

PROBIÓTICOS: NUEVOS HORIZONTES EN EL TRATAMIENTO NUTRICIONAL DE LA ENFERMEDAD CELÍACA

Mandagaran, Mercedes Agustina; Novaro, Florencia; Raschia, Virginia; Solano, Blanco Miranda, Jimena; Fioravanti, Silvia Mercedes.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

La enfermedad celíaca es una enteropatía autoinmune determinada genéticamente (genotipo HLA-DQ 2/8) y desencadenada por la exposición a las proteínas del gluten. Estas son características necesarias pero no suficientes para desarrollarla, ya que existe un 30% de la población general que presenta los genes, pero sólo 2 al 5% presenta la enfermedad. Actualmente el único tratamiento existente es la dieta libre de gluten permanente y de por vida.

Las técnicas actuales de secuenciación de alto rendimiento han permitido estudiar en detalle la diversidad bacteriana en el intestino humano. Esto permitió identificar alteraciones en la microbiota (disbiosis) de pacientes celíacos respecto de la población sana. En la presente revisión bibliográfica se busca describir las modificaciones encontradas, así como las posibles opciones terapéuticas a partir del uso de probióticos en los alimentos.

Palabras clave:

Enfermedad celíaca; dieta sin gluten; microbiota; disbiosis; probióticos.

ABSTRACT

Celiac disease is a genetically determined autoimmune enteropathy (genotype HLA-DQ 2/8) triggered by exposure to gluten proteins. These characteristics constitute necessary but not sufficient conditions. While 30% of the population has these genes, only between 2 and 5% of them show the disease. Currently, the only existing treatment is the permanent gluten-free diet for life.

Current high-throughput sequencing techniques have allowed the detailed study of the bacterial diversity in the human gut. This made it possible to identify alterations in the microbiota (dysbiosis) of celiac patients compared to the healthy population. In the present bibliographic review, we seek to describe the existing alterations, as well as the possible therapeutic options based on the use of probiotics in food.

Key Words:

Celiac disease; gluten-free diet; microbiota; dysbiosis; probiotics.

I. INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han encontrado alteraciones de la microbiota intestinal (MI), tanto en individuos sanos genéticamente predispuestos a desarrollar enfermedad celíaca (EC), como en pacientes con EC activa recién diagnosticados y pacientes con EC controlada con dieta libre de gluten (DLG). Por lo tanto nuestro propósito es relevar la información disponible a fin de establecer la posibilidad de incluir probióticos como una nueva herramienta en el tratamiento nutricional de la enfermedad.

La EC es una enteropatía autoinmune crónica, determinada genéticamente, desencadenada por el consumo de proteínas específicas con características estructurales similares que se conocen en su conjunto como gluten.¹ Estos genes están presentes en el 30-40% de la población general, pero sólo un pequeño porcentaje de los portadores desarrolla la enfermedad. El gluten es el factor ambiental desencadenante, pero no suficiente para explicar la manifestación de EC. Muchos pacientes experimentan intolerancia al gluten en la adultez, luego de muchos años de exposición.²

En el trigo, el gluten contiene dos tipos de proteínas que son la gliadina y la glutenina, en la cebada las proteínas que causan la enfermedad se denominan hordeinas, en el centeno, secalinas y en la avena, aveninas.³ Actualmente en muchos países se acepta la incorporación de la avena a DLG. En Argentina, sin embargo, la recomendación sigue siendo eliminar los cuatro

cereales de la alimentación, dado que aún no se conocen sus efectos a largo plazo y existen casos de respuesta inmune específica a la avenina.^{4, 5}

En Argentina, la prevalencia en niños es de 1,26% mientras que en la población adulta es de 0,6% siendo mayor en mujeres que en hombres.⁵ En los últimos veinte años se evidenció un aumento de la prevalencia de EC, fluctuando entre un 1% y 2% del total de la población, convirtiéndose así en la intolerancia alimentaria que se presenta con mayor frecuencia a nivel mundial. Este incremento se explica en parte por los adelantos en los métodos diagnósticos que han permitido identificar mayor cantidad de casos.

Por otro lado, se ha observado un creciente aumento en el diagnóstico a principios y fines de la adultez, lo cual advierte la presencia de factores ambientales que posiblemente desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la misma.^{5, 6}

Se acepta que estos factores ambientales, como tipo de parto, tipo de lactancia, infecciones intestinales, consumo de antibióticos, y alimentación habitual afectarían directamente a la composición de la MI. Se ha asociado la introducción tardía del gluten en la alimentación durante los primeros años de vida a un retraso en la aparición de la enfermedad, es decir, la aparición de la misma durante la adultez. Cuanto antes se introduzca el gluten, será más precoz la sintomatología y más agudas las manifestaciones.^{5, 6} Además, estudios recientes han confirmado la hipótesis sobre la disminución de la población microbiana como consecuencia de las condiciones higiénicas mejoradas, que puede haber contribuido al crecimiento de la prevalencia de enfermedades autoinmunes en los países desarrollados.⁷

Los pacientes con EC presentan alteraciones en la MI, denominadas disbiosis, que no se normalizan completamente aún luego de la adherencia a la DLG.

Mecanismos inmunes tanto innatos como adaptativos, donde la interacción de linfocitos-T presentadores de antígenos es central, son necesarios para el desarrollo de la enfermedad.

Nueva evidencia sugiere que la triada que mejor explicaría la probabilidad de desarrollar la enfermedad está integrada por la predisposición genética del individuo, señales y funciones codificadas por el llamado segundo genoma humano (microbioma) y otros factores ambientales que, en conjunto, pueden regular las vías patógenas activadas por el gluten.²

El único tratamiento posible en la actualidad es la exclusión total y de por vida de los cereales que contienen gluten y sus derivados, lo que implica una condición muy difícil de manejar, ya que gran parte de los alimentos de consumo habitual lo contienen o pueden presentar trazas.

Los pacientes que logran adhesión permanente a la alimentación libre de gluten mejoran la calidad de vida; aunque, en un 30 % de los casos, la falta de cumplimiento de DLG implica la persistencia de síntomas y la aparición de complicaciones, y, aún en aquellos pacientes tratados, la mucosa intestinal se normaliza totalmente sólo en el 8 % de los casos.⁸

Los avances actuales en el tratamiento de la EC incluyen herramientas como gluten genéticamente modificado, lo que implicaría transgenicidad, vacunas, inhibidores de zonulina, inhibidores de la transglutaminasa tisular y el

estudio de las alteraciones de la microbiota, que pueden indicar a los probióticos como una nueva opción terapéutica.¹

II. ENFERMEDAD CELÍACA

Componente genético

La predisposición genética para desarrollar EC está dada por las variantes ubicadas en la región que se conoce como complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), formado por genes que se clasifican en tres grupos: I, II y III, de acuerdo a su estructura química, distribución en los tejidos y sus funciones. Los genes presentes en el grupo I codifican los heterodímeros de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) A, B y C, presentes en todas las células, excepto glóbulos rojos y plaquetas. Los de clase II, se encuentran en las células del sistema inmune siendo éstos, HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR. Las variantes comúnmente observadas en la enfermedad celíaca son los haplotipos HLA-DQ8 y HLA-DQ2 y se caracterizan por producir receptores celulares con mayor afinidad por los péptidos de gliadina que otros presentadores de antígenos, lo que podría aumentar y alterar las respuestas inmunes.⁹

El 95% de los pacientes celíacos expresan una de estas dos moléculas, lo cual indica que es un factor necesario para el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, no es un factor suficiente, ya que existe un 30% de la población general que presenta los genes, del cual tan sólo 2 a 5% desarrolla la enfermedad.¹⁰

Se han encontrado en el genoma humano otras regiones de susceptibilidad para el desarrollo de EC, algunas de ellas presentes en otras patologías autoinmunes. La mayoría de las regiones cromosómicas implicadas en el desarrollo de EC, pertenecen a genes que regulan funciones inmunitarias y la colonización bacteriana. La expresión anómala de genes de susceptibilidad

para EC se ha asociado a distintas alteraciones en la relación huésped – microbiota intestinal, como la expresión de los receptores Toll-like (TLR).

Al igual que en enfermedad inflamatoria intestinal, se ha postulado que la alteración de genes específicos y no específicos de riesgo de EC, pueden influir en la respuesta inmune y cambios en la composición de la microbiota intestinal y su genoma.¹¹

Diagnóstico

El diagnóstico precoz se debe realizar tanto en niños como en adultos cuando se presentan síntomas típicos o atípicos, y también cuando se trata de personas que pertenecen a un grupo de riesgo.

Para identificar aquellas personas que poseen mayor probabilidad de presentar la enfermedad, se realiza en primera instancia el dosaje de anticuerpos en sangre, contemplando que un resultado negativo no descarta la posibilidad de presentar la patología.

Los marcadores serológicos que se utilizan son:

- Anticuerpos antigliadina (AGA): pudiendo ser IgA o IgG. Poseen una gran variabilidad en cuanto a su sensibilidad y su especificidad, por lo tanto son los menos confiables.
- Anticuerpos antiendomiso (EMA): pudiendo ser IgA o IgG. Poseen una sensibilidad del 99,7% y una especificidad de 92%.
- Anticuerpos antitransglutaminasa tisular humana (a-tTG): pudiendo ser IgA o IgG; siendo éstos los más utilizados. Poseen una sensibilidad del 95,2% y una especificidad de 97,9%.

Para la confirmación del diagnóstico, se necesita llevar a cabo una biopsia del duodeno proximal o yeyuno. Antes de realizarse esta prueba, el paciente debe seguir una dieta que contenga gluten, ya que la ausencia del mismo en la alimentación, podría variar el resultado histológico.¹²

Con el fin de poder determinar la gravedad de las lesiones en el intestino delgado, existe un protocolo: la escala de Marsh, con diferentes grados según el daño revelado por la biopsia realizada.

La escala de Marsh diferencia 4 grados de lesiones:

- Grado 0: se relaciona con la etapa preinfiltrativa de la patología, es decir, antes de que los linfocitos infiltren la lámina propia intestinal.
- Grado 1: en estas muestras existen mayor cantidad de linfocitos intraepiteliales. No solamente se produce cuando existe enfermedad celíaca, sino que hay otras condiciones que la pueden causar como la presencia de *Helicobacter Pylori*, o un gran consumo de antiinflamatorios no esteroideos.
- Grado 2: en esta etapa existe una imagen similar a la 1 en cuanto a la cantidad de linfocitos intraepiteliales, pero además se evidencian criptas hiperplásicas. Se suele ver en pacientes que cursan con dermatitis herpetiforme (DH).
- Grado 3: recién en esta etapa es donde se suele diagnosticar EC. Presenta una muestra con mayor cantidad de linfocitos intraepiteliales y de mayor tamaño; criptas hiperplásicas y se adiciona la aparición de atrofia vellositaria. En función de esta última característica, se divide a este en 3 niveles:

3A: atrofia vellositaria parcial o leve.

3B: atrofia vellositaria subtotal o moderada.

3C: atrofia vellositaria total o completa.

- Grado 4: no sólo existe un revestimiento intestinal plano, sino que también las criptas se encuentran totalmente encogidas. No es muy frecuente este tipo de muestras; se relaciona con una mayor probabilidad de complicaciones de enfermedad celíaca.

Luego de esto, se determina que existe una EC activa en los casos que se observa algún grado de atrofia vellositaria. En caso que ésta no esté presente, se considera una EC potencial. Por último, hay casos donde existe una diferencia entre el resultado de los anticuerpos con los de la biopsias duodenales; aquí puede ser importante determinar HLA DQ-2/ DQ-8.

Una vez realizada la biopsia y el dosaje de anticuerpos, se podrá indicar la DLG.

El diagnóstico definitivo, entonces, se compone de los indicadores serológicos, la biopsia intestinal y la desaparición de los síntomas cuando se realiza la DLG.¹²

Cuadro clínico

La sintomatología es muy heterogénea y se observan diferencias entre la población pediátrica y la población adulta. La primera suele cursar con síntomas gastrointestinales: diarrea crónica, distensión abdominal, hiporexia y malabsorción de nutrientes, por lo que se evidencia en muchos casos pérdida de peso y baja talla.

En la población adolescente y adulta, en cambio, se ven con mayor frecuencia síntomas extraintestinales: anemia ferropénica, piel seca, alteración del esmalte dentario, aftas o llagas bucales, y DH.

Esta última, también conocida como Enfermedad de Durgin Brocq, es una enfermedad que se relaciona en gran medida con EC. También es una patología autoinmune y puede presentar variados signos ya sean, placas pruriginosas, vesículas y costras en codos, rodillas, nalgas, palmas de manos, plantas de pie y cualquier zona de contacto. Estos signos están acompañados de un intenso prurito. Puede aparecer luego de estar detectada la intolerancia al gluten o ser la primer afección que aparece como síntoma de EC.¹³

Respecto de la prevalencia de esta enfermedad, se ha demostrado que un 25% de los pacientes con celiaquía van a desarrollarla a lo largo de su vida, siendo más común que se presente en la tercera década de vida y en contraposición a la celiaquía, es más frecuente en hombres que en mujeres. Su mayor prevalencia en adultos se debe a que la DH tiene como causa, además de la intolerancia al gluten, la alteración de la inmunidad y otras afecciones intestinales, las cuales son más evidentes en pacientes celíacos que llevan cursando la enfermedad durante mayor cantidad de años.¹⁴

Fisiopatología

Uno de los mecanismos etiopatogénicos de EC implica la digestión ineficiente del gluten por parte de las proteasas en el lumen y el ribete en cepillo intestinal, con producción aumentada de péptidos de gliadina, rica en residuos de glutamina y prolina. Cuando aumenta la permeabilidad de la mucosa en intestino delgado, los péptidos de gliadina cruzan la barrera epitelial y toman

contacto con la enzima transglutaminasa tisular (tTG). Ésta actúa sobre ellos y da como resultado residuos de ácido glutámico, con alta afinidad a las moléculas del CMH tipo II HLA-DQ2 o HLA-DQ8 expresadas en la superficie de las células presentadoras de antígenos (CPA) en la lámina propia intestinal.¹

Las CPA luego presentan estos péptidos a los linfocitos T CD4, gatillando una respuesta inmune gliadina-específica de tipo celular y humoral, aumentando la secreción de citoquinas proinflamatorias como el interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).³

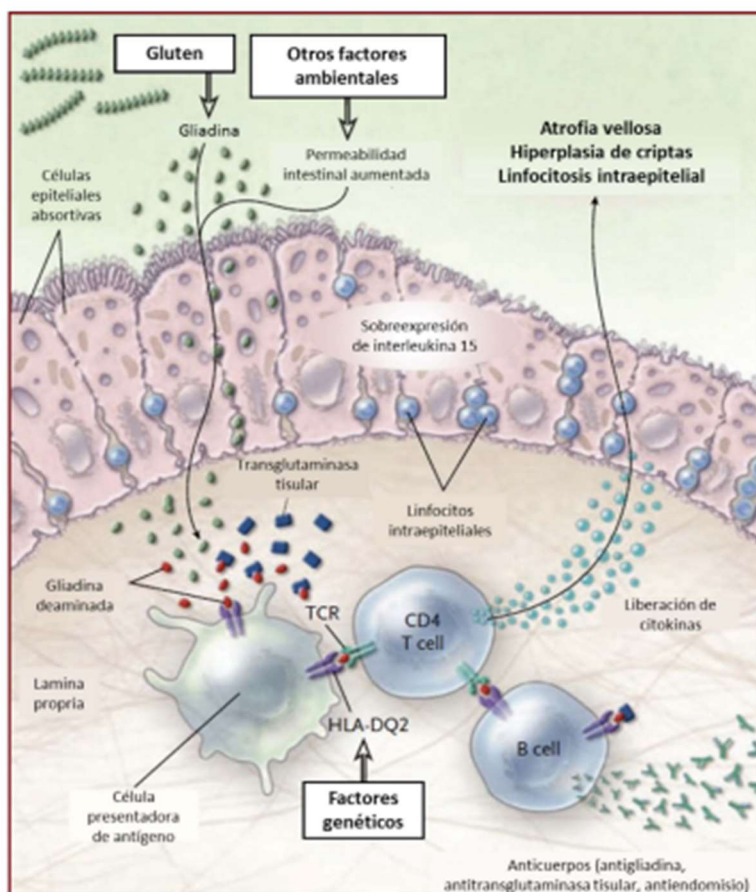
Este mecanismo podría ser responsable de la alteración de la mucosa, atrofia vellositaria e hiperplasia de las células de las criptas y la proliferación de las células intraepiteliales propias de la EC¹, así como también explicar otras manifestaciones sistémicas extradigestivas, expandiéndose a otros órganos como la piel y las articulaciones.¹²

Además de gliadina, el trigo contiene otras proteínas como los inhibidores de la alfa amilasa/tripsina, los cuales fueron identificados como activadores potentes de la respuesta inmune innata, activando la liberación de citoquinas proinflamatorias en monocitos, macrófagos y células dendríticas.¹²

Como se mencionó anteriormente, el aumento de la permeabilidad del epitelio observado en pacientes con EC facilita el pasaje de péptidos de gluten a la lámina propia donde actúa la enzima tTG y las CPA HLA DQ-2/8 los presentan a las células T CD4 también llamadas linfocitos T helper (Th).¹ Los Th se subdividen en Th1 y Th2 según el tipo de respuesta que generan. Los Th1 se relacionan con una acción proinflamatoria e inmunidad celular, siendo las principales citoquinas IFN- γ TNF- α . Los Th2 se relacionan con la inmunidad

humoral, y con respuestas eosinofílicas y alérgicas, secretando interleuquinas (IL) 4, 5 y 13, así como también IL-10, con acción antiinflamatoria.¹⁵

Figura 1: Mecanismos fisiopatológicos de EC



El gluten es digerido en el lumen y ribete en cepillo intestinal a péptidos, principalmente gliadina. En situaciones de aumento de la permeabilidad intestinal, la gliadina entra a la lámina propia donde es desaminada por la enzima tTG, permitiendo la interacción con los receptores HLA-DQ2 o HLA-DQ8 de la superficie de las CPA. La gliadina es presentada entonces a los linfocitos T CD4+ resultando en mayor producción de citoquinas proinflamatorias. La gliadina induce cambios a través de la inmunidad innata en el epitelio y de la inmunidad adaptativa en la lámina propia. En el epitelio el daño provoca la activación los linfocitos intraepiteliales. Estos linfocitos se tornan citotóxicos y dañan los enterocitos que expresan proteínas de stress en su superficie. Todo esto lleva a la atrofia vellositaria e hiperplasia de criptas, y a la

expansión de linfocitos B con la consecuente producción de anticuerpos. Moscoso J F, Quera P R. Enfermedad celíaca. Revisión. Rev Médica Chile. 2016;144(2):211–21.

No está claro si el aumento de la permeabilidad es causa o consecuencia de la EC, ni si ésta es inducida por el gluten solamente o si se hallan implicados otros factores, como una alteración de la MI, ya que las vías codificadas por el microbioma podrían activar las vías patogénicas del gluten en situación de disbiosis.²

Algunos estudios sugieren que alteraciones en la MI pueden causar una mayor permeabilidad en otras enfermedades intestinales ^{1,11}, abriendo así el

espectro de herramientas terapéuticas incluyendo el empleo de probióticos en el tratamiento de EC.

III. MICROBIOTA INTESTINAL Y ENFERMEDAD CELÍACA

En el colon humano coexisten más de 10^{14} unidades formadoras de colonias por gramo de contenido. Un 98% corresponde al Dominio Bacteria, mientras que el porcentaje restante está representado por los Dominios Archaea, Eucariotas y Virus.¹⁶

La aplicación y desarrollo de las nuevas técnicas de secuenciación de alto rendimiento han permitido estudiar en detalle la diversidad bacteriana en el intestino humano, a partir del análisis del material genético presente en el contenido intestinal, en forma independiente del cultivo in vitro con el consecuente sesgo que implica. Las mismas consisten en la extracción del ADN de una muestra biológica, su amplificación y secuenciación de los genes que codifican la subunidad 16S del ARN ribosomal. Este gen se encuentra presente en todas las bacterias y contiene regiones constantes y variables que permiten la clasificación taxonómica de las bacterias presentes, pudiendo identificar dominios, filos, géneros y especies; así como funciones metabólicas de una determinada comunidad bacteriana.¹⁶

Existen 2 grandes proyectos para la secuenciación del microbioma:

Metagenomics of human intestinal tract: dividido en dos ramas: una europea (MetaHit) y una estadounidense (National Institute of Health) financiado por el consorcio internacional de microbiomas humanos.

Human Microbiome Project del National Institute of Health de los Estados Unidos (NIH). Es un proyecto llevado a cabo por el Instituto Nacional de Salud

de Estados Unidos que tiene como objetivos caracterizar de manera precisa, a partir de las nuevas tecnologías de investigación, el microbioma humano y su relación con la mejoría de la salud.¹⁷

Cada una con bases de investigación distinta pero con un objetivo común, el estudio del metagenoma de las bacterias del aparato intestinal (MetaHit) y la cavidad bucal (NIH).

Centrados en la enfermedad inflamatoria intestinal y la obesidad estudian establecer la existencia de una relación entre los genes que codifican la MI humana y la presencia de otras enfermedades.¹⁸

Aproximadamente el 90% de las formas del Dominio Bacteria presentes en el tracto digestivo humano pertenecen a los Filos Bacteroidetes (Gram -) y Firmicutes (Gram +) ; se destacan también los Filos Proteobacteria, Actinobacteria (Gram +), Fusobacteria y Verrucomicrobia.

El Filo Bacteroidetes incluye los géneros *Bacteroides* y *Prevotella* entre otros. Los Firmicutes incluyen más de 200 géneros entre ellos *Lactobacillus* y *Clostridium*.

Las Proteobacterias se caracterizan por ser anaeróbicas facultativas, entre las que se encuentran los géneros *Escherichia*, *Shigella* y *Salmonella* y se estima que representan alrededor del 0,1 % de la población bacteriana.

Al filo Actinobacterias pertenece el género *Bifidobacteria* y la cantidad presente en el tracto gastrointestinal es variable.²

Metagenoma se define como la totalidad del material genético presente en un determinado nicho o comunidad ecológica.¹⁶

Diversos estudios dan cuenta de que el número de genes de la masa bacteriana presente en el intestino humano, conocido como microbioma, puede llegar a superar en 150 veces el genoma humano, y transcriben numerosas funciones que modulan vías como la utilización de nutrientes, producción de vitaminas, morfología e inmunidad intestinal, tróficos intestinales como ácidos grasos de cadena corta y mucina que favorecen el mantenimiento de barrera intestinal.^{2, 16}

La MI se comporta como una barrera de defensa a través de la regulación de la proliferación celular del epitelio y la expresión de proteínas de unión celular. Este mecanismo evita el contacto de los patógenos con el tejido linfático asociado al intestino y su activación, que liberaría sustancias capaces de causar un estado de inflamación crónica.²

Se ha descrito que esta amplia comunidad de especies bacterianas codifica proteínas que regulan hasta 20.000 funciones biológicas necesarias para la homeostasis de la propia vida bacteriana y la propia expresión genética (ARN y ADN polimerasas, ATP sintetasa). Además, se reconocen genes que codifican sustancias necesarias para la vida en el tracto digestivo, metabolismo de glicopéptidos y oligosacáridos.¹⁶

La MI interactúa con el huésped de manera tal de obtener beneficios para ambos en condiciones fisiológicas, lo que se conoce como relación simbiótica. Esta interacción recíproca puede sufrir modificaciones y se especula que su alteración o disbiosis puede influir en patologías mediadas por el sistema inmune.²

En la actualidad se estudian factores ambientales que modifican la MI como la alimentación, consumo de fármacos, viajes y hábito deposicional, entre otros.

Aplicando las técnicas de secuenciación de alto rendimiento para el estudio del gen 16S en muestras fecales de niños y adultos sanos de zonas rurales de Venezuela, Malawi y de poblaciones urbanas de los Estados Unidos, se encontraron diferencias significativas en la composición y diversidad de la microbiota en individuos pertenecientes a distintos entornos sociales y económicos. Las muestras obtenidas a partir de la población de EEUU presentaron menor diversidad bacteriana como resultado de la presencia de diferentes factores ambientales y patrones dietéticos.¹⁶

La colonización del intestino por la microbiota se produce a partir del nacimiento y es reconocido que influye en el desarrollo de la inmunidad propia de la mucosa intestinal y la sistémica, dado que es preciso desarrollar mecanismos de control complejos para proteger al organismo de patógenos y tolerar simbiosis.² A pesar de las diferencias existentes entre los individuos, el perfil genético de la MI es similar en personas sanas, pudiendo así definir un ecosistema normal.¹⁶

Varios estudios sugieren, aunque no confirman, que la lactancia materna al momento de la incorporación del gluten podría ser un factor protector frente al desarrollo de EC. En un estudio, los niños amamantados tuvieron una reducción del 52% en el riesgo de desarrollar EC en comparación con otros niños que no recibían leche materna, al momento de la introducción del gluten. Existen dos posibles mecanismos a través de los cuales la leche materna podría conferir

protección contra EC: en primer lugar, los anticuerpos IgA de la leche humana podrían disminuir la respuesta inmune al gluten ingerido por mecanismos tales como aglutinación del antígeno a complejos inmunes en la superficie de la mucosa para evitar la captación. En segundo lugar, la propiedad de modulación inmune de la leche humana podría tener un efecto supresor específico de células T como se muestra por experimentos con linfocitos periféricos estimulados con fitohemaglutinina, OKT3 y aloantígenos.

No obstante, no es posible afirmar aún si la lactancia materna proporciona una protección permanente contra el desarrollo de EC, o si su práctica sólo retrasa la aparición de los síntomas.¹⁹

La mucosa cuenta con tres compartimientos diferenciables con función inmunitaria: una estructura organizada, que incluye las placas de Peyer y los folículos linfoides; la lámina propia, y el epitelio. Los primeros son sitios de inducción, mientras que epitelio y lámina propia poseen células maduras con capacidad de acción.²⁰

Las células epiteliales son el contacto con la luz intestinal, siendo las primeras en reconocer presencia de antígenos, y generando señales a las células del tejido inmune subyacente. El reconocimiento de comensales de riesgo depende en una primera fase de los receptores TLR de la membrana y de las proteínas NOD intracelulares. De esta manera las células epiteliales emiten señales que activan la expresión de genes responsables de la producción de citoquinas proinflamatorias, a la vez que atraen y activan leucocitos, pudiendo actuar como presentadoras de antígenos.²⁰

En condiciones de salud, en la mucosa intestinal predomina la presencia de células T reguladoras (Tregs), con poca actividad de células activadas de tipo Th1, lo que significa un factor crucial para la protección de la flora comensal y la tolerancia a antígenos de los alimentos. En otras palabras, el estado de convivencia con microorganismos simbióticos, depende de una especie de inmunotolerancia mediado por Tregs, las que permiten el contacto con una gran carga antigénica (MI y alimentos), protegiendo de la respuestas inflamatorias que se producirían constantemente pudiendo lesionar el propio intestino.²⁰

La investigación reciente se ha enfocado en tratar de establecer relaciones entre microbiota y enfermedad, estando en sus primeros pasos la evidencia de la alteración de la microbiota en la fisiopatología de la EC.¹

Se han descrito cambios en la MI en individuos con patologías como enfermedad inflamatoria intestinal, colitis pseudomembranosa, obesidad y Diabetes Mellitus tipo 2, aunque no se pudo todavía establecer causalidad o consecuencia de la patología.²

Algunos catabolitos de la microbiota activan la expresión de los receptores celulares inmunes innatos como los TLR en las células epiteliales y del sistema inmunitario como las células dendríticas (DC), lo que constituye un mecanismo importante en la simbiosis. Los TLR activados pueden inducir la síntesis de citoquinas proinflamatorias, previniendo infecciones, siendo esta función de los TLR mediadora de respuestas inmunes innatas, estimulando la formación de respuestas inmunes adaptativas.²

En EC los péptidos del gluten desencadenan una respuesta inmunitaria anormal, que se caracteriza por el aumento de linfocitos Th1, tanto en el epitelio

como en la lámina propia intestinal, lo que lleva a un aumento de la secreción de citoquinas proinflamatorias como IFN- γ e IL-15, responsables en parte de las lesiones del epitelio.²¹

Recientemente se ha sugerido que en el desarrollo de la EC podrían intervenir múltiples factores y que las vías codificadas por el microbioma podrían activar las vías patogénicas del gluten en situación de disbiosis.²

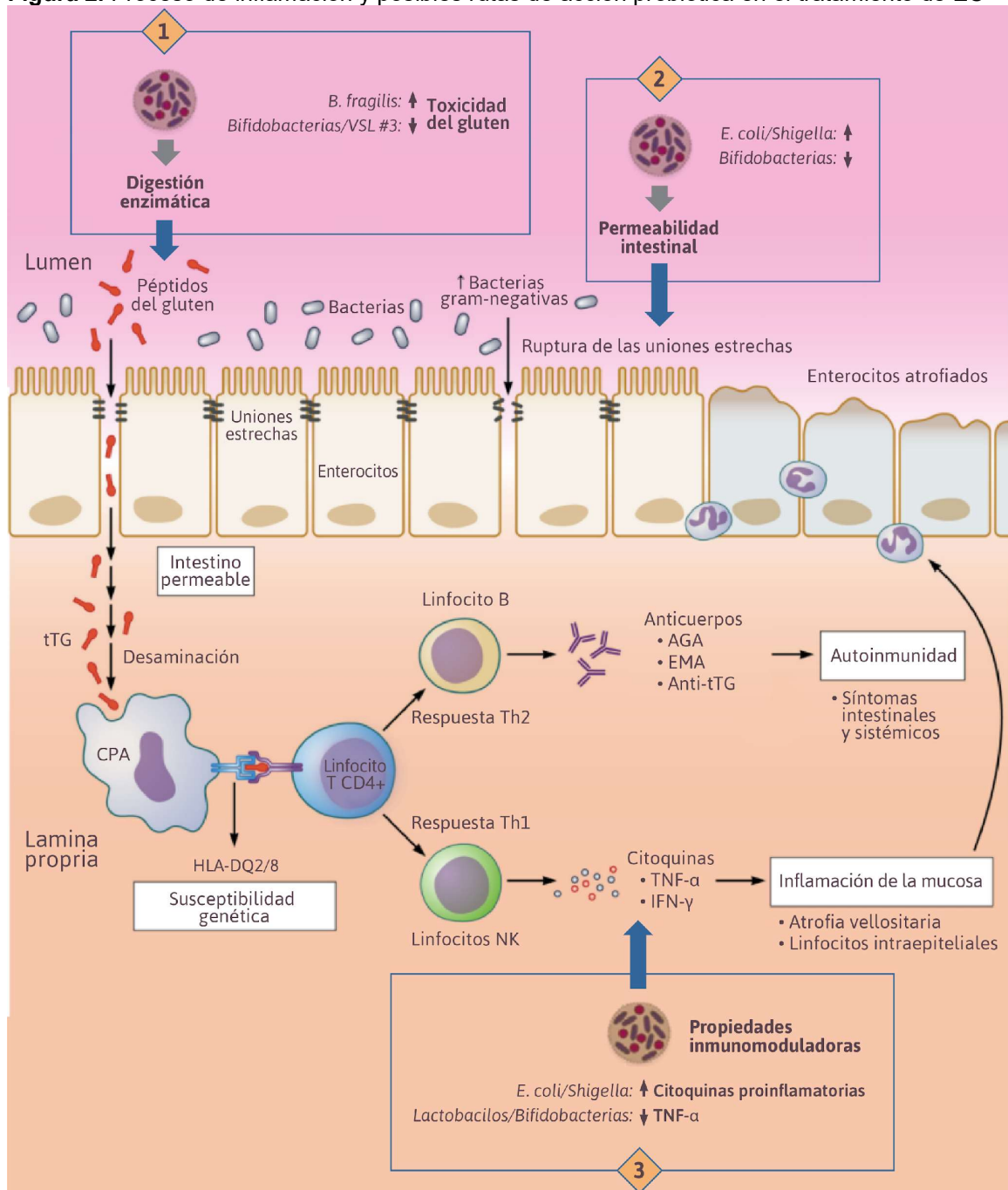
En cuanto a la susceptibilidad de desarrollar EC, se ha propuesto que las bacterias filamentosas segmentadas (Gram -) se comportan como potentes estimulantes del desarrollo de células proinflamatorias tipo Th17, por el contrario *Clostridium* y *Bacteroides fragilis* estimulan la proliferación de Tregs.²²

La respuesta inmune adaptativa se lleva a cabo en los folículos, los antígenos son presentados a los linfocitos T en estado primitivo y se desencadena una proliferación clonal y activación de las células T más afines al antígeno, o sea de linfocitos Th como las Th 1, Th 2 o Tregs (Th 3, TLR, CD4 - CD25).²⁰

Como respuesta sistémica, las células T CD4+ específicas del gluten activan a las células B, las cuales se convierten en células plasmáticas (Th2), que son las responsables de producir los anticuerpos anti-gluten y anti-TG2.²⁰

Las células Treg expresan la secreción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF- β).

Figura 2. Proceso de inflamación y posibles rutas de acción probiótica en el tratamiento de EC



En pacientes con EC, el aumento de la permeabilidad de las uniones estrechas epiteliales favorece la entrada de péptidos de gluten parcialmente digeridos (gliadina) desde la luz intestinal a la lámina propia. Una vez allí, son desaminados por la enzima tTG y presentados a los linfocitos T CD4+ por el antígeno leucocitario humano (HLA) en células presentadoras de antígeno (CP), que en pacientes con EC suelen ser de los haplotipos DQ2 y DQ8. A partir de entonces, se desencadenan las respuestas inmunitarias Th1 y Th2, lo que resulta en autoinmunidad, inflamación de la mucosa y el crecimiento de una microbiota desfavorable, empeorando el pronóstico de la enfermedad. Se indican con flechas las posibles rutas de acción de los probióticos. Adaptado de De Sousa Moraes LF y Col. Intestinal Microbiota and Probiotics in Celiac Disease. Clin Microbiol Rev. 2014;27(3):482–9. Cenit MC y Col. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? Nutrients. 2015;7(8):6900–23.

IV. ALTERACIONES DE LA MICROBIOTA EN ENFERMEDAD CELÍACA: LA EVIDENCIA

La investigación reciente se ha enfocado en tratar de establecer relaciones entre microbiota y enfermedad, estando en sus primeros pasos la evidencia de la alteración de la microbiota en la fisiopatología de la EC.¹

Aún no se puede establecer fehacientemente si la alteración de la microbiota podría ser causa o consecuencia de la enfermedad. Estudios recientes indican que el desbalance entre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, a predominio de las primeras, puede intervenir en la intolerancia al gluten en sujetos genéticamente susceptibles.¹

A la vez que se postula que las mismas condiciones de alteración de la mucosa en EC podrían inducir condiciones que favorezcan la proliferación de bacterias Gram-negativas en detrimento de las Gram-positivas.¹

Algunos componentes bacterianos, como los lipopolisacáridos de bacterias Gram-negativas, podrían contribuir a la activación y severidad de la respuesta inmune innata y a la enteropatía al ser reconocidos por TLR.¹⁰

Dentro de la MI, se sabe que algunas especies estimulan la respuesta de células T específicas, *Bacteroides fragilis* induce la diferenciación de células Treg, con una respuesta antiinflamatoria. En cambio, las bacterias filamentosas se han asociado a la diferenciación de células T CD4 + en células Th17.⁷

Estudios realizados en ratones libres de gérmenes encontraron menor proliferación de células epiteliales intestinales y menor producción de sustancias antimicrobianas contra patógenos.²

En niños y adultos con EC versus controles se han encontrado recuentos más bajos de bacterias pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*.^{1, 8} A su vez, se observó que la administración de probióticos con estas especies bacterianas tuvo efectos protectores y antiinflamatorios reduciendo la producción de IFN- γ y TNF- α y aumentando IL-10.⁸

Sanz Y. realizó una profunda revisión bibliográfica sobre el estudio de cepas bacterianas presentes en la MI de pacientes con EC, analizando su posible patogenicidad y encontró aumentado el número de bacterias correspondientes a la especie *Bacteroides fragilis* que codifican las metaloproteasas que se comportan como factores de virulencia y han sido asociadas a infecciones oportunistas de intestino, pudiendo agravar la malabsorción en pacientes con EC tratados y no tratados.²

Los estudios publicados parecen coincidir en un aumento de los *Bacteroides spp.* y reducción de *Bifidobacteria spp.* tanto en muestras tomadas en biopsias de ID y muestras fecales, en EC activa, no activa y pacientes tratados, con respecto a los grupos control.²

Distintos estudios concluyeron que las bacterias del filo Firmicutes son predominantes en enfermos celíacos adultos y las pertenecientes a Proteobacteria, en niños.

En los adultos se encuentran aumentadas las poblaciones de *Mycobacterium spp.* y *Methylobacterium spp.*¹

Con la finalidad de estudiar sus acciones en relación a la EC, De Angelis y col. emplearon una combinación de ocho cepas pertenecientes a las especies *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*, llamada VSL # 3. Encontraron en esta preparación alta eficacia en la hidrólisis de péptidos de gliadina en comparación con otros preparados con mezclas de otras cepas. También observaron que al analizar la actividad de enzimas hidrolíticas se inhibió cuando analizaron el comportamiento de cada cepa en forma individual.¹

De Palma y col. estudiaron in vitro las acciones inmunomoduladoras de cepas específicas de *Bifidobacterium bifidum* y *longum* y encontraron que en células mononucleares de sangre periférica, indujeron niveles menores de IL-12 e IFN- γ .

Por el contrario, el efecto de bacterias Gram negativas como cepas de *E. coli* y *Shigella* fue descrito como asociado a niveles altos de citoquinas proinflamatorias, pudiendo contribuir al desarrollo de EC.¹

Otro estudio da cuenta del efecto de cepas de *Bifidobacterium longum*, hallando mayor engrosamiento de vellosidades y trofismo de enterocitos en un modelo animal con enteropatía inducida por la administración de gluten. Además se encontraron reducidos los niveles de TNF- α lo que podría representar una menor respuesta proinflamatoria, con la consiguiente mejora en las uniones de barrera y menor translocación de péptidos de gliadina hacia la lámina propia.¹

Esto último también se observó como efecto de la administración de L. casei en roedores modificados genéticamente portadores de HLA- DQ8

Contrariamente Smecuol y col. no hallaron diferencias en cuanto a la permeabilidad intestinal entre grupo de control con placebo y adultos con EC

activa a los que se administró *Bifidobacterium infantis*. Tampoco se observó una reducción de factores proinflamatorios, pero sí una mejoría de los síntomas digestivos, pudiendo esto deberse al sesgo de un corto tiempo de tratamiento o al empleo de dosis bajas.¹

Un estudio reciente realizado por De Palma y col. en 164 lactantes varones con historia familiar de EC, arrojó como resultado que el grupo con variante de genotipo HLA-DQ2, presentó una mayor proporción de Firmicutes y Proteobacteria en su MI y menor Actinobacteria, incluyendo *Bifidobacterium*, que el grupo control.¹¹

Cenit y col. encontraron menos *Bifidobacterium spp.* con mayor número de *Bacteroides spp.* tanto en heces como en biopsias duodenales de pacientes celíacos no tratados y en tratamiento con DLG, con respecto a los grupos control sanos.¹¹

En un trabajo reciente en una población de ratones libres de gérmenes NOD-DQ8, a los cuales inocularon con enterobacterias de pacientes con EC, se encontró un aumento de la permeabilidad de la barrera, una menor cantidad de células productoras de mucina y una alteración de la expresión de las proteínas de unión estrecha, facilitando así la translocación de péptidos de gliadina.²

En células mononucleares de sangre periférica, expuestas in vitro a heces de pacientes EC en fase activa, se observó un aumento de la producción de TNF- α e IFN- γ con respecto al grupo control. En el grupo control se halló mayor expresión de la IL-10. Además al adicionar *Bifidobacterium* se redujeron las citoquinas proinflamatorias y aumentó IL – 10.²²

Otro trabajo, expone estas células a *Bifidobacterium longum*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli*, *Shigella* y *Bifidobacterium bifidum*. En este caso las *E. coli* y *Shigella* se relacionaron con una mayor secreción de IFN- γ e IL-12; la presencia de *Bifidobacterium bifidum* se relacionó con una mayor producción de IL-10. Las distintas cepas, además, estimularon distintos marcadores de superficie celular relacionados con diversos factores proinflamatorios y se observó un aumento significativo con la exposición a gliadina. Esto nos aproxima a la idea que las enterobacterias pueden inducir señales proinflamatorias aún en una barrera intestinal intacta, y la potencial patogenicidad en EC.²²

Otros autores encontraron que *E. coli* y *Shigella* pueden alterar la expresión de ZO-1 que es una proteína de unión estrecha, con la consiguiente translocación de péptidos de gliadina hacia la lámina propia.²² También se evidenció en estudios de ratones, que dichas especies se asociaron a una reducción de células caliciformes, una mayor secreción de mucina y una alteración grave de permeabilidad.¹¹

Olivares M. y col. en un estudio doble ciego aleatorizado controlado con placebo, estudiaron el efecto de la ingesta de *Bifidobacterium longum* cepa CECT 7347. En los pacientes con EC que recibieron dicha cepa se observó un efecto antiinflamatorio al reducir el número de células T CD4+ y la expresión de TNF- α , e incrementar de IL-10.²³

La disbiosis en EC podría contribuir en su patogenia al alterar los sistemas proteolíticos y favorecer la formación de péptidos tóxicos, estimulando los procesos inmunitarios y alterando la función de barrera epitelial al modificar la expresión de proteínas de unión estrecha.

En estudios in vitro se observó que la actividad proteolítica de la MI puede modificar los péptidos de gliadina. *Bacteroides fragilis* generaron péptidos con mayor capacidad inmunogénica y capaces de atravesar la barrera. Por el contrario, algunas *Bifidobacterium* como *Bifidobacterium longum* CECT 7347, mostraron un menor efecto inmunogénico y por consiguiente, un menor efecto proinflamatorio de los péptidos de gliadina. Los *Bifidobacterium bifidum* CECT 7365 produjeron una reducción de actividad de las metaloproteasas, una disminución de la translocación de gliadina a la lámina propia y un aumento de la expresión de células caliciformes.

Lactibacillus rhamnous GG mostraron in vitro mejor mantenimiento de la función de barrera intestinal expuesta a péptidos de gliadina.¹¹

Lindfors y col. reportaron un menor daño tisular en células epiteliales intestinales inducido por la exposición a péptidos de gliadina al emplear cantidades elevadas de *Bifidobacterium lactis*.¹

Como vimos, los pacientes con EC activa y tratados tienen una microbiota alterada, pero además, se ha postulado la posible disbiosis inducida por los cambios dietéticos.

Numerosos autores infirieron que la DLG podría provocar cambios en la MI por menor ingesta de polisacáridos complejos, resultando en menor número de *Bifidobacterium* y mayor presencia de enterobacterias, lo que dificulta comprender la causalidad.^{2, 11, 21}

En adultos sanos, la reducción de la ingesta de polisacáridos cambió la composición de la MI disminuyendo la proporción de *Bifidobacterium* y

Lactobacillus luego de llevar a cabo una DLG, con un aumento de los recuentos de *E. coli*, Enterobacterias y *Bifidobacterium angulatum*.¹¹

La DLG influye en la actividad inmunoestimuladora de la MI a partir de una menor producción de IL-10, en comparación con individuos que realizan una dieta estándar donde la mayor secreción de IL-10 inhibe la producción de citoquinas Th1 como TNF- α y IFN- γ .

Al respecto, De Palma y col., analizaron los cambios producidos en sujetos sanos en la MI y la secreción de factores de inflamación luego de recibir una DLG. Sometieron a 10 voluntarios adultos sin síntomas digestivos ni antibioticoterapia reciente a una DLG durante un mes. Se analizaron muestras fecales antes y luego de la intervención dietética y se describieron las bacterias presentes por el método de hibridación fluorescente in situ (FISH) para obtener el ARN S16.

Además se cultivaron células monoclonales de sangre periférica de individuos sanos, con el lipopolisacárido de *E. coli* y sin éste, para evaluar la diferencia en la producción de citoquinas.

Luego de analizar la composición química de los registros de ingesta, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la ingesta de nutrientes, salvo por la menor ingesta de polisacáridos no digeribles, