuni enteritis.* Can J Gastroenterol. 2007; 21(7): 453-5.
34. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease.* J Clin Pathol. 2009; 62(3): 264-9. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2008.061366>
35. Sánchez E, Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Reduced diversity and increased virulence-gene carriage in intestinal enterobacteria of coeliac children.* BMC Gastroenterol. 2008; 8: 50. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-8-50>
36. Kotlowski R, Bernstein CN, Sepehri S, Krause DO. *High prevalence of Escherichia coli belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease.* Gut. 2007; 56(5): 669-75. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.099796>
37. Sánchez E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Intestinal Staphylococcus spp. and virulent features associated with coeliac disease.* J Clin Pathol. 2012; 65(9): 830-4. <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2012-200759>
38. Sánchez E, Laparra JM, Sanz Y. *Discerning the role of Bacteroides fragilis in celiac disease pathogenesis.* Appl Environ Microbiol. 2012; 78(18): 6507-15. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00563-12>
39. Brandtzaeg P. *History of oral tolerance and mucosal immunity.* Ann N Y Acad Sci. 1996; 778: 1-27. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb21110.x>
40. Brandtzaeg P. *The gut as communicator between environment and host: immunological consequences.* Eur J Pharmacol. 2011; 668: S16-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.07.006>
41. Patsos G, Corfield A. *Management of the human mucosal defensive barrier: evidence for glycan legislation.* Biol Chem. 2009; 390(7): 581-90. <http://dx.doi.org/10.1515/BC.2009.052>
42. Koropatkin NM, Cameron EA, Martens EC. *How glycan metabolism shapes the human gut microbiota.* Nat Rev Microbiol. 2012; 10(5): 323-35. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2746>
43. Cinova J, De Palma G, Stepankova R, Kofronova O, Kverka M, Sanz Y et al. *Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: study in germ-free rats.* PLoS One. 2011; 6(1): e16169. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016169>
44. Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, De Rosa M et al. *Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity.* BMC Med. 2011; 9: 23. <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-9-23>

45. Clemente MG, 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>
46. Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. *Live Lactobacillus reuteri is essential for the Inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression*. Infect Immun 2004; 72(9): 5308-14. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.72.9.5308-5314.2004>
47. Victoni T, Coelho FR, Soares AL, de Freitas A, Secher T, Guabiraba R et al. *Local and remote tissue injury upon intestinal ischemia and reperfusion depends on the TLR/MyD88 signaling pathway*. Med Microbiol Immunol. 2010; 199(1): 35-42. <http://dx.doi.org/10.1007/s00430-009-0134-5>
48. Viatour P, Merville MP, Bours V, Chariot A. *Phosphorylation of NF-kappaB and IkappaB proteins: implications in cancer and inflammation*. Trends Biochem Sci. 2005; 30(1): 43-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2004.11.009>
49. Vecchi M, Torgano G, Tronconi S, Agape D, Ronchi G. *Evidence of altered structural and secretory glycoconjugates in the jejunal mucosa of patients with gluten sensitive enteropathy and subtotal villous atrophy*. Gut. 1989; 30: 804-10. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.30.6.804>
50. Forsberg G, Fahlgren A, Hörstedt P, Hammarström S, Hernell O, Hammarström ML. *Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood CD*. Am J Gastroenterol. 2004; 95: 894-904. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04157.x>
51. Umesaki Y, Okada Y, Matsumoto S, Imaoka A, Setoyama H. *Segmented filamentous bacteria are indigenous intestinal bacteria that activate intraepithelial lymphocytes and induce MHC class II molecules and fucosyl asialo GM1 glycolipids on the small intestinal epithelial cells in the ex-germ free mouse*. Microbiol Immunol. 1995; 39: 555-62.
