



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

TRABAJO FIN DE GRADO

Curso 2020-2021

MICROBIOTA INTESTINAL Y ENFERMEDAD CELIACA

AUTOR:

DANIEL SÁNCHEZ GARCÍA

TUTOR:

EDUARDO ARRANZ SANZ

RESUMEN

La enfermedad celiaca es una enteropatía autoinmune desencadenada por la ingesta de gluten en la dieta, que puede producir manifestaciones multisistémicas y afecta a individuos genéticamente predispuestos. Se estima que esta enfermedad tiene una prevalencia del 1 %, aunque muchos pacientes están sin diagnosticar. Se han estudiado factores ambientales diferentes al gluten para explicar la aparición de nuevos casos. Uno de los factores más investigados es la microbiota intestinal, y diferentes estudios han mostrado una relación entre la alteración de la microbiota (disbiosis) y la enfermedad celiaca.

En la actualidad el único tratamiento para esta enfermedad es la DSG, por este motivo se están investigando otras terapias complementarias a la DSG. Una de las que ha atraído mayor interés ha sido el uso de probióticos para mejorar esta enfermedad a través del aumento de bacterias beneficiosas y la disminución de marcadores de inflamación.

Para conocer la posible implicación de la microbiota y su alteración en esta enfermedad, y evaluar el uso de probióticos y otras alternativas terapéuticas, se ha realizado una revisión sistemática con búsqueda bibliográfica en bases de datos y editoriales de artículos publicados en los últimos 7 años.

Se ha incluido un total de 26 artículos que han confirmado la alteración de la microbiota intestinal (disbiosis) observada en los pacientes celíacos, y los efectos beneficiosos que proporciona el uso de probióticos como terapia complementaria a la DSG. Al mismo tiempo, gracias a la revisión de estos artículos se ha podido describir varias posibles terapias de sustitución de la DSG que han mostrado efectos positivos en pacientes celíacos, aunque se encuentran todavía en fases iniciales de investigación.

Palabras clave: Enfermedad celiaca, microbiota intestinal, microbioma humano, microbiota y enfermedad celiaca, probióticos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Enfermedad celíaca	5
1.1.1 Definición	5
1.1.2 Epidemiología.....	5
1.1.3 Patogenia.....	6
1.1.4 Manifestaciones clínicas.....	6
1.1.5 Grupos de riesgo	7
1.1.6 Diagnóstico.....	7
1.1.7 Tratamiento de la enfermedad celiaca	8
1.2 Microbiota intestinal.....	9
1.2.1 Definiciones.....	9
1.2.2 Composición bacteriana de la microbiota.....	9
1.2.3 Funciones de la microbiota	10
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGÍA	11
4. RESULTADOS	13
4.1. Alteración de la microbiota en la enfermedad celiaca: Disbiosis.	13
4.2. Papel de la microbiota en el metabolismo del gluten.....	14
4.3. Papel de los probióticos en la EC.	14
4.4. Opciones de sustitución de la Dieta Sin Gluten.	15
4.4.1. Eliminación de la toxicidad del gluten.....	15
4.4.2. Terapias lumbinales.....	16
4.4.3. Terapias de fortalecimiento de la barrera	16
4.4.4. Terapias dirigidas al control de la respuesta inmune frente al gluten.....	16
4.4.5. Terapia con vacunas.....	17
5. DISCUSIÓN	18
6. CONCLUSIONES	21
7. BIBLIOGRAFÍA	22

ABREVIATURAS

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta.

DSG: Dieta sin gluten.

EC: Enfermedad celiaca.

FACE: Federación de Asociaciones de Celíacos de España.

FPG: Familiar de primer grado.

GI: Gastrointestinal.

HLA: Antígenos Leucocitarios Humanos

IgA: Inmunoglobulina A.

IL: Interleucina

INF- γ : Interferón gamma.

LA: Lactancia materna.

sIgA: IgA secretora.

TGt: Transglutaminasa tisular

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedad celíaca

1.1.1 Definición

La enfermedad celiaca es una enteropatía autoinmune de carácter crónico que produce una respuesta inmunitaria inapropiada frente al gluten o proteínas de algunos cereales en sujetos genéticamente predispuestos. Esta enfermedad cursa con una atrofia de las vellosidades del intestino delgado y como consecuencia se produce una malabsorción de nutrientes que puede generar déficits nutricionales.^{1, 3,4}

Las proteínas del endospermo del grano de trigo forman una mezcla compleja que, de acuerdo a sus propiedades estructurales y solubilidad, incluye 4 fracciones: albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas. Gluten es el término genérico que reciben gliadinas y gluteninas (prolaminas), y proteínas similares en cebada y centeno (hordeínas y secalinas, respectivamente) que se caracterizan por su alto contenido de los aminoácidos glutamina y prolina.²

1.1.2 Epidemiología

De acuerdo a varios estudios realizados en América y Europa, la prevalencia de la enfermedad celíaca a nivel mundial se sitúa en torno al 1 %. La proporción según algunos estudios es de 1/266, es decir, 1 de cada 266 personas es celíaca y además es una enfermedad infradiagnosticada, ya que se cree que hay entre 5-15 personas sin diagnosticar por cada persona diagnosticada.^{1, 4}

Según FACE (Federación de Asociaciones de Celíacos de España) esta enfermedad afecta más a mujeres que a hombres en una proporción de 2:1, es decir, por cada dos mujeres celíacas hay un hombre que es celíaco.^{2, 4}

Otros estudios realizados en niños han mostrado que la prevalencia de esta enfermedad en niños menores de 10 años se sitúa entre el 6 y 8%.⁵

La edad media entre la población infantil es de 0,68 años, y entre la población adulta de 29,71 años. Esta enfermedad tiene una media de 5,15 años de retraso diagnóstico. La prevalencia es de 7,06 % entre familiares de primer grado.⁶

1.1.3 Patogenia

La enfermedad celíaca es el resultado de la interacción entre factores ambientales, como es el gluten, y factores genéticos e inmunológicos.^{3, 4, 7, 8}

Se conoce desde hace años la existencia de una alta asociación entre los genes codificantes para las moléculas HLA de clase II y la EC. En concreto, son los alelos específicos que codifican para las moléculas DQ2.5 y DQ8 (*HLA-DQA1*05*, *HLA-DQB1*02*, *HLA-DQA1*03* y *HLA-DQB1*03:02*).

