

ENFERMEDAD CELÍACA: una inmunopatología muy frecuente pero poco conocida

Palabras clave: enfermedad celíaca, inmunopatología, intestino delgado, gluten.
Key words: coeliac disease, immunopathology, small intestine, gluten.

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enteropatía crónica de base inmunológica, en la que intervienen mecanismos tanto de la inmunidad innata como adaptativa. La presentación clínica es altamente variable, desde cuadros gastrointestinales característicos hasta formas oligo o asintomáticas. La prevalencia de EC es muy elevada (cerca al 1%), sin embargo, se encuentra fuertemente subdiagnosticada por falta de conocimiento y de estrategias de búsqueda adecuadas. Los pacientes no diagnosticados y por lo tanto no tratados tienen consecuencias severas, muchas de ellas irreversibles, que reducen su calidad de vida y capacidad laboral. En individuos susceptibles, la patología sólo se desarrolla en presencia de un antígeno dietario denominado gluten y constituido mayoritariamente por un grupo de proteínas de trigo, cebada, centeno y avena, denominadas gliadinas o gluten. La ingesta de estas proteínas produce alteración histológica en la mucosa del intestino delgado y pérdida de la función de absorción de nutrientes. Existen varias enfermedades fuertemente asociadas a la EC, en particular

aquellas con componentes autoinmunes como diabetes mellitus tipo I y artritis reumatoidea. La susceptibilidad a desarrollar EC está asociada a la presencia de determinados alelos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), en particular HLA-DQ2 y DQ8 los que están presentes en casi la totalidad de los pacientes. La expansión y activación de linfocitos T específicos de péptidos derivados del gluten y la abundante producción de IFN- γ son los elementos más característicos de la respuesta adaptativa en la mucosa intestinal. Por otra parte, la inmunidad innata se manifiesta frente a ciertos péptidos derivados de gliadinas que inducen mecanismos proinflamatorios. Aunque en la actualidad se conocen con detalle múltiples aspectos de la patogenia de EC que han permitido una mejora de la detección temprana de los pacientes y la profundización en el conocimiento del rol del sistema inmune en la mucosa intestinal, aún existen importantes desafíos para los investigadores. A lo largo de esta revisión presentaremos y discutiremos varios de los hallazgos que han mejorado el diagnóstico de la enfermedad y, consecuentemente, la calidad de vida de los pacientes.

Celiac disease (CD) is a chronic enteropathy induced by the immune system where mechanisms of both innate and adaptive immunity are involved. The clinical presentation is highly variable, ranging from the characteristic gastrointestinal syndrome to oligo- or asymptomatic forms. The prevalence of CD is high (close to 1%), though the disease is underdiagnosed due to lack of knowledge and appropriate case-finding strategies. Undiagnosed patients, and therefore not treated, may have a higher risk of complications, some of them irreversible, which reduce the quality of life and working ability. In susceptible individuals, the disease is only developed when a dietary antigen called gluten is ingested (gluten is constituted by a group of proteins from wheat, barley, rye and oats, generally known as gliadins and gluten). The ingestion of these proteins leads to the histological lesion in the small bowel mucosa and the loss of absorptive function by the epithelium. Several diseases associated to CD have been described, particularly those with an autoimmune aetiology, such as diabetes mellitus type I or rheumatoid arthritis. Susceptibility to develop CD is associated with the presence of discrete alleles of the major histocompatibility complex (MHC), in particular HLA-DQ2 or DQ8, which are found in almost all CD patients. The expansion and activation of T cells specific for gluten-derived peptides and the increased production of IFN- γ in the intestinal mucosa are the most characteristic elements of the adaptive response to gluten. On the other hand, innate immunity is triggered by certain gliadin peptides which induce proinflammatory mechanisms. Although currently many aspects of the pathogenesis of CD are known, which has allowed a better early detection of patients and contributed to a deeper understanding of the role of the mucosal immune system, there are still many challenges for researchers. Along this review, we present and discuss different findings that have improved the diagnosis of the disease and, consequently, the quality of life of patients.

■ Fernando G. Chirido¹ y Eduardo Arranz²

¹ Laboratorio de Investigación en el Sistema Inmune- LISIN. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Argentina. fchirido@biol.unlp.edu.ar

² Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid-CSIC. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. Valladolid. España. earranz@med.uva.es

■ ENFERMEDAD CELÍACA. DEFINICIONES Y PRESENTACIÓN CLÍNICA.

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enteropatía crónica de base inmunológica inducida en individuos genéticamente susceptibles por un componente dietario, un grupo de proteínas de trigo, cebada, centeno y avena, al que por sus características bioquímicas y funcionales se las denomina gluten (Abadie V. et al., 2011).

El término celíaco proviene del griego *koiliakos* y hace referencia al abdomen. La EC fue reconocida como una patología del tracto digestivo por el médico griego Aretaeus, aproximadamente hacia el año 100 de la era cristiana. Sin embargo, la

relación con la dieta fue establecida a comienzos de la década de 1950 por el pediatra holandés W. Dicke, quien propuso la dieta libre de gluten (DLG) como tratamiento. La presentación clínica de EC es altamente variable así como la edad de aparición de los síntomas. En pediatría, se observan comúnmente signos de desnutrición, diarrea, retraso de crecimiento que, en conjunto, pueden conducir a distintos déficit de desarrollo algunos irreversibles. A mayor edad se puede observar manifestaciones digestivas (diarrea, dolor abdominal, dispepsia, flatulencia, pirosis, constipación) y también diferentes manifestaciones extraintestinales y hematológicas (anemia ferropénica, otras anemias por déficit de folato o vitamina B12, trombocitopenias) que se pueden presentar

en formas oligo o monosintomáticas (Green PH & Cellier C. 2007; Lewis NR & Holmes G., 2010). Los signos son variados, en muchos casos difusos y difieren al evaluar población pediátrica y adulta. Por esta razón, el grado de conocimiento y alerta de los profesionales de la salud debe ser elevado para permitir la detección de EC cuando ésta no tiene una manifestación evidente.

Hay un conjunto de enfermedades, muchas de ellas autoinmunes, que están fuertemente asociadas a la EC por lo que es posible encontrar dichas patologías en forma concomitante en pacientes celíacos. Entre estas patologías se encuentran la diabetes mellitus tipo I, la artritis reumatoidea y la tiroiditis autoinmune (Merese B. et al., 2012). Otros

Tabla 1. Presentación Clínica

Grupo de Edad	Síntomas	Signos
Niños	Diarrea crónica Dolores abdominales Vómitos Anorexia Apatía Mal humor	Malnutrición Distensión abdominal Retraso pondero-estatural Hipotrofia muscular Ferropenia Hipoproteinemia Aftas recurrentes, defectos dentales
Adolescentes y Pre-adolescentes	Oligosintomáticos Dolor abdominal Diarrea, constipación Retraso desarrollo puberal Alteraciones menstruales Cefaleas Artralgias	Talla baja Ferropenia Debilidad muscular Osteopenia
Adultos	Síntomas digestivos inespecíficos: (dispepsia, diarrea, vómitos, constipación) Pérdida de peso Sintomatología osteo-muscular. Infertilidad, aborto recurrente Alteraciones neurológicas: (Parestesias, Tetania, Ataxia, Epilepsia) Alteraciones psiquiátricas: (depresión, irritabilidad, astenia)	Malnutrición Ferropenia Hipoalbuminemia Alteraciones en la coagulación Déficits vitamínicos Hipertransaminasemia Neuropatía periférica Miopatías Hipoesplenismo Aftas bucales Osteoporosis y osteopenia

casos de asociación con la EC se observan en el Síndrome de Down y en pacientes con una inmunodeficiencia primaria denominada déficit selectivo de IgA. En conjunto, todas estas patologías presentan una asociación entre el 1 y 5%, respectivamente. Es decir, ambas patologías se presentan en forma conjunta en una frecuencia mayor que la que se encontraría si fueran independientes. Este conocimiento es relevante tanto para la etapa diagnóstica como en el tratamiento.

Debido al rol de los alelos de HLA y la contribución de varios genes (ver más adelante) existe un fuerte impacto en la susceptibilidad cuando se consideran los familiares de primer grado de un paciente celíaco. Se estima que el 10% de los parientes de primer grado de un paciente celíaco presentan EC lo que constituye también un elemento de relevancia en el diagnóstico.

Las formas más clásicas de EC se presentan, como hemos mencionado, con diferentes signos clínicos, serología positiva y alteraciones histológicas en la mucosa intestinal. Sin embargo, también se observan otras situaciones que dificultan tomar una decisión diagnóstica. En ciertos casos, definidos como la EC silente, se encuentran pacientes con serología positiva y alteraciones histológicas características pero que no presentan síntomas. Mientras que en otros, condición denominada EC latente o potencial, se observa serología positiva con histología normal, aunque también puede encontrarse infiltrado linfocitario y, especialmente, incremento en el número de linfocitos intraepiteliales (Ferguson et al. 1993, Arranz et al. 1994).

Enfermedades de base inmunológica	Trastornos neurológicos y psiquiátricos
Diabetes tipo I	Encefalopatía progresiva
Artritis reumatoidea	Síndromes cerebelosos
Tiroiditis autoinmune	Demencia con atrofia cerebral
Déficit selectivo de IgA	Leucoencefalopatía
Enfermedad de Addison	Epilepsia y calcificaciones cerebrales
Enfermedad inflamatoria Intestinal	Otros asociaciones
Síndrome de Sjögren	Síndrome de Down
Lupus eritematoso sistémico	Síndrome de Williams
Hepatitis autoinmune	Cistinuria
Nefropatía por IgA	Síndrome de Turner
Cirrosis biliar primaria	Enfermedad de Hartnup
Psoriasis, vitíligo y alopecia areata	Colitis microscópica

PREVALENCIA Y PROTOCOLOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA EC

La EC es una de las patologías de base inmunológica de mayor frecuencia. La prevalencia estimada de EC en población general es del 1%. Los estudios de prevalencia más extensos han sido realizados en países europeos y aunque se dispone de menos información en otras regiones, en todos los casos la estimación general es similar. Un hallazgo común en estos estudios, en especial aquellos que evalúan la población adulta, es el alto número de pacientes oligosintomáticos o asintomáticos (Rampertab SD et al, 2006; Cattassi C et al. 2007). El único estudio realizado con el objetivo de evaluar la prevalencia de EC en población adulta en Argentina fue realizado en la ciudad de La Plata (Gomez JC, et al. 2001, 2002). Allí se encontró una prevalencia de 1:144, siendo asintomáticos el 70% de los pacientes celíacos detectados.

El protocolo para el diagnóstico de EC consiste en la evaluación clínica, determinación de los niveles séricos de anticuerpos específicos y evaluación histológica de piezas de biopsias de intestino delgado. Sólo una vez completada la etapa del diagnóstico de EC se indica la dieta libre de gluten. La remisión clínica en respuesta a la dieta de exclusión de gluten es considerada un elemento de confirmación del diagnóstico de EC.

Aunque la EC es una patología de alta prevalencia se encuentra fuertemente subdiagnosticada. Esto es consecuencia de su presentación altamente variable siendo muy común las formas oligo o asintomáticas. Por lo tanto, la sospecha de EC a partir de signos del propio paciente es, en muchos casos, baja. En general, la detección de EC en pacientes asintomáticos se logra mediante estrategias de búsqueda a partir de la familiaridad de un primer caso o por

técnicas de "screening" poblacional abierto u orientado, por ejemplo, a patologías asociadas.

Como mencionamos, la prevalencia de EC en la población general es del 1%. Sin embargo, si se estudian aquellos individuos que asisten a consulta médica o derivados a endoscopia por síntomas que, en principio, no fueron relacionados con EC, la prevalencia estimada podría ser mayor. Esta observación destaca la importancia de la observación endoscópica y de mantener un elevado grado de alerta en la detección de EC en aquellas formas oligosintomáticas no clásicas.

Aunque no existe un consenso internacional sobre un protocolo diagnóstico, comúnmente la secuencia en la evaluación de EC consiste en realizar los estudios de serología en aquellos pacientes con sospecha clínica y la toma de biopsias de intestino en aquellos con serología positiva. Como veremos luego, existen otros estudios que brindan información complementaria de utilidad principalmente en aquellos casos con difícil resolución. Cabe recordar que aun cuando la eficiencia analítica de los ensayos de serología se ha incrementado sustancialmente, los hallazgos histológicos son los que definen el diagnóstico de EC.

- Evaluación Histológica. El diagnóstico de confirmación de EC requiere el análisis histológico de secciones de biopsias de intestino delgado. Durante la videoendoscopia para la toma de la biopsia, la visualización de signos en el intestino delgado proximal como pliegues festoneados, fisuras, patrón en mosaico, patrón nodular, disminución del número y altura de los pliegues o vasos visibles son sugestivos de la presencia de EC (Ravelli AM. et al 2001; Brocchi E. et al. 2002).

Siendo el intestino delgado proximal la región afectada en la EC, las piezas de biopsias son tomadas de bulbo y de segunda porción. En general, se toman tres piezas de biopsia para el examen histológico ya que es común observar diferencias relevantes entre las distintas regiones. El hallazgo de alteraciones en la estructura histológica reflejadas como reducción de la altura de las vellosidades, aumento de la profundidad de criptas, infiltrado linfocitario en *lamina propria* y aumento del número de linfocitos intraepiteliales, caracterizan las observaciones más comunes en EC activa (Marsh MN., 1992; Oberhuber G. et al. 1999). Estos hallazgos indican sin duda una enteropatía severa (en muchos casos, denominada atrofia total o parcial). Sin embargo, la mayor complejidad en cuanto a la interpretación de la histología se encuentra en aquellos casos donde se observan alteraciones menores o sólo alguno de los rasgos mencionados. En estos casos, se requiere una ponderación de las alteraciones observadas en conjunto con otros elementos diagnósticos o considerar una reevaluación posterior del paciente.

- Estudios serológicos. El curso del protocolo diagnóstico a partir de la sospecha clínica, familiaridad o la presencia de enfermedades asociadas conduce, por lo general, a los estudios serológicos. Desde la década del '70 se realizan estudios de búsqueda de marcadores (anticuerpos) en sangre periférica. Se emplearon técnicas de ELISA para la detección de anticuerpos anti-gliadinas o de inmunofluorescencia indirecta para los anticuerpos anti-endomisio. La utilidad particular de la determinación de los anticuerpos anti-endomisio se basa en su altísima especificidad. Nuevos desarrollos han generado métodos comerciales que evalúan la presencia de anticuerpos anti-gliadinas deamida-

das y anticuerpos anti-transglutaminasa 2 (TG2). Estos nuevos ensayos tienen eficiencias paramétricas muy superiores y permiten una mejora significativa en la capacidad efectiva de detección de EC (Vermeersch P. et al., 2012).

En la actualidad, los estudios serológicos consisten en la determinación de anticuerpos: anti-TG2, anti-endomisio y anti-gliadinas deamidadas. No existe un consenso sobre una estrategia de aplicación de estos ensayos. Dependiendo de la accesibilidad de cada método u organización de cada centro de salud, los ensayos pueden realizarse en una sola etapa o en forma secuencial. A su vez, deben determinarse los niveles de IgA sérica con el fin de evitar los resultados falsos negativos en los pacientes con déficit selectivo de IgA (condición asociada a la EC).

- Estudios complementarios. Con diferente grado de aplicabilidad se ha propuesto la determinación de los alelos de susceptibilidad de HLA (DQ2/DQ8) y la determinación de los depósitos de IgA anti-TG2/TG2 en la mucosa intestinal.

Mencionamos que los alelos de susceptibilidad contribuyen significativamente al riesgo de EC. Casi la totalidad de los pacientes celíacos expresan HLA-DQ2 (DQA*0501, DQB*0201) o DQ8 (DQA*0301, DQB*0301) siendo ésta la patología con índice de riesgo relativo más elevado. La detección de estos alelos se realiza mediante ensayos de amplificación específica por PCR a partir de ADN obtenido de células de sangre periférica y posterior análisis del producto obtenido mediante distintas técnicas. La determinación de los alelos DQ2/DQ8 es de utilidad ya que en los casos positivos refuerza el diagnóstico de la EC y en los casos negativos, donde tiene un elevado impacto por su valor predic-

tivo negativo, es un fuerte indicador para la exclusión de EC (Sollid LM. and Lie BA. 2005; Piccini B., et al 2012).

Aunque la determinación de HLA es, sin duda, un elemento complementario muy importante en el diagnóstico de EC, su aplicabilidad se ve limitada por aspectos logísticos (requerimiento de equipamiento especial no disponible aún en las Unidades de Salud en forma extendida) y por su elevado costo.

Además del análisis histológico convencional se han realizado ensayos por inmunohistoquímica para identificar linfocitos T CD3⁺. De esta manera, es sencillo evidenciar el infiltrado linfocitario en la *lamina propria* y en el compartimiento intraepitelial en los casos donde la alteración histológica es muy leve. Sin embargo, una prueba de inmunohistoquímica que parece tener una elevada eficiencia predictiva positiva es la colocalización de TG2 y anticuerpos de clase IgA. Estos llamados depósitos de inmunocomplejos IgA anti-TG2/TG2 son altamente selectivos de EC y pueden ser muy útiles como prueba complementaria en el diagnóstico.

El diagnóstico temprano de EC y su correspondiente tratamiento (introducción de una dieta estricta libre de gluten) evita el desarrollo de trastornos metabólicos y nutricionales, mejora la calidad de vida, y reduce las complicaciones a largo plazo. Las situaciones donde la dieta no genera un cambio favorable son verdaderamente escasas y consecuencia, generalmente, de la presencia de neoplasias (la más comúnmente encontrada es el linfoma T asociado a intestino).

■ MECANISMOS DE PATOGENIA DE LA EC

En la mucosa intestinal se desarrollan dos tipos de respuesta inmune que están estrechamente vinculados. La fase crónica se caracteriza por la presencia de linfocitos T CD4⁺ que producen IFN-g, citoquina responsable de gran parte de los mecanismos de daño en la mucosa. Estos linfocitos Th1 son específicos de péptidos derivados de gluten presentados por células dendríticas en las moléculas HLA-DQ2 o DQ8. Por otro lado, existen otros péptidos derivados de gluten, como el p31-43, que inducen mecanismos proinflamatorios independientes de células T que, entre otros efectos, alteran la

unión estrecha entre enterocitos y generan aumento en la permeabilidad intestinal.

Características de las proteínas de los cereales tóxicos

Debido a las propiedades bioquímicas de sus proteínas el trigo es el cereal más ampliamente usado en la alimentación humana. El amasado conduce a la formación de una estructura viscoelástica que atrapa gas, denominada gluten, generada por el entrecruzamiento covalente mediante puentes disulfuro entre gliadinas y gluteninas. La masa obtenida es la base de gran parte de nuestra alimentación siendo empleada también en el desarrollo de productos altamente tecnificados con el fin de lograr ciertas características de calidad.

Los cereales tóxicos: trigo (*Triticum aestivum* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.) y centeno (*Secale cereale* L.) están evolutivamente relacionados, pertenecen a la tribu *Triticeae* y presentan grupos de proteínas con alta homología así como propiedades fisicoquímicas similares. La avena en cambio, si bien se encuentra en la misma subfamilia, pertenece a la tribu *Aveneae* y presenta algunas

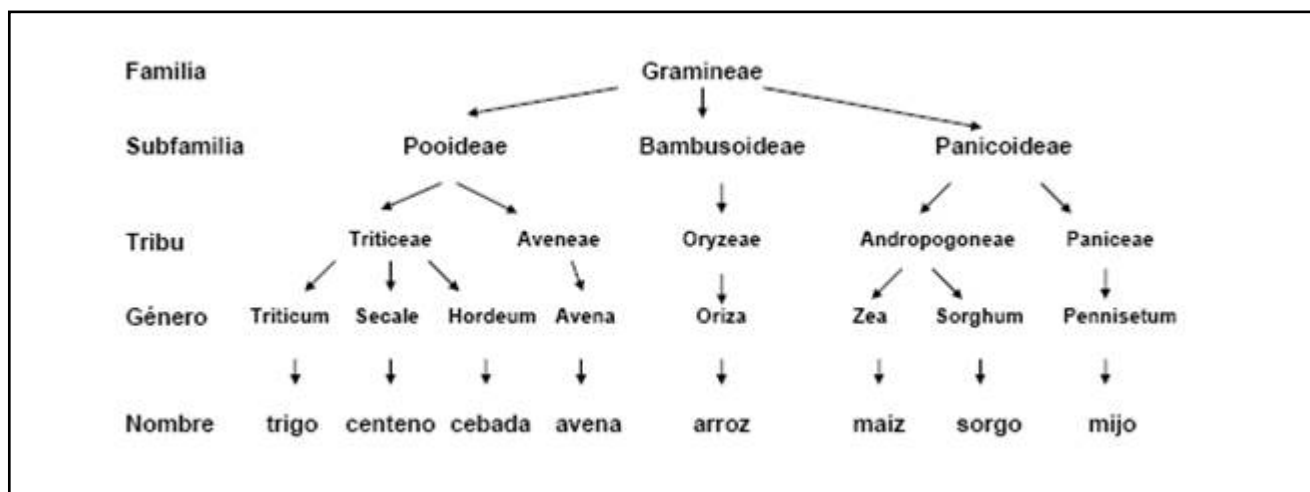


Figura 1. Esquema de la relación taxonómica entre distintas especies vegetales.

características diferentes (**Figura 1**) (Shewry PR and Halford NG., 2002).

La mayor parte del conocimiento actual de la patogenia de EC se obtuvo mediante el análisis de las características bioquímicas, inmunogénicas e inductoras de daño de las proteínas de trigo.

Las proteínas del endosperma del grano de trigo constituyen una mezcla compleja y fueron clasificadas originalmente por Osborne T.B. (1924) en cuatro fracciones de acuerdo a su solubilidad en: agua (*albúminas*), soluciones salinas (*globulinas*), solventes alcohólicos como el etanol 70% (*gliadinas*) y sólo solubles en condiciones más enérgicas tales como ácidos, bases, agentes reductores y detergentes, urea, etc (*gluteninas*).

Dado su alto contenido en los aminoácidos prolina y glutamina, las gliadinas y gluteninas reciben la denominación de prolaminas. Éstas son sintetizadas y depositadas en el endosperma del grano y constituyen

la fuente primaria de nitrógeno que se utilizará para la posterior síntesis de proteínas durante la germinación. Por su movilidad a pH ácido, las gliadinas han sido clasificadas en α -, β -, γ - y ω -gliadinas. En forma equivalente también se ha empleado esta clasificación para las proteínas de cebada y centeno (Shewry PR and Halford NG., 2002).

Las prolaminas presentan un elevado polimorfismo y alta homología debido a extensas regiones de secuencias repetitivas (de 4 a 9 aminoácidos de longitud que incluyen a prolina y glutamina). Las regiones repetitivas, así como secuencias de alta homología, generan una elevada reactividad cruzada entre las distintas prolaminas de un cereal y entre cereales. Estas características dificultan los estudios inmunológicos y la evaluación de su toxicidad.

Con el fin de conocer los mecanismos de patogenia de EC se usaron distintas fuentes de gliadinas. Las más empleadas han sido fraccio-

nes proteicas complejas de gliadinas comerciales, digestos enzimáticos obtenidos de gliadinas tratadas con enzimas digestivas como pepsina y tripsina y péptidos sintéticos.

Bases moleculares de la toxicidad de las prolaminas.

Como se ha mencionado, la EC es causada por una respuesta inmune inapropiada frente a péptidos derivados de la degradación proteolítica del gluten en el lumen intestinal. Tanto las vías efectoras de la inmunidad innata como adaptativa de la mucosa intestinal tienen un rol determinante en el establecimiento de la lesión. Los mecanismos desencadenados dependen del péptido en estudio ya que, claramente, péptidos como el 33 mer (p57-89) son inductores de una respuesta adaptativa mientras que el p31-43 produce una respuesta innata. En la **Figura 2** se muestran las secuencias de algunos péptidos que inducen daño a la mucosa intestinal (Qiao SW. et al, 2012).

A.										
p31-43 LGQQQPFPPQQPY										
33mer LQLQPFQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF										
B.										
Restricción HLA	Proteína	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DQ2	α -gliadina	P	F	P	Q	P	E	L	P	Y
	α -gliadina	P	Y	P	Q	P	E	L	P	Y
	α -gliadina	P	Q	P	E	L	P	Y	P	Q
	γ -gliadina	P	Q	Q	S	F	P	E	Q	Q
	γ -gliadina	I	Q	P	E	Q	P	A	Q	L
	γ -gliadina	P	Q	P	E	Q	E	F	P	Q
	glutenina	P	F	S	E	Q	E	Q	P	V
DQ8	α -gliadina	E	G	S	F	Q	P	S	Q	E
	γ -gliadina	E	Q	P	Q	Q	P	F	P	Q

Figura 2. Secuencias de péptidos inductores de respuesta inmune innata y adaptativa. **A.** Secuencias de los fragmentos p31-43 y 33mer. (código de aminoácidos de una letra). **B.** Secuencias de algunos péptidos derivados de gliadinas y gluteninas que se unen a HLA-DQ2 y DQ8. Se muestran las secuencias de los péptidos alineados (números de 1-9) de acuerdo a las posiciones de unión en el hueco de presentación de la molécula de HLA. En resaltado, se indica un cambio en aminoácido de Q glutamina por E ácido glutámico por actividad de TG2.

Prolaminas inductoras de respuesta innata.

La incubación de péptidos de gliadinas *ex vivo* con piezas de biopsias de intestino delgado produce una rápida respuesta evidenciada por el aumento de permeabilidad (disminución de la resistencia eléctrica) en el epitelio y liberación de mediadores proinflamatorios. La producción de mediadores inflamatorios inducidos por péptidos de gliadinas se evidenció también en sistemas *in vitro* donde se observó activación de la vía de señalización de NF κ B y la amplificación de otras vías de señalización, reclutamiento y activación celular.

El p31-43 ha sido el péptido más utilizado para modelar la participación de la respuesta innata en la patogenia de EC. Se ha observado que p31-43 modifica el tráfico de vesículas, permanece en el retículo endoplásmico sin degradación, produce estrés celular, aumento de intermediarios reactivos del oxígeno y apoptosis (Giovannini C., et al 2003; Barone MV., et al, 2007, 2011; Luciani A., et al, 2010). Este péptido induce también la expresión de IL-15 citoquina que, entre otras funciones, tiene dos efectos: es un fuerte inductor de la expresión de MICA en enterocitos y potencia la actividad citotóxica de los linfocitos intraepiteliales que expresan NKG2D. MICA es una molécula que se expresa en niveles muy bajos en tejidos normales pero que como consecuencia de diferentes situaciones patológicas se expresa en altos niveles en superficie celular. Allí funciona como un indicador de estrés dado que es reconocida por un receptor denominado NKG2D que se expresa en diferentes células citotóxicas (células NK, linfocitos T CD8 y linfocitos T $\gamma\delta$). En conjunto, estos eventos determinan un incremento de la apoptosis de los enterocitos, lo que contribuye a la

atrofia de vellosidades característica de los pacientes con enfermedad activa (Hue S. et al., 2004; Meresse et al., 2004).

Pasaje diferencial de péptidos de gliadinas.

Por su elevado contenido de prolinas, el gluten es muy resistente a la acción de las enzimas digestivas y, por lo tanto, en el lumen intestinal existen fragmentos residuales de gran tamaño. El caso más ilustrativo es el fragmento 33mer de α -gliadinas que permanece intacto aún después de una extensa incubación con enzimas gástricas, pancreáticas y del ribete en cepillo.

Estos fragmentos no digeridos tienen una acción directa sobre el epitelio provocando, por ejemplo, una disminución de la resistencia eléctrica y, por consiguiente, aumento de permeabilidad. En este mecanismo puede participar, entre otros mediadores, el IFN- γ , citoquina que afecta la integridad de la unión estrecha y contribuye a incrementar el pasaje paracelular (Schumann M et al., 2008). La traslocación transepitelial de péptidos de gliadinas se encuentra incrementada en la EC activa y se normaliza luego de la introducción de la dieta libre de gluten. Es llamativo que los péptidos de gliadinas son transportados en forma intacta en biopsias duodenales de pacientes celíacos mientras que sufren una fuerte degradación en piezas de individuos control. Este transporte eficiente depende del receptor CD71 que es sobreexpresado en la superficie apical de enterocitos en EC activa y actúa de mediador en el transporte de complejos IgA-gliadinas. Estos complejos son transportados intracelularmente en forma protegida de la degradación y descargados en la *lamina propria* contribuyendo a la respuesta inflamatoria en la mucosa (Matysiak-Budnik T. et al., 2003,

2008; Heyman M. et al., 2012).

Células dendríticas y macrófagos en mucosa intestinal en EC activa.

Como mencionamos, los péptidos derivados de gluten son resistentes a la degradación proteolítica en el lumen intestinal y muchos de ellos son transportados a través del epitelio en forma intacta. Una vez en la *lamina propria*, estos péptidos son procesados y presentados en moléculas de HLA clase II en células presentadoras de antígeno para inducir activación específica de linfocitos T CD4⁺. En este sentido, se ha demostrado que las células dendríticas HLA-DQ2⁺ aisladas de la *lamina propria* de biopsias de intestino delgado de pacientes celíacos presentan péptidos derivados de gluten en moléculas de HLA de clase II e inducen la proliferación antígeno-específica de clones T obtenidos de mucosa intestinal de pacientes celíacos. Tanto las células dendríticas como macrófagos pueden actuar como células presentadoras de antígeno DQ2⁺ en la *lamina propria* del intestino delgado (Raki M. et al., 2006). Hallazgos recientes muestran la participación de diferentes poblaciones de células dendríticas y macrófagos en EC activa que poseen diferentes actividades regulatorias y proinflamatorias (Beitnes A et al., 2011, 2012). Es posible que alguna de estas células colabore también en la amplificación de linfocitos T CD4⁺ del perfil Th17. En especial, se ha observado incremento de IL-21 a nivel de mensajero en mucosa intestinal celíaca. A su vez, linfocitos T específicos de péptidos de gluten aislados de mucosa intestinal en EC activa producen IL-21. Estas células pueden contribuir, conjuntamente con los linfocitos Th1, a la perpetuación y cronicidad de la lesión en la mucosa intestinal (Bodd M et al., 2010; Meresse B et al., 2012).

Rol de Transglutaminasa 2 en la patogenicia.

La transglutaminasa 2 (TG2) pertenece a una familia de enzimas que catalizan la formación de uniones covalentes entre grupos amino de lisina y amido de glutamina actividad que requiere la presencia del ión Ca^{2+} . Primero identificada como el principal autoantígeno detectado en la prueba de anticuerpos anti-endomisio y nuevo antígeno para serología por ELISA, TG2 adquirió luego mayor relevancia cuando se demostró su rol en la patogenicia de la EC. TG2 tiene un sitio activo que produce entrecruzamiento por uniones covalentes entre cadenas peptídicas pero también deamidación selectiva de glutaminas (Arentz-Hansen et al., 2000; Fesus L. and Piacentini M., 2002). La mayor parte de la actividad de deamidación producida por TG2 ocurre en el espacio extracelular. Sin embargo, en condiciones basales, en el espacio extracelular TG2 está inactiva y sólo bajo condiciones inflamatorias se produce un cambio hacia la forma enzimáticamente activa (Skovbjerg H. et al., 2008; Siegel M. et al., 2008). Este evento establece una vinculación directa entre el proceso inflamatorio y la generación de la respuesta T específica de péptidos de gluten.

Diferencias funcionales de la presentación de los péptidos de gliadinas en las moléculas de HLA-DQ2/DQ8.

Uno de los avances más importantes en la comprensión de los mecanismos de patogenicia de las enfermedades autoinmunes fue el aislamiento de linfocitos T de tejidos donde se desarrolla el proceso autorreactivo. Uno de los primeros casos fue el establecimiento de líneas T de mucosa intestinal de pacientes celíacos (Lundin KE., et al. 1993). La caracterización de la reactividad

de estos linfocitos T restringidos a los alelos de susceptibilidad permitió la identificación de los epitopes T en las secuencias de α -gliadinas, γ -gliadinas, ω -gliadinas y gluteninas (**Figura 2**) (Molberg O et al., 1997; van de Wal Y. et al 1998). Las moléculas HLA-DQ2 y DQ8 tienen preferencia por aminoácidos cargados negativamente en ciertas posiciones de anclaje. Estas cargas son generadas por deamidación específica (conversión de residuos de glutaminas en ácido glutámico) por actividad de la enzima TG2 (Shan L. et al, 2002).

Debido a su especial capacidad de acomodar péptidos ricos en prolina y su preferencia por residuos con carga negativa (glutamato) como residuo de posición de anclaje, la molécula HLA-DQ2 es excepcionalmente adecuada para unir péptidos con alto contenido de prolina y glutamina producidos por digestión luminal y deamidación por TG2. Aunque HLA-DQ8 comparte algunas de estas propiedades, presenta diferentes características de unión, con menores constantes de asociación y confiere un menor riesgo relativo.

Las características de unión de los péptidos derivados de gluten a las moléculas HLA-DQ2 o DQ8 determinan una presentación antigénica eficiente que permite la formación de una sinapsis inmunológica entre las células presentadoras de antígeno y los linfocitos T y, consecuentemente, la activación de éstos. En el caso particular de la EC, la presentación de péptidos derivados de gluten por células dendríticas determina la activación y diferenciación de linfocitos T CD4 hacia un perfil Th1, proceso que ocurre en los ganglios mesentéricos y se acompaña de la inducción de marcadores de direccionamiento ("homing") a intestinal. Luego de alcanzar este si-

tio, los linfocitos Th1 (como células efectoras productoras de citoquinas proinflamatorias) recirculan y se localizan en *lamina propria* del intestino delgado. Ante la ingesta de proteínas de trigo, estos linfocitos Th1 serán activados específicamente por células presentadoras de antígeno locales (células dendríticas y macrófagos) y producirán grandes cantidades de diversas citoquinas inflamatorias entre la que se destaca el interferón (IFN)- γ . En su conjunto, estos eventos llevan al daño de la mucosa intestinal debido a la magnitud de dicha respuesta inflamatoria.

■ HLA COMO FACTOR DE SUSCEPTIBILIDAD

En la población europea, casi el 95% de los pacientes celíacos expresan HLA-DQ2, molécula que puede ser generada a partir de dos conformaciones cromosómicas, ya sea en cis en el haplotipo DR3/DQ2 o bien en trans en individuos DR5/DR7 (**Figura 3**). Los estudios genéticos muestran que la mayoría de los pacientes celíacos son HLA-DQ2: DQA1*0501, DQB1*0201 (variante codificada como DQ2.5) o DQ8: DQA1*03, DQB1*0302. Entre los pacientes que no expresan esos alelos se encuentran algunos que expresan DQA1*0201, DQB1*0202 (variante codificada como DQ2.2). Las tres moléculas de clase II pueden presentar péptidos de gliadinas en ensayos de estimulación específica de linfocitos T. Entre las variantes de DQ2 se observa que DQ2.5 está fuertemente asociada a EC y también a otras enfermedades autoinmunes. En cambio DQ2.2 tiene un menor riesgo asociado a EC y no se ha descrito asociación con otras patologías autoinmunes (Jabri B. and Sollid L., 2009).

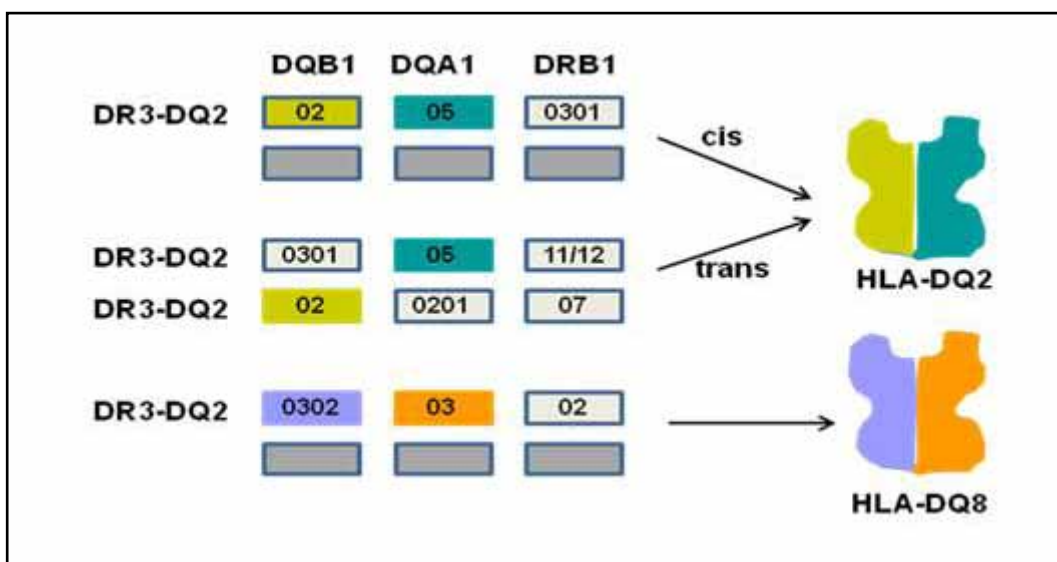


Figura 3. Conformación de las moléculas de susceptibilidad HLA-DQ2/DQ8 de acuerdo a la constitución haplotípica.

■ **GENES ASOCIADOS A EC**

La EC tiene un origen multigénico. Casi la totalidad de la población celíaca expresa uno u otro de los alelos HLA-DQ2/DQ8 aunque estos alelos contribuyen sólo en 35% al riesgo genético de susceptibilidad. Por ello, deben existir otros factores genéticos implicados. Estudios de asociación genética (GWAS; Genome Wide Association Studies) permitieron describir 26 regiones genómicas con asociación a EC (Dubois et al., 2010; Trynka G., et al 2011; Abadie V et al., 2011).

En los casos donde se pudieron definir genes con funciones conocidas se encontraron genes asociados con procesos inflamatorios e inducción de apoptosis, entre otros (Mon-suur AJ., et al. 2005; Van Heel D., 2007; Castellanos-Rubio A. et al., 2009). Estos genes pueden participar en innumerables procesos biológicos en la mucosa intestinal (**Tabla 3**).

La contribución individual de cada gen es muy baja y la complejidad de la patogenia hace difícil establecer el impacto de cada uno. Sin embargo, aun realizando un complejo análisis genético es claro que

otros factores externos, entre los que se han considerado a las infecciones entéricas, serían determinantes en el desencadenamiento de la enfermedad (Abadie V. et al. 2011; Meresse B et al., 2012).

■ **MODELOS ANIMALES EN EL ESTUDIO DE EC**

En muchas enfermedades, en particular en las que el sistema inmune está involucrado, el empleo de modelos animales ha permitido una sustancial contribución al conocimiento de los mecanismos de patogenia. Para el estudio de EC se han

Tabla 3. Genes (no HLA) asociados a Enfermedad Celíaca y su posible rol funcional en la patogenia	
Vías involucradas	Genes asociados
Desarrollo de linfocitos T (maduración/diferenciación)	THEMIS, RUNX3, ETS1, TNFRSF14
Maduración y diferenciación de linfocitos Th1	IL-2, IL-21, IL-12A, IL-23R, IL-18R1/IL-18RAP
Vías de señalización en células del sistema inmune	CTLA4, SH2B3, ICOSLG, RGS1, superfamilia TNFRSF4/9/14, superfamilia de quimoquinas y receptores (CCR), SOCS1
Inmunidad innata: Respuesta a la infección (virus)	TLR7, TLR8, IRF4, BACH2
Inmunidad innata: señalización de la vía NFκB	REL, TNFAIP3, TNFRSF9

propuesto complejos modelos experimentales que se basan en el empleo de animales modificados genéticamente. Sin embargo, en ningún caso se pudo reproducir completamente la patología observada en intestino delgado humano (Marietta EV et al., 2012). Por ejemplo, en animales transgénicos que expresan las moléculas humanas CD4 y HLA-DQ2, luego de ser desafiados con gliadinas, se encontraron linfocitos T CD4⁺ específicos en *lamina propria* pero no se observó enteropatía (deKauwe A et al., 2009). En un sistema más complejo, De Paolo R. et al. (2011) mostraron que la administración de ácido retinoico en animales transgénicos que sobreexpresan IL-15 en mucosa intestinal produce una severa desregulación con fuerte producción de IFN γ y aumento del número de linfocitos intraepiteliales. En este modelo, las citoquinas IL-12 e IL-23 serían determinantes en el mecanismo desencadenado. Sin embargo, no se observaron signos claros de alteración histológica. Estos resultados evidencian la complejidad de los componentes que participan en la mucosa intestinal humana para el desarrollo de EC.

■ SENSIBILIDAD AL GLUTEN

Hasta ahora hemos descripto a EC como una patología producida como respuesta inmune al gluten en individuos genéticamente susceptibles. Sin embargo, en los últimos años se ha observado una condición muy frecuente donde los pacientes presentan signos variados y difusos de alteración gastrointestinal (como dolor abdominal, motilidad alterada, incremento de permeabilidad), sin serología de EC ni alteración histológica en la mucosa intestinal. Los pacientes responden favorablemente a la dieta de exclusión de gluten. Esta condición, denominada Sensibilidad al gluten no-celiaca, genera un desafío en el descubrimiento de

los factores que la desencadenan y en su diagnóstico definitivo (Troncone R and Jabri B., 2011).

■ CONCLUSIONES

La enfermedad celíaca es una enteropatía crónica donde participan complejos mecanismos de la respuesta inmune innata y adaptativa. Aunque es una enfermedad que tiene elevada prevalencia, la presentación clínica variable y la falta de búsqueda adecuada, generan un alto nivel de subdiagnóstico. En este sentido, los avances en el desarrollo de nuevos ensayos de serología, con mayor sensibilidad y especificidad, han permitido revelar la verdadera prevalencia de la enfermedad (con un aumento relevante en el número de casos con clínica atípica o formas asintomáticas). El diagnóstico temprano y el seguimiento de una dieta estricta libre de gluten normalizan la fisiología de la mucosa intestinal y reduce significativamente las complicaciones observadas en aquellos pacientes sin tratamiento.

Las investigaciones en curso se orientan a definir otros factores ambientales (como lactancia y edad de introducción del gluten, infecciones, cambios en la microbiota, etc.) que podrían ser determinantes en el inicio de la patología. A su vez, nuevos estudios buscan identificar factores genéticos asociados, y cómo éstos pueden condicionar el inicio o la forma de la presentación clínica. Aunque el conocimiento de la patogenia es muy profundo, existen aspectos críticos que aun no se han esclarecido completamente. No obstante, la información acumulada seguramente será de utilidad para proponer estrategias terapéuticas alternativas.

■ REFERENCIAS

- Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB,

Jabri B. (2011). Integration of Genetic and Immunological Insights into a Model of Celiac Disease Pathogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* 29, 493–525.

- Arentz-Hansen H, Korner R., Molberg O., Quarsten H., Vader W., Kooy. Y., Lundin K.E.A., Koning F., Roepstorff P., Sollid L. M and McAdam S. (2000) The intestinal T cell response to alfa gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J. Exp. Med.* 191, 4: 603-612.
- Arranz E, Bode J, Kingstone K, Ferguson A. (1994). Gamma/delta T cell receptor expression by intraepithelial lymphocytes in relation to other indices of potential coeliac disease. *Gut.* 35. 476-82.
- Barone MV, Gimigliano A, Castoria G, Paoletta G, Maurano F, Papparo F, Maglio M, Mineo A, Miele E, Nanayakkara M, Troncone R, Auricchio S. (2007). Growth factor-like activity of gliadin, an alimentary protein: implications for coeliac disease. *Gut.* 56, 480-488.
- Barone MV, Zanzi D, Maglio M, Nanayakkara M, Santagata S, Lania G, Miele E, Ribocco MT, Maurano F, Auricchio R, Gianfrani C, Ferrini S, Troncone R, Auricchio S. (2011) Gliadin-mediated proliferation and innate immune activation in celiac disease are due to alterations in vesicular trafficking. *PLoS One.* 6, e17039.
- Beitnes AC, Ráki M, Lundin KE, Jahnsen J, Sollid LM, Jahnsen FL. (2011). Density of CD163⁺ CD11c⁺ dendritic cells increases and CD103⁺ dendritic cells decreases in the coeliac lesion. *Scand J Immunol.* 74, 186-94.
- Beitnes AC, Ráki M, Brottveit M, Lundin KE, Jahnsen FL, Sollid LM. (2012). Rapid accumulation of CD14⁺CD11c⁺ dendritic cells in gut mucosa of celiac disease

- after in vivo gluten challenge. *PLoS One*. 7, e33556.
- Bodd M, Ráki M, Tollefsen S, Fallang LE, Bergseng E, Lundin KE, Sollid LM. (2010). HLA-DQ2-restricted gluten-reactive T cells produce IL-21 but not IL-17 or IL-22. *Mucosal Immunol*. 3, 594-601.
 - Brocchi E, Tomassetti P, Misitano B, Epifanio G, Corinaldesi R, Bonvicini F, Gasbarrini G, Corazza G. (2002). Endoscopic markers in adult coeliac disease. *Dig Liver Dis*. 34, 177-82.
 - Castellanos-Rubio A, Santin I, Martín-Pagola A, Irastorza I, Castaño L, Vitoria JC, Bilbao JR. (2010). Long-term and acute effects of gliadin on small intestine of patients on potentially pathogenic networks in celiac disease. *Autoimmunity*. 43, 131-9.
 - Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe SE, Brown AR, Procaccini NJ, Wonderly BA, Hartley P, Moreci J, Bennett N, Horvath K, Burk M, Fasano A. (2007). Detection of celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. *Am. J. Gastroenterol*. 102, 1454-60.
 - de Kauwe AL, Chen Z, Anderson RP, Keech CL, Price JD, Wijburg O, Jackson DC, Ladhams J, Allison J, McCluskey J. (2009). Resistance to celiac disease in humanized HLA-DR3-DQ2-transgenic mice expressing specific anti-gliadin CD4+ T cells. *J Immunol*. 182, 7440-50.
 - DePaolo RW, Abadie V, Tang F, Fehlner-Peach H, Hall JA, Wang W, Marietta EV, Kasarda DD, Waldmann TA, Murray JA, Semrad C, Kupfer SS, Belkaid Y, Guandalini S, Jabri B. (2011). Co-adjunct effects of retinoic acid and IL-15 induce inflammatory immunity to dietary antigens. *Nature*. 471, 220-4.
 - Dubois PC, et al. (2010). Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet*. 42, 295-302.
 - Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. (1993) Clinical y pathological spectrum of celiac disease. Active, silent, latent, potential. *Gut*. 34, 150-1.
 - Fesus L, Piacentini M. (2002). Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends Biochem Sci*. 27, 534-9.
 - Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, Castelletto R, Echeverría R, Sugai E, Vazquez H, Mauriño E, Bai JC. (2001). Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol*. 96, 2700-4.
 - Gomez JC, Selvaggio G, Pizarro B, Viola MJ, La Motta G, Smecuol E, Castelletto R, Echeverria R, Vazquez H, Mazure R, Crivelli A, Sugai E, Mauriño E, Bai JC. (2002). Value of a screening algorithm for celiac disease using tissue transglutaminase antibodies as first level in a population-based study. *Am J Gastroenterol*. 97, 2785-90.
 - Giovannini C, Matarrese P, Scanzocchio B, Varí R, D'Archivio M, Straface E, Masella R, Malorni W, De Vincenzi M. (2003). Wheat gliadin induces apoptosis of intestinal cells via an autocrine mechanism involving Fas-Fas ligand pathway. *FEBS Lett*. 540, 117-24.
 - Green P.H., Cellier C. (2007). Celiac disease. *N Engl J Med*. 357, 1731-43.
 - Heyman M, Abed J, Lebreton C, Cerf-Bensussan N. (2012). Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. *Gut*. 61, 1355-64.
 - Hüe S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, Verkarre V, Fodil N, Bahram S, Cerf-Bensussan N, Caillat-Zucman S. (2004). A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*. 21, 367-77.
 - Jabri B and Sollid LM. (2009). Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nat Rev Immunol*. 9, 858-70.
 - Lewis NR, Holmes G. (2010). Risk of morbidity in contemporary celiac disease. *Exp Rev gastroenterol Hepatol*. 4, 767-80.
 - Luciani A, Vilella VR, Vasaturo A, Giardino I, Pettoello-Mantovani M, Guido S, Cexus ON, Peake N, Londei M, Quarantino S, Maiuri L. (2010). Lysosomal accumulation of gliadin p31-43 peptide induces oxidative stress and tissue transglutaminase-mediated PPARgamma downregulation in intestinal epithelial cells and coeliac mucosa. *Gut*. 59, 311-9.
 - Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O, Thorsby E, Sollid LM. (1993). Gliadin-specific, HLA-DQ (a1*0501, b1*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. *J. Exp. Med*. 178, 187-96.
 - Marietta EV, Murray JA. (2012). Animal models to study gluten sensitivity. *Semin Immunopathol*. 34, 497-511.
 - Marsh MN. (1992). Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("celiac sprue"). *Gastroenterology*. 102, 220-354.
 - Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namane A, Cellier C, Cerf-Bensussan N, Heyman M. (2003). Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*. 125, 696-707.
 - Matysiak-Budnik T, Moura IC, Ar-

- cos-Fajardo M, Lebreton C, Ménard S, Candalh C, Ben-Khalifa K, Dugave C, Tamouza H, van Niel G, Bouhnik Y, Lamarque D, Chaussade S, Malamut G, Cellier C, Cerf-Bensussan N, Monteiro RC, Heyman M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *J Exp Med.* 205, 143-54.
- Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, Raulet DH, Lanier LL, Groh V, Spies T, Ebert EC, Green PH, Jabri B. (2004). Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity.* 21, 357-66.
 - Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. (2012). Celiac disease: an immunological jigsaw. *Immunity.* 36, 907-19.
 - Molberg O, Kett K, Scott H, Thorsby E, Sollid LM, Lundin KE. (1997). Gliadin-specific, HLA-DQ2-restricted T cells are commonly found in small intestinal biopsies from coeliac disease patients, but not from controls. *Scand J Immunol.* 46, 103-108.
 - Monsuur AJ., et al. (2005). Myosin IXB variant increases the risk of celiac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nat Genet.* 37, 1341-44.
 - Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. (199). The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 11, 1185-1194.
 - Piccini B, Vascotto M, Serracca L, Luddi A, Margollicci MA, Balesstri P, Vindigni C, Bassotti G, Villanacci V. (2012). HLA-DQ typing in the diagnostic algorithm of celiac disease. *Rev. Esp. Enferm. Dig. (Madrid).* 104, 248-254.
 - Qiao SW, Iversen R, Ráki M, Sollid LM. (2012). The adaptive immune response in celiac disease. *Semin Immunopathol.* 34, 523-40.
 - Ráki M, Tollefsen S, Molberg Ø, Lundin KE, Sollid LM, Jahnsen FL. (2006). A unique dendritic cell subset accumulates in the celiac lesion and efficiently activates gluten-reactive T cells. *Gastroenterology.* 131, 428-38.
 - Rampertab SD, Pooran N, Brar P, Singh P, Green PH. (2006). Trends in the presentation of celiac disease. *Am. J. Med.* 119, 335.
 - Ravelli AM, Tobanelli P, Minelli L, Villanacci V, Cestari R. (2001). Endoscopic features of celiac disease in children. *Gastrointest Endosc.* 54, 736-42.
 - Schumann M, Richter JF, Wedell I, Moos V, Zimmermann-Kordmann M, Schneider T, Daum S, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD. (2008). Mechanisms of epithelial translocation of the alpha(2)-gliadin-33mer in coeliac sprue. *Gut.* 57, 747-54.
 - Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. (2002). Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 297, 2275-9.
 - Shewry P.R. and Halford N.G. (2002). Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *J. Exp. Botany.* 53, 947-958
 - Siegel M, Strnad P, Watts RE, Choi K, Jabri B, Omary MB, Khosla C. (2008). Extracellular transglutaminase 2 is catalytically inactive, but is transiently activated upon tissue injury. *PLoS One.* 3, e1861.
 - Skovbjerg H, Anthonsen D, Knudsen E, Sjöström H. (2008). Deamidation of gliadin peptides in *lamina propria*: implications for celiac disease. *Dig Dis Sci.* 53, 2917-24.
 - Sollid LM and Lie BA. (2005). Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 3, 843-851.
 - Troncone R, Jabri B. (2011). Coeliac disease and gluten sensitivity. *J Intern Med.* 269, 582-90.
 - Trynka G., et al. (2011). Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet.* 43, 1193-201.
 - van de Wal I., Kooy. Y., van Veelen P., Pena S., Mearin L., Papadopoulos G. and Koning F. (1998). Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J. Immunol.* 161, 1585-1588.
 - van Heel DA. et al. (2007). A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nat Genet.* 39, 827-9.
 - Vermeersch P, Geboes K, Mariën G, Hoffman I, Hiele M, Bossuyt X. (2012). Serological diagnosis of celiac disease: comparative analysis of different strategies. *Clin Chim Acta.* 413, 1761-7.