52. Bry L, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. *A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem*. Science. 1996; 273: 1380-3. <http://dx.doi.org/10.1126/science.273.5280.1380>
53. Freitas M, Axelsson LG, Cayuela C, Midtvedt T, Trugnan G. *Microbial-host interactions specifically control the glycosylation pattern in intestinal mouse mucosa*. Histochem Cell Biol. 2002; 118: 149-61. <http://dx.doi.org/10.1007/s00418-002-0432-0>
54. Bergstrom KS, Kissoon-Singh V, Gibson DL, Ma C, Montero M, Sham HP et al. *Muc2 protects against lethal infectious colitis by disassociating pathogenic and commensal bacteria from the colonic mucosa*. PLoS Pathog. 2010; 6(5): e1000902. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000902>
55. Johansson ME, Ambort D, Pelaseyed T, Schütte A, Gustafsson JK, Ermund A et al. *Composition and functional role of the mucus layers in the intestine*. Cell Mol Life Sci. 2011; 68(22): 3635-41. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-011-0822-3>
56. Rothery GA, Day DW. *Intestinal metaplasia in endoscopic biopsy specimens of gastric mucosa*. J Clin Pathol. 1985; 38: 613-21. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.38.6.613>
57. Intrieri M, Rinaldi A, Scudiero O, Autiero G, Castaldo G, Nardone G. *Low expression of human beta-defensin 1 in duodenum of celiac patients is partially restored by a gluten-free diet*. Clin Chem Lab Med. 2010; 48(4): 489-92. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm.2010.098>
58. Salzman NH, Hung K, Haribhai D, Chu H, Karlsson-Sjöberg J, Amir E et al. *Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology*. Nat Immunol. 2010; 11(1): 76-83. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1825>

59. Salzman NH. *Paneth cell defensins and the regulation of the microbiome: détente at mucosal surfaces*. Gut Microbes. 2010; 1(6): 401-6.
<http://dx.doi.org/10.4161/gmic.1.6.14076>
60. Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hooper LV. *Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface*. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105: 20858-63.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0808723105>
61. Fernández-Jimenez N, Castellanos-Rubio A, Plaza-Izurrieta L, Gutierrez G, Castaño L, Vitoria JC et al. *Analysis of beta-defensin and Toll-like receptor gene copy number variation in celiac disease*. Hum Immunol. 2010; 71(8): 833-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2010.05.012>
62. Medzhitov R. *Toll-like receptors and innate immunity*. Nat Rev Immunol. 2001; 1: 135-45. <http://dx.doi.org/10.1038/35100529>
63. Frei R, Steinle J, Birchler T, Loeliger S, Roduit C, Steinhoff D et al. *MHC class II molecules enhance Toll-like receptor mediated innate immune responses*. PLoS One. 2010; 5(1): e8808. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008808>
64. Szebeni B, Veres G, Dezsofi A, Rusai K, Vannay A, Bokodi G et al. *Increased mucosal expression of Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in coeliac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007; 45(2): 187-93.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318064514a>
65. Kalliomäki M, Satokari R, Lähteenoja H, Vähämäki S, Grönlund J, Routi T et al. *Expression of microbiota, Toll-like receptors, and their regulators in the small intestinal mucosa in celiac disease*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2012; 54(6): 727-32.
<http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318241cfa8>
66. Eiró N, González-Reyes S, González L, González LO, Altadill A, Andicochea A et al. *Duodenal expression of toll-like receptors and interleukins are increased in both children and adult celiac patients*. Dig Dis Sci. 2012; 57(9): 22778-85.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10620-012-2184-6>
67. Huber JP, Farrar JD. *Regulation of effector and memory T-cell functions by type I interferon*. Immunology. 2011; 132(4): 466-74.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03412.x>
68. Cseh Á, Vásárhelyi B, Szalay B, Molnár K, Nagy-Szakál D, Treszl A et al. *Immune phenotype of children with newly diagnosed and gluten-free diet-treated celiac disease*. Dig Dis Sci. 2011; 56(3): 792-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-010-1363-6>
69. Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. *Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3*. Nature. 2001; 413: 732-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/35099560>
70. Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. *Toll-like receptor 3 control activation of adaptive immune responses*. Nat Immunol. 2001; 2: 947-50.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni712>
71. Drakesmith H, Chain B, Beverley P. *How can dendritic cells cause autoimmune disease?* Immunol Today. 2000; 21: 214-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5699\(00\)01610-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-5699(00)01610-8)
72. Medina M, De Palma G, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. *Bifidobacterium strains suppress in vitro the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients*. J Inflammation (London, U.K.). 2008; 5: 19.
<http://dx.doi.org/10.1186/1476-9255-5-19>

73. De Palma G, Cinova J, Stepankova R, Tuckova L, Sanz Y. *Pivotal advance: bifidobacteria and gram negative bacteria differentially influence immune responses in the proinflammatory milieu of celiac disease*. J Leukoc Biol. 2010; 87: 765-78.
<http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0709471>
74. D'Arienzo R, Stefanile R, Maurano F, Mazzarella G, Ricca E, Troncone R et al. *Immunomodulatory effects of Lactobacillus casei administration in a mouse model of gliadin-sensitive enteropathy*. Scand J Immunol. 2011; 74(4): 335-41.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02582.x>
75. FAO/WHO. *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. Report. 2002.
<ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>
76. Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R et al. *Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases*. Immunol Lett. 2004; 93(2-3): 97-108.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2004.02.005>
77. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. *Probiotics: effects on immunity*. Am J Clin Nutr. 2001; 73: 444S-50S.
78. D'Arienzo R, Maurano F, Luongo D, Mazzarella G, Stefanile R et al. *Adjuvant effect of Lactobacillus casei in a mouse model of gluten sensitivity*. Immunol Lett. 2008; 119: 78-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2008.04.006>
79. D'Arienzo R, Maurano F, Lavermicocca P, Ricca E, Rossi M. *Modulation of the immune response by probiotic strains in a mouse model of gluten sensitivity*. Cytokine. 2009; 48: 254-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2009.08.003>
80. Laparra JM, Olivares M, Gallina O, Sanz Y. *Bifidobacterium longum CECT 7347 modulates immune responses in a gliadin-induced enteropathy animal model*. PLoS One. 2012; 7(2): e30744. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030744>
81. Stepánková R, Kofronová O, Tucková L, Kozáková H, Cebra JJ, Tlaskalová-Hogenová H. *Experimentally induced gluten enteropathy and protective effect of epidermal growth factor in artificially fed neonatal rats*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003; 36: 96-104.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200301000-00018>
82. 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.
83. Salvati VM, Mazzarella G, Gianfrani C, Leving MK, Stefanile R, Giulio B et al. *Recombinant human interleukin 10 suppresses gliadin dependent T cell activation in ex vivo cultured coeliac intestinal mucosa*. Gut. 2005, 54(1): 46-63.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.023150>
84. Laparra JM, Sanz Y. *Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion*. J Cell Biochem. 2010; 109(4): 801-7.
85. Helmerhorst EJ, Zamakhchari M, Schuppan D, Oppenheim FG. *Discovery of a novel and rich source of gluten-degrading microbial enzymes in the oral cavity*. PLoS One. 2010; 5(10): e13264. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0013264>
86. Zamakhchari M, Wei G, Dewhirst F, Lee J, Schuppan D, Oppenheim FG et al. *Identification of Rothia bacteria as gluten-degrading natural colonizers of the upper gastro-intestinal tract*. PLoS One. 2011; 6(9): e24455.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024455>

87. Foligne B, Zoumpopoulou G, Dewul J, Younes BA, Charevre F, Sirard JC et al. *A key role of dendritic cells in probiotic functionality*. PLoS One. 2007; 2(3): e313.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0000313>
88. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S et al. *Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse*. Diabetologia. 2005; 48(8): 1565-75. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-005-1831-2>
89. Veerappan GR, Betteridge J, Young PE. *Probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease*. Curr Gastroenterol Rep. 2012; 14(4): 324-33.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11894-012-0265-5>