Estas moléculas están formadas por un heterodímero α/β que se encuentra en la membrana de las células responsables de la presentación de antígeno a los linfocitos T, y el 95 % de la población con EC presenta los alelos de riesgo que codifican para estas moléculas.^{3, 4, 7, 8}

En un principio se pensaba que la EC se producía como consecuencia de una respuesta inmune adaptativa, pero en algunos estudios se ha visto que la inmunidad innata también está altamente relacionada con esta enfermedad, por tanto, podemos afirmar que el gluten desencadena respuestas inmunes tanto adaptativa como innata.^{3, 7, 8}

En la respuesta inmune adaptativa, el principal elemento son los linfocitos T CD4+ situados en la lámina propia debido a que son capaces de reconocer los fragmentos de gliadina no digeridos. Las prolaminas son la diana del enzima transglutaminasa tisular (TG2) que cambia los residuos de glutamina por ácido glutámico (desamidación) que tiene carga negativa. Este cambio lleva a la activación de una respuesta anormal del sistema inmunitario frente al gluten.^{3, 7, 8}

En cuanto a la respuesta inmune innata, se piensa que el elemento principal por el que se produce es la IL-15. Esta citocina interviene en la reprogramación de los linfocitos intraepiteliales (CD8+), que se convierten en células citotóxicas al adquirir receptores activadores de linfocitos NK, como NKG2D, cuyo ligando son las moléculas de estrés, como MICA, expresadas por los enterocitos. El resultado es la destrucción del epitelio intestinal.^{7, 8}

1.1.4 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones de la EC son muy variadas y heterogéneas, variando estas en función de la edad del paciente. Según algunos estudios tanto síntomas como signos se agrupan en tres grupos de edad que son infancia, adolescencia y edad adulta.^{1, 2, 8}

Los síntomas y signos principales de la EC son: pérdida de peso, pérdida de apetito, náuseas y vómitos, diarrea, distensión abdominal, dolor abdominal, anemia, pérdida de masa muscular, retraso del crecimiento y alteraciones del carácter.

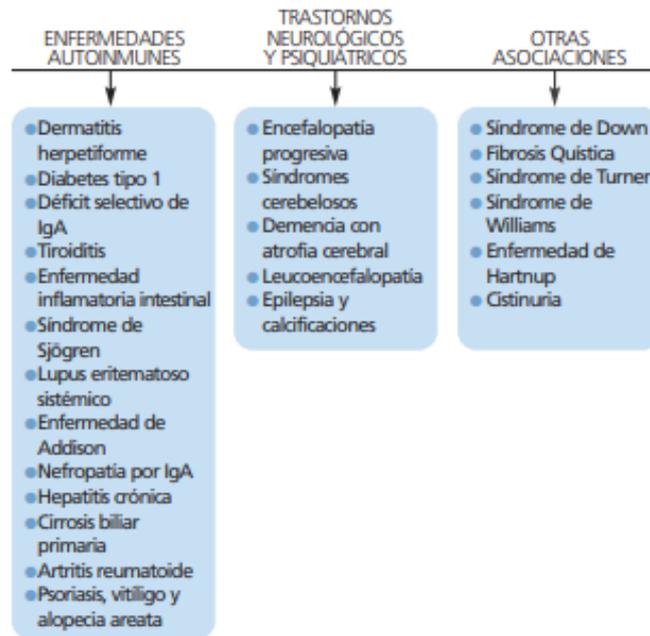


Figura 1: Principales grupos de riesgo de padecer enfermedad celiaca (tomada de referencia 1)

1.1.5 Grupos de riesgo

Los dos principales grupos de riesgo que pueden padecer EC son los familiares de primer grado de enfermos celíacos y todos aquellos pacientes con enfermedades asociadas a EC como, por ejemplo, otras enfermedades autoinmunes, y trastornos neurológicos y psiquiátricos.¹ (Figura 1).

1.1.6 Diagnóstico

En primer lugar, se debe establecer un diagnóstico de sospecha mediante una anamnesis adecuada, un examen clínico y una analítica con marcadores serológicos propios de esta enfermedad, como son los anticuerpos anti-gliadina, anti-endomisio y anti-transglutaminasa tisular (TGt) en suero.

En la EC no siempre es posible realizar un diagnóstico clínico o funcional debido a la gran variedad de formas clínicas de EC que existen, por este motivo se debe realizar una biopsia intestinal para establecer un diagnóstico de certeza. Esta biopsia consiste en la extracción de tejido intestinal a nivel duodeno-yeyunal sin retirar el gluten de la dieta y comprobar si existe daño.^{1, 2, 4, 7}

Los **marcadores serológicos** son de gran utilidad, gracias a ellos se puede detectar a los individuos con mayor probabilidad de padecer EC, pero una prueba de resultado negativo no descarta un diagnóstico de EC.^{1, 2, 4}

En la actualidad el único marcador serológico utilizado es la determinación de anticuerpos anti-transglutaminasa (TGt), ya que los anticuerpos anti-gliadina y anti-endomisio presentan una baja sensibilidad y especificidad.^{7,8}

También es importante determinar en analítica los niveles de inmunoglobulina A (IgA), puesto que los anticuerpos anti-TGt son de tipo IgA y un déficit de esta podría producir un falso negativo en la prueba.^{7,8}

Las **pruebas genéticas** son otro método de ayuda diagnóstica muy útil ya que tienen un valor predictivo negativo. La mayoría de enfermos celíacos presentan HLA-DQ2/DQ8, por lo tanto, un resultado negativo en esta prueba permite excluir la EC con un 99% de certeza. Un resultado positivo en esta prueba no confirma la enfermedad.¹

Por último, se debe realizar un seguimiento del paciente una vez que comienza con la dieta sin gluten, para verificar que esta tiene un efecto positivo. La mejoría clínica suele ser inmediata pero la recuperación intestinal es más lenta.^{1,4,7,8}

1.1.7 Tratamiento de la enfermedad celíaca

En la actualidad, el único tratamiento efectivo y seguro para la EC, es la dieta estricta exenta de gluten de por vida.^{1,2,4,7,8} A las dos semanas de comenzar esta dieta, se ha observado una mejoría de los síntomas; a los 6-12 meses se produce una normalización serológica; y a los 2 años comienzan a recuperarse las vellosidades intestinales.¹

Esta dieta no es fácil de seguir y muchos de los pacientes no la realizan al 100 %, por este motivo, es importante contar con Dietistas-Nutricionistas que ayuden al paciente en la realización de esta dieta.⁸

Para conseguir una óptima dieta sin gluten, esta debe basarse en alimentos naturales como carnes, huevos, leches, pescado, legumbres, frutas, verduras y cereales sin gluten, como el maíz o arroz, también se puede incluir avena siempre y cuando el etiquetado especifique que no contiene gluten.¹

Por último, es necesario recordar que los productos etiquetados sin gluten pueden contener pequeñas cantidades del mismo. Podemos encontrar productos sin gluten que deben contener menos de 20 ppm mg/kg y productos muy bajos en gluten que deben contener menos de 100 ppm mg/kg. Esta cantidad puede causar daño a las personas celíacas por lo que la única mención será la de sin gluten.^{2,8}

En la actualidad, se están investigando nuevas estrategias terapéuticas como, por ejemplo, la obtención de harinas sin capacidad inmunogénica, o el desarrollo de agentes que inactiven la toxicidad del gluten en la luz intestinal.

Otros estudios se basan en la modulación de la respuesta inmune frente al gluten, pero una de las líneas más prometedoras es la investigación del papel de la microbiota intestinal y el uso de probióticos en la EC.⁸

1.2 Microbiota intestinal

1.2.1 Definiciones

El término **microbiota** se refiere a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un determinado nicho ecológico.

El **microbioma** es el conjunto formado por microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado. Este microbioma es muy diverso y alberga más de 1000 especies bacterianas diferentes, principalmente bacterias de tipo anaerobio. Se estima que hay entre 10^{13} - 10^{14} microbios, y la relación con las células eucariotas humanas sería de 1:10, es decir 1 célula por cada 10 microbios.^{9, 10, 11}

Los **probióticos** son un conjunto de microorganismos vivos que una vez ingeridos aportan propiedades beneficiosas para el huésped.¹⁵

Los **prebióticos** son un conjunto de sustancias de la dieta no digeribles por enzimas y que sirven de alimento para la microbiota intestinal favoreciendo su crecimiento.¹⁵

1.2.2 Composición bacteriana de la microbiota

Los microorganismos que componen la microbiota intestinal pertenecen principalmente al dominio bacteria, pero hay que destacar también la presencia de virus, hongos y arqueas.^{9, 10, 11, 12}

Las principales bacterias de la microbiota pertenecen a 5 grandes filos^{9, 11, 12, 13, 14}:

- **Firmicutes** (60-80%): Las principales especies que lo componen son Lactobacillus, Clostridium, Ruminococcus.
- **Bacteroidetes** (20-30%): Formado principalmente por Bacteroides y Prevotella.
- **Actinobacterias** (< 10%): compuesto principalmente por bifidobacterium.
- **Proteobacterias** (< 1%): formado principalmente por Escherichia y Enterobacteriaceae.
- **Fusobacteria y Verrucomicrobia** en menor proporción.

La cantidad y tipos de bacterias varían a lo largo del tubo digestivo, debido a condiciones de cada una de las zonas, como la temperatura, osmolaridad, suministro de alimentos y cantidad de oxígeno disponible.^{9, 13}

El pH ácido del estómago hace que solo puedan sobrevivir microorganismos como *Helicobacter pylori*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*^{9, 13}

En el intestino delgado, el pH es de 4 y hay poco oxígeno, a esta altura del tubo digestivo se dan bacterias de los géneros *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*.^{9, 13}

En la parte final del intestino delgado, aumenta la diversidad de microorganismos y se dan también bacterias de los géneros *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* y *Veillonella*.^{9, 13}

En el intestino grueso, el pH es de 7 (neutro) y, además, hay una gran cantidad de alimento disponible para los microorganismos como por ejemplo proteínas e hidratos de carbono. En esta zona del tubo digestivo hay una cantidad de bacterias entre 10^{10} - 10^{11} , y predominan los géneros *Faecalibacterium*, *Escherichia* y *Bifidobacterium*. Esta zona también suele estar muy poblada por virus y hongos.^{9, 13}

Se ha descrito que la microbiota puede agruparse en diferentes enterotipos teniendo en cuenta el género predominante de bacterias. De esta forma se describen tres enteriotipos diferentes^{11, 12}:

- **Enterotipo 1:** Predominio de *Bacteroides*, que obtienen energía de la fermentación de HCO y proteínas, además se ha relacionado con una dieta rica en proteínas y grasas.
- **Enterotipo 2:** Predominio de *Prevotella*, capaz de degradar la mucina de la mucosa del intestino. Se ha relacionado con una dieta rica en HCO.
- **Enterotipo 3:** Predominio de *Ruminococcus*, capaces de degradar mucina.

1.2.3 Funciones de la microbiota

Se han establecido tres funciones principales de la microbiota^{9, 10, 11, 12, 14}:

- **Funciones metabólicas:** Metaboliza principalmente sustratos y residuos no digeribles provenientes de la dieta, como por ejemplo los hidratos de carbono. Esto supone la formación de AGCC que posteriormente serán absorbidos por el huésped. Otras funciones incluyen la síntesis de vitaminas (K, B₁₂, biotina, ácido fólico y pantoténico), y de aminoácidos a partir de amoníaco y urea.
- **Funciones de protección:** La principal función protectora es la del efecto barrera que se produce gracias a que ciertas bacterias son capaces de producir sustancias antimicrobianas llamadas bacteriocinas. Además, esta protección se debe también a que las bacterias, tanto propias como oportunistas, compiten por los mismos recursos.

- **Funciones tróficas:** Principalmente controlan la proliferación y diferenciación de células epiteliales, así como la maduración y desarrollo del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal.

2. OBJETIVOS

Debido a la gran importancia que está obteniendo la microbiota intestinal en los últimos años, y su posible relación con la enfermedad celíaca, el objetivo principal de este TFG, en su modalidad de revisión bibliográfica/sistemática, ha sido describir la relación de la microbiota intestinal con esta enfermedad. Para ello, los objetivos específicos han sido los siguientes:

- Revisar los conocimientos básicos actuales sobre la enfermedad celíaca.
- Conocer la microbiota intestinal y su posible implicación en esta enfermedad.
- Describir la información científica relacionada con la hipótesis de la disbiosis y su papel en la enfermedad celiaca.
- Valorar la utilidad de tratamientos basados en probióticos y otras alternativas terapéuticas como la eliminación de la toxicidad del gluten, fortalecimiento de la barrera intestinal, terapias lumbinales y terapias dirigidas a la inmunidad.

3. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión sistemática con búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como, por ejemplo, Pubmed, Scielo y Elsevier como editorial principal, durante un periodo de tiempo comprendido entre el 1 de diciembre y el 10 de mayo de 2021. Para realizar la búsqueda se han utilizado palabras clave como *celiac disease*, *gut microbiota*, *human microbiome*, *microbiota and celiac disease*, *probiotics*.

La principal base de datos utilizada ha sido Pubmed. Muchos de los artículos encontrados aquí pertenecen a revistas científicas como Nutrients, Gastroenterología y Hepatología, Journal of Clinical Gastroenterology y The British Journal of Nutrition. Por último, se recopilaron estudios científicos a partir de la revisión de la bibliografía de algunos de los artículos incluidos en esta revisión. Estos artículos han sido incluidos por cumplir también los criterios de inclusión establecidos para este trabajo.

Tras la búsqueda bibliográfica se obtuvieron un total de 67 artículos, de los cuales se seleccionaron 26 artículos publicados entre 2013 y 2020 en base a los siguientes criterios de inclusión:

- Idioma inglés o español.
- Fecha de publicación en los últimos 7 años.
- Revisión sistemática, estudios experimentales o ensayos clínicos.

4. RESULTADOS

4.1. Alteración de la microbiota en la enfermedad celiaca: Disbiosis.

Los pacientes con EC presentan una alteración de la microbiota intestinal (disbiosis) que puede estar causada por la dieta sin gluten (DSG) seguida por estos pacientes.¹⁶

En diferentes estudios se ha analizado la microbiota fecal de personas sanas tras realizar una DSG durante un determinado periodo de tiempo. Se observó una disminución de bacterias beneficiosas como, por ejemplo, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *B. Longum* y *Veilonellaceae*. También se observó un aumento de bacterias gram-negativas tipo proteobacterias patógenas como *E. Coli* y *Enterobacteriaceae*. Esta proliferación de bacterias patógenas se asocia con una disminución en el consumo de prebióticos característico de la DSG.^{16, 17, 18, 19}

También se compararon las muestras fecales de personas con DSG y las de personas con una dieta normal. Se observó que las personas con DSG presentan menor producción de citocinas proinflamatorias, como $TNF\alpha$, $IFN\gamma$ e IL-8, y también de antiinflamatorias, como IL-10.^{16, 17, 18, 19}

En un estudio observacional, prospectivo, de 5 años de duración, se seleccionaron 127 recién nacidos a término con al menos un FPG con EC. Se clasificó a los RN en 3 grupos: alto riesgo genético (20% de riesgo de desarrollar EC), moderado riesgo genético (7% de riesgo de desarrollar EC), bajo riesgo genético. Se recogieron muestras fecales en casa a los 7 días, 1 mes y 4 meses de edad. También se tuvo en cuenta el tipo de alimentación, mediante lactancia materna o lactancia artificial. Se observó que aquellos alimentados con lactancia artificial presentaban una mayor proporción de *C. Perfringens* y *C. Difficile*.²⁰

En otro estudio observacional, prospectivo se seleccionaron 55 niños a los 4 meses de edad con un FPG con EC. Se clasificaron según al tipo de parto, ingesta materna de antibióticos durante el embarazo y durante el parto, tipo de lactancia, infecciones tempranas y toma de antibióticos. Tras analizar las muestras se observó que aquellos nacidos por cesárea presentan menor cantidad de *Bifidobacterium catenulatum* y mayor cantidad de *B. angulatum*. También se observó que aquellos que fueron alimentados por lactancia artificial presentaron un mayor número de células CD3+, CD4+, CD4+CD38+, CD4+CD28+ y CD3+CD4+ CD45RO+. Es decir, linfocitos T con características de células efectoras y células de memoria.²¹

4.2. Papel de la microbiota en el metabolismo del gluten.

La microbiota intestinal puede jugar un papel importante en el metabolismo del gluten, contribuyendo a la etiopatogenia de la EC. Uno de los mecanismos que implican a la microbiota es su actividad proteolítica que podría generar péptidos derivados del gluten tóxicos e inmunogénicos.¹⁶

Otros estudios plantean que algunos péptidos del gluten (gliadinas) son resistentes a las enzimas digestivas y, por tanto, no son hidrolizados. Estos péptidos sin digerir pueden tener efectos sobre las proteínas que forman las uniones estrechas del intestino y aumentar la permeabilidad intestinal. Esto facilitaría el acceso de fragmentos de gliadina a la lámina propia, donde los linfocitos T específicos de gluten reconocerían algunos péptidos de gliadina unidos a moléculas HLA-DQ en la membrana de células presentadoras de antígenos, activando así una respuesta inmune específica.^{16, 22, 23, 24}

En otro de los estudios se comparó la microbiota fecal de 62 pacientes. De estos pacientes 23 eran celíacos, con dieta normal y portadores de genes HLA-DQ2/DQ8, anticuerpos antitransglutaminasa tisular (Anti-tTG) positivos y lesión de las vellosidades intestinales Marsh grado 2. Se incluyó también un total de 15 familiares de primer grado sanos de pacientes celíacos, con anticuerpos negativos y sin lesión en las vellosidades intestinales, y 24 controles con EC pero con anticuerpos negativos y biopsia normal. Se observó que en los pacientes celíacos la capacidad de degradación del gluten estaba reducida. Además, la microbiota intestinal de los pacientes celíacos se caracterizaba por los géneros *Megasphaera* y *Helicobacter*, y una disminución de *Ruminococcus*, *Intestinibacter*, *Parvimonas*, *Granulicatella*, *Gemella*, *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Anaerostipes*, en comparación con los FPG sanos.²⁵

4.3. Papel de los probióticos en la EC.

En un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo, se valoró el efecto de la administración de *B. longum* CECT 7347 por vía oral a niños diagnosticados de EC después de una DSG durante 3 meses. Se observó que la adherencia a la DSG, con y sin suplementación de *B. longum* CECT 7347, produjo efectos positivos sobre el crecimiento en los niños del estudio. La administración de CECT 7347 condujo a un aumento en el percentil de altura en comparación con el placebo. La adherencia a una DSG se asocia con el aumento del percentil de altura y la disminución del déficit de peso. Además, se observó que la administración de *B. longum* CECT 7347 causó disminuciones significativas en los linfocitos T CD3+, linfocitos T activados/ efectores, y de los niveles de TNF- α , así como una disminución de *Bacteroides Fragilis* y IgA en heces, en comparación con el placebo.^{16, 26}

En otro de los estudios, también aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo, se administró *B. infantis* NLS a pacientes con EC sin tratamiento que consumían gluten, para evaluar el efecto del probiótico independientemente de la DSG. Los efectos beneficiosos ejercidos por *B. infantis* NLS fueron la reducción de algunos síntomas gastrointestinales, como la sensación de indigestión, el estreñimiento y el reflujo, pero no se observó una mejoría en síntomas como la diarrea o el dolor abdominal, tampoco modificó la permeabilidad intestinal o el estado pro-inflamatorio.^{16, 27}

En un nuevo estudio aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo, se evaluó el efecto de la combinación de las cepas *B. breve* BR03 y B632, en comparación con un placebo, tanto en niños con EC que seguían una DSG como en niños sanos. Este estudio ha confirmado que las cepas de *B. breve* BR03 y *B. breve* B632 reducen los marcadores de inflamación, en concreto la citoquina TNF- α , en los niños con EC.^{16, 28}

Finalmente, en otro estudio doble ciego y controlado por placebo, se estudiaron 40 pacientes celíacos y 16 niños sanos en el grupo control. Los pacientes celíacos se dividieron en dos grupos, 20 pacientes que recibieron una formulación probiótica con 2 cepas de *B. breve* durante tres meses, y otros 20 pacientes en el grupo placebo. Se analizaron las muestras fecales de niños celíacos antes de la administración del probiótico o placebo. Se observó un descenso en la proporción de Firmicutes/Bacteroidetes, así como la disminución de Actinobacteria y Euryarchaeota, en comparación con los niños sanos. Tras la administración del probiótico, se observó también un aumento de Actinobacteria y el restablecimiento de Firmicutes/Bacteroidetes.^{16, 29}

4.4. Opciones de sustitución de la Dieta Sin Gluten.

4.4.1. Eliminación de la toxicidad del gluten

Se han publicado varios estudios proponiendo el uso de herramientas de ingeniería genética para disminuir la expresión génica mediante ARN de interferencia (iARN), con el objetivo de reducir la expresión de gliadinas y gluteninas de bajo peso molecular en el pan de trigo. Los resultados han mostrado la utilidad del iARN para silenciar genes específicos que corresponden a las proteínas de gluten que son la fuente de péptidos inmunogénicos.^{30, 31, 32}

Otra estrategia alternativa para eliminar la toxicidad del gluten es la digestión de péptidos de gluten inmunogénicos, mediante peptidasas, durante el procesamiento de alimentos y antes de su consumo por los pacientes con EC. A diferencia de las proteasas digestivas de los seres humanos, las enzimas proteolíticas de plantas, hongos y microorganismos pueden hidrolizar los péptidos tóxicos de los alimentos.³⁰

4.4.2. Terapias lumbinales.

Las terapias lumbinales consisten en neutralizar el gluten en la luz del intestino delgado. La terapia de digestión enzimática oral consiste en inactivar los péptidos de gluten en el tracto gastrointestinal. Las enzimas más ampliamente estudiadas son las prolil-endopeptidasas que no están presentes en humanos. Las PEP de *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata* y *Myxococcus xanthus*, son capaces de degradar regiones inmunogénicas presentes en las proteínas del gluten. Estudios *in vitro* han demostrado que las PEP presentan actividad a un pH ácido, resisten la digestión por parte de la pepsina y degradan péptidos inmunogénicos del gluten. Además, presenta una vida media que oscila entre 2 y 6 minutos^{30,33, 34}

4.4.3. Terapias de fortalecimiento de la barrera

Algunos estudios han observado que el acetato de lazarotide modula las uniones estrechas del intestino y previene el aumento de la permeabilidad intestinal inducida por el gluten. También se observó que este producto reducía los síntomas gastrointestinales inducidos por gluten, y los niveles de IFN- γ .^{30, 35, 36}

En un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo, se seleccionaron 342 pacientes con EC, que habían seguido una DSG durante 12 meses y la mantenían durante el estudio. Se evaluó el acetato de lazarotide en cantidades de 0.5, 1 o 2 mg tres veces al día para aliviar los síntomas. El estudio se realizó en tres fases, una primera con placebo de 4 semanas, un tratamiento de 12 semanas y una fase de eliminación con placebo de 4 semanas. Se observó que la dosis efectiva es de 0,5 mg de acetato de lazarotide para la reducción de los síntomas GI y no GI.³⁷

4.4.4. Terapias dirigidas al control de la respuesta inmune frente al gluten

Otros estudios tienen el objetivo de desarrollar diferentes estrategias para modificar la respuesta inmune frente al gluten en el intestino de los pacientes con EC. Algunas de estas estrategias se centran en bloquear la transglutaminasa-2 (TG2), o las moléculas HLA-DQ, y de la citocina IL-15 mediante anticuerpos monoclonales, o el uso de nanopartículas para capturar gluten, así como, estrategias de vacunación.^{30, 36}

Se ha observado que la molécula ZED 1227 actúa como inhibidor de TG2, debido a una unión covalente en los sitios activos de TG2.^{30, 36}

Por otro lado, estudios de bloqueo de las moléculas HLA DQ2 / DQ8 han confirmado que esta estrategia tiene potencial para disminuir los efectos tóxicos inducidos por el gluten. La terapia consiste en administrar análogos de péptidos que bloquean los sitios

de unión de estas moléculas con los péptidos de gliadina, para prevenir la presentación de péptidos inmunogénicos y la respuesta inmune.^{30, 36}

También se ha observado que la citocina IL-15 puede ser inhibida mediante Hu-Mik- β -1, un anticuerpo monoclonal capaz de suprimir la acción de IL-15 por saturación de la subunidad IL-2 / IL-15R β , e inhibición de la producción de IL-2 o IL-15.^{30, 36}

En un estudio in vitro, se seleccionaron 104 ratones a los que se les administró diferentes sistemas orales de nanopartículas en microesferas. Se observó que las nanopartículas de gelatina con ARN interferente pequeño (ARNip) tenían la capacidad de inhibir el gen TG2 o la IL-15. Además, se confirmó que estas nanopartículas encapsuladas en microesferas podían facilitar su administración por vía oral.³⁸

En otro estudio reciente, se seleccionaron ratones transgénicos y se dividieron en 2 grupos. Al primer grupo se les inyectó TIMP-GLIA, que son nanopartículas sintéticas cargadas negativamente que contienen gliadina y al segundo grupo nanopartículas de control. Se observó que TIMP-GLIA tenía la capacidad de inducir tolerancia inmune a la gliadina en ratones con EC.³⁹

4.4.5. Terapia con vacunas

En un estudio reciente, se analizó la eficacia de la vacuna Nexvax2, observándose que esta vacuna puede proteger a los pacientes con EC de los efectos secundarios del consumo de gluten, reprogramando células T sensibles al gluten.⁴⁰

En otro estudio aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo, se estudió la seguridad de esta vacuna en pacientes con EC y que seguían una DSG, la farmacodinamia y el mecanismo de acción de la vacuna. Se seleccionaron 108 pacientes que se dividieron aleatoriamente en dos grupos, uno de placebo y otro con administración de fármacos y se inyectaron varias dosis de Nexvax2 de manera ascendente. Se observó que la vacuna Nexvax2 no tuvo efectos adversos en pacientes con EC.⁴¹

5. DISCUSIÓN

La EC es una enteropatía con una elevada prevalencia que necesita un componente genético para su desarrollo. Gran parte de la población es portadora de los alelos HLA DQ2/DQ8, pero solo un 1% llega a desarrollar EC. Los pacientes con EC presentan una alteración de la microbiota intestinal (disbiosis) que puede ser causada por la DSG que siguen los pacientes. Por este motivo, en la actualidad se está dando mucha importancia a la investigación de otros factores ambientales que puedan estar implicados en la patogenia de la EC. La línea de investigación más prometedora es la microbiota intestinal, su alteración en la EC y su posible implicación en el metabolismo del gluten. Además, varios estudios han investigado el uso de probióticos, ya que los pacientes con EC presentan déficit de algunas bacterias típicas de la microbiota. En la actualidad, el único tratamiento es la DSG, por este motivo se están investigando potenciales opciones como, por ejemplo, la eliminación de la toxicidad del gluten, terapias lumbales, terapias de fortalecimiento de la barrera, terapias dirigidas a la inmunidad y terapia con vacunas.

En cuanto a la **disbiosis**, varios estudios^{16, 17, 18, 19} han confirmado que los pacientes que siguen una DSG presentan una disminución de bacterias beneficiosas (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *B. Longum* y *Veilonellaceae*) y un aumento de bacterias patógenas (*E. Coli* y *Enterobacteriaceae*). También presentan menor producción de citocinas proinflamatorias (TNF α , IFN γ e IL-8) y antiinflamatorias (IL-10). La explicación que sugieren estos estudios, es que la proliferación de bacterias patógenas se produce como consecuencia de la disminución de prebióticos característica de la DSG.

Otros factores ambientales que alteran la microbiota son el tipo de parto y la LA. Los recién nacidos alimentados con LA presentan una mayor proporción de *C. Perfringens* y *C. Difficile* y un mayor número de células CD3+, CD4+, CD4+CD38+, CD4+CD28+ y CD3+CD4+ CD45RO+. Los niños nacidos por cesárea presentan menor cantidad de *Bifidobacterium catenulatum* y mayor cantidad de *B. angulatum*. Estos trabajos^{20, 21} apoyan las hipótesis de que el tipo de lactancia y el tipo de parto alteran la microbiota intestinal.

En cuanto al **papel de la microbiota en el metabolismo del gluten**, la bibliografía existente^{16, 22, 23, 24} sugiere que la microbiota intestinal juega un papel muy importante debido a su actividad proteolítica, la cual genera péptidos tóxicos e inmunogénicos. Además, las gliadinas son resistentes a las enzimas digestivas y esto aumentaría la permeabilidad intestinal, permitiendo el paso de fragmentos de gliadina a la lámina propia mucosa y generando una respuesta inmune. Los hallazgos de este trabajo²⁵ sobre la reducción de la capacidad de metabolizar el gluten se asemejan a los resultados de estos estudios^{16, 22, 23, 24} mencionados anteriormente.

Además, hay que recordar que el género Firmicutes es el que se suele asociar con el metabolismo del gluten y precisamente está disminuido en personas con EC y aumentado en personas sanas.

En cuanto al **uso de probióticos**, la evidencia científica actual muestra que el uso de esta terapia complementaria a la DSG es prometedora. Los estudios encontrados sobre la administración de *B. longum* CECT 7347 por vía oral a niños con EC muestran una mejora en el crecimiento y también una disminución en los linfocitos T CD3+, células efectoras y de memoria, y de los niveles de TNF- α , así como una disminución de *Bacteroides Fragilis* y IgA en heces²⁶. Además, este estudio²⁷ ha demostrado que la administración de *B. infantis* reduce algunos síntomas gastrointestinales (sensación de indigestión, el estreñimiento y el reflujo). Otros estudios²⁸ muestran en sus hallazgos que las cepas de *B. breve* BR03 y *B. breve* B632 reducen también algunos de los marcadores de inflamación (TNF- α). Estos resultados concuerdan con los publicados por otro estudio²⁶, donde se observó una disminución de TNF- α , confirmando así el efecto beneficioso de los probióticos. También se ha demostrado que la combinación de las cepas *B. breve* BR03 y B632 produce un aumento de Actinobacteria y el restablecimiento de Firmicutes/ Bacteroidetes²⁹. En general, podemos afirmar que el uso de probióticos puede ser muy interesante como terapia complementaria a la DSG, principalmente por sus efectos beneficiosos sobre la microbiota y la reducción de los marcadores de inflamación.

En cuanto a las **opciones de sustitución de la DSG**, son múltiples las terapias que se están investigando en la actualidad, especialmente para la eliminación de la toxicidad del gluten, terapias lumbales, terapias de fortalecimiento de la barrera, terapias dirigidas a la inmunidad y terapia con vacunas.

Sobre la **eliminación de la toxicidad del gluten**, la bibliografía existente en la actualidad sugiere la utilización de peptidasas para digerir los péptidos inmunogénicos del gluten durante el procesamiento de alimentos³⁰. En cuanto a las **terapias lumbales**, la evidencia actual propone una terapia oral de digestión enzimática mediante proli-endopeptidasas (no presentes en humanos) para neutralizar los péptidos del gluten en el tracto gastrointestinal^{33, 34}. Los resultados de estos estudios sugieren una posible utilización de esta terapia, pero son necesarios más estudios sobre sus beneficios, dosis y seguridad.

Otros estudios^{31, 32} proponen la ingeniería genética como herramienta para disminuir la expresión génica mediante ARN de interferencia (iARN) y reducir así la expresión de gliadinas y gluteninas causantes de la respuesta inmune. Las evidencias sobre esta terapia son aún escasas, por este motivo son necesarios más estudios en humanos para establecer una dosis segura para los pacientes celiacos.

En relación con las **terapias de fortalecimiento de la barrera intestinal**, los resultados de los estudios encontrados ^{30, 35, 36} sugieren que el acetato de lazarotide, modula las uniones estrechas del intestino, previene el aumento de la permeabilidad intestinal y reduce los síntomas gastrointestinales inducidos por gluten y los niveles de IFN γ . En un estudio ³⁷ se sugiere que la dosis más efectiva es de 0,5 mg de acetato de lazarotide para la reducción de los síntomas GI y no GI. Se necesitan aún más estudios sobre esta terapia para comprobar que es segura y eficaz.

Sobre las **terapias dirigidas a la respuesta inmune frente al gluten**, los estudios actuales nos muestran que alternativas como, bloqueadores de la molécula HLA-DQ, nanopartículas y las estrategias de vacunación son las opciones más avanzadas en sus investigaciones.

Sobre los **bloqueadores de la molécula HLA-DQ**, se ha confirmado el potencial de esta terapia para disminuir los efectos tóxicos de la gliadina mediante la administración de análogos de péptidos bloqueadores de estas moléculas para bloquear los sitios de unión de gliadina, de esta manera se previene la presentación de péptidos inmunogénicos y la respuesta inmune. ³⁶

En cuanto al uso de **nanopartículas**, un estudio in vitro en ratones ³⁸ sugiere que las nanopartículas de gelatina con ARN interferente pequeño (ARNip) tienen la capacidad de inhibir el gen TG2 o la IL-15. Esto puede ser otra posible terapia junto con las anteriores. Además, se ha propuesto también que TIMP-GLIA (nanopartículas sintéticas cargadas negativamente que contienen gliadina) pueden inducir tolerancia al gluten ³⁹. Por el momento, ambos estudios se han realizado en ratones y se necesitan más estudios en humanos para confirmar la forma de administración y su eficacia y seguridad.

Por último, los resultados sobre el **uso de la vacuna** como terapia adyuvante a la DSG son prometedores. Los estudios encontrados sobre la administración de esta vacuna a pacientes con EC y tratados con DSG ^{40, 41} muestran protección frente a los efectos secundarios del gluten. Además, se ha encontrado que la vacuna no produce efectos adversos en pacientes con EC. Estos hallazgos sugieren que la vacuna puede ayudar a mejorar la salud de pacientes celíacos por su capacidad de protección frente a los efectos del gluten y por su seguridad para los pacientes celíacos. Sin embargo, son necesarios más estudios con una muestra mayor para confirmar estos resultados.

6. CONCLUSIONES

1. La EC es una patología infradiagnosticada, pero el número de casos diagnosticados parece haber aumentado en los últimos años, lo que no puede deberse a factores genéticos, sino ambientales. Uno de estos factores podría estar relacionado con cambios en la microbiota intestinal.
2. Los estudios publicados sugieren que la microbiota intestinal juega un papel muy importante en el metabolismo del gluten. Las bacterias potencialmente patógenas presentes en el intestino pueden, mediante su actividad proteolítica, aumentar la inmunogenicidad de los péptidos del gluten.
3. Se ha confirmado que algunos factores como la DSG, tipo de parto y de lactancia, favorecen una alteración de la microbiota intestinal (disbiosis), aunque no podemos afirmar que estos factores aumenten el riesgo de sufrir EC.
4. Los probióticos representan una línea de investigación muy prometedora para restablecer la microbiota intestinal en los pacientes celíacos. Diferentes cepas de *Bifidobacterium* han mostrado su papel beneficioso como probiótico, aunque hace falta más estudios para comprender mejor su función en el tratamiento de la EC, y establecer el tipo y la concentración de microorganismos beneficiosos.
5. Otras posibles opciones de sustitución de la DSG recogidas en esta revisión, han mostrado también efectos beneficiosos en los pacientes celíacos. Sin embargo, no podemos confirmar que estas opciones se puedan utilizar en la actualidad debido a que muchas se encuentran aún en sus fases iniciales, y sus resultados no se pueden extrapolar al resto de la población celíaca.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Rodrigo Sáez L. La enfermedad celíaca en el adulto. Conserjería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, editor. El libro blanco de la enfermedad celíaca. 1ª ed. Madrid: ICM; 2008. p. 29-39.
2. Federación de Asociaciones de Celiacos de España.
<https://celiacos.org/enfermedad-celiaca/que-es-el-gluten/>
3. Parada A, Araya M. El gluten. Su historia y efectos en la enfermedad celíaca. Rev. méd. Chile 2010; 138: 1319-1325.
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100018
4. Moscoso F, Queral R. Celiac disease: A review. Rev Med Clin Condes 2015; 26(5) 613-627. <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864015001261>
5. Cubero Santos A, Rodríguez Romero L, Rodríguez Martínez A, Espín Jaime B, Pizarro Martín A. Intolerancia y alergia alimentaria. Vox Paediatrica 2008; 16(1): 34-60.
<http://spaovex.es/sites/default/files/pdf/Voxpaed16.1pags54-60.pdf>
6. Navalón-Ramón E, Juan-García Y, Pinzón-Rivadeneira A. Prevalencia y características de la enfermedad celíaca en la fachada mediterránea peninsular. Centro de Salud Ontinyent-II, Ontinyent, Valencia, España. 2016; 42(8): 514-522. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-prevalencia-caracteristicas-enfermedad-celiaca-fachada-S1138359315003317>
7. Rodríguez Sáez L. Enfermedad celiaca. Inf Ter Sist Nac Salud 2010; 34 (2): 49-59.
https://www.mschs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/infMedic/docs/vol34n2enfCeliaca.pdf
8. Coronel Rodríguez C, Romero Pérez AS, Guisado Rasco MC. Enfermedad celiaca. Pediatr Integral 2019; XXIII (8): 392-405.
<https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2019-12/enfermedad-celiaca-2/>
9. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. Nutr. Hosp 2007; 22(2)
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500003
10. Icaza-Chávez ME. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. 2013; 78(4): 240-248. <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-microbiota-intestinal-salud-enfermedad-articulo-S0375090613001468>
11. Robles-Alonso V, Guarner F. Progreso en el conocimiento de la microbiota intestinal humana. Nutrición Hospitalaria 2013; 28, 553-557.
<http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28n3/01articuloespecial01.pdf>
12. Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. De la flora intestinal al microbioma. Rev Esp Enferm Dig 2018; 110(1):51-56.

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082018000100009

13. González Cervantes RM, Bravo Ruiseco Sánchez G. La microbiota del humano. Rev Ciencia 2017; 68(2): 60-66.
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/Microbiotad_elhumano.pdf
14. Tinahones FJ. La importancia de la microbiota en la obesidad. Rev Esp Endocrinol Pediatr 2017; 8(1):16-20.
<https://www.endocrinologiapediatrica.org/modules.php?name=articulos&idarticulo=394&idlangart=EN>
15. Castañeda GCD. Microbiota intestinal, probióticos y prebióticos. Enferm Inv 2017; 2(4):156-160.
16. Olivares M, Sanz Y. Microbiota Intestinal y Enfermedad Celíaca. En Arranz E, Fernandez-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Pena AS, editores: Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten. OmniaScience 2015.
17. Golfetto L, Senna FD, Hermes J, Beserra BT, Franca FS, Martinello F. Lower bifidobacteria counts in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet. Arq Gastroenterol 2014; 51(2): 139-43.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25003267/>
18. Wacklin P, Kaukinen K, Tuovinen E, Collin P, Lindfors K, Partanen J et al. The duodenal microbiota composition of adult celiac disease patients is associated with the clinical manifestation of the disease. Inflamm Bowel Dis. 2013; 19(5): 934-41. <http://dx.doi.org/10.1097/MIB.0b013e31828029a9>
19. Bonder MJ, Tigchelaar EF, Cai X, Trynka G, Cenit MC, Hrdlickova B, et al. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. Genome Med 2016; 8(1): 45.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841035/>
20. Olivares M, Benítez-Páez A, de Palma G, Capilla A, Nova E, Castillejo G, et al. Increased prevalence of pathogenic bacteria in the gut microbiota of infants at risk of developing celiac disease: The PROFICEL study. Gut Microbes 2018; 9(6): 551-558. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6287676/>
21. Pozo-Rubio T, de Palma G, Mujico JR, Olivares M, Marcos A, Acuña MD et al. Influence of early environmental factors on lymphocyte subsets and gut microbiota in infants at risk of celiac disease; the PROFICEL study. Nutr Hosp. 2013; 28(2): 464-473. <https://www.redalyc.org/pdf/3092/309227306027.pdf>
22. Valitutti F, Cucchiara S, Fasano A. Celiac Disease and the Microbiome. Nutrients 2019, 11, 2403. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6835875/>
23. Caminero A, Verdu EF. Metabolism of wheat proteins by intestinal microbes: Implications for wheat related disorders. Gastroenterol Hepatol. 2019; 42 (7): 449-457. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31262542/>

24. Sanz Y. Microbiome and Gluten. *Ann Nutr Metab.* 2015; 67 Suppl 2:28-41.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26605783/>
25. Bodkhe R, Shetty SA, Dhotre DP, Verma AK, Bhatia K, Mishra A, et al. Comparison of Small Gut and Whole Gut Microbiota of First-Degree Relatives With Adult Celiac Disease Patients and Controls. *Front Microbiol.* 2019; 10: 164.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6376745/>
26. Olivares M, Castillejo G, Varea V, Sanz Y. Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease. *Br J Nutr.* 2014; 112(1): 30-40. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24774670/>
27. Smecuol E, Hwang HJ, Sugai E, Corso L, Chernavsky AC, Bellavite FP et al. Exploratory, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the effects of *Bifidobacterium infantis* naten life start strain super strain in active celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2013; 47(2): 139-47.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23314670/>
28. Klemenak M, Dolinšek J, Langerholc T, Di Gioia D, Mičetić-Turk D. Administration of *Bifidobacterium breve* Decreases the Production of TNF- α in Children with Celiac Disease. *Dig Dis Sci.* 2015 Nov; 60(11):3386-92.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26134988/>
29. Quagliariello A, Aloisio I, Bozzi Cionci N, Luiselli D, D'Auria G, Martinez-Priego L, et al. Effect of *Bifidobacterium breve* on the Intestinal Microbiota of Coeliac Children on a Gluten Free Diet: A Pilot Study. *Nutrients.* 2016; 8(10): 135-137.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5084046/>
30. McCarville JL, Caminero A, Verdu EF. Terapias Adyuvantes y Alternativas a la Dieta sin Gluten en la Enfermedad Celíaca. En: Arranz E, Fernandez-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Pena AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten.* OmniaScience 2015.
31. Gil-Humanes J, Pistón F, Altamirano-Fortoul R, Real A, Comino I, Sousa C et al. Reduced-gliadin wheat bread: an alternative to the gluten-free diet for consumers suffering gluten-related pathologies. *PLoS One* 2014; 9(3): e90898.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3951262/>
32. Vaquero L, Rodríguez-Martín L, León F, Jorquera F, Vivas S. New celiac disease treatments and their complications. *Gastroenterol Hepatol* 2018; 41(3):191-204. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29422237/>
33. Krishnareddy S, Stier K, Recanati M, Lebwohl B, Green PH. Commercially available glutenases: a potential hazard in celiac disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2017; 10(6):473-81.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5424869/>

34. Moreno ML, Arévalo-Rodríguez M, Durán EM, Martínez Reyes JC, Sousa C. A new microbial gluten-degrading prolyl endopeptidase: Potential application in celiac disease to reduce gluten immunogenic peptides. *PLoS One* 2019; 14(6):e0218346.
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0218346#sec027>
35. Alhassan E, Yadav A, Kelly CP, Mukherjee R. Novel Nondietary Therapies for Celiac Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019; 8(3):335-345.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6713892/>
36. Asri N, Rostami-Nejad M, Rezaei-Tavirani M, Reza Razzaghi M, Asadzadeh-Aghdai H, Reza Zali M. Novel Therapeutic Strategies for Celiac Disease. *Middle East J Dig Dis*. 2020; 12(4):229-237.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7859609/>
37. Leffler DA, Kelly CP, Green PHR, Fedorak RN, DiMarino A, Wendy Perrow W, et al. Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a gluten-free diet: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2015; Jun; 148(7):1311-1319. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4446229/>
38. Attarwala HZ, Suri K, Amiji MM. Análisis de farmacocinética y biodistribución de ARN de interferencia pequeña para silenciar la transglutaminasa-2 tisular en la enfermedad celíaca después de la administración oral en ratones utilizando sistemas de administración multi-compartmentales basados en gelatina. *Bioelectricidad*. 2020; 2: 167–74.
<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/bioe.2020.0008>
39. Freitag T, Podojil J, Pearson R, Fokta F, Sahl C, Messing M. et al. Las nanopartículas de gliadina inducen tolerancia inmune a la gliadina en modelos de ratón con enfermedad celíaca. *Gastroenterología*. 2020; 158: 1667–81.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7198359/>
40. Sabatino A, Lenti M, Corazza G, Gianfrani C. Vaccine Immunotherapy for Celiac Disease. *Front Med*. 2018; 5:187.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6028606/>
41. Daveson J, Ee H, Andrews J, King T, Goldstein K, Dzuris J. et al. Inmunoterapia específica de epítipo dirigida a células T CD4 positivas en la enfermedad celíaca: seguridad, farmacocinética y efectos sobre la histología intestinal y las citocinas plasmáticas con regímenes de dosis en aumento de Nexvax2 en un estudio de fase 1 aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. *EBioMedicine*. 2017; 26: 78–90.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5832635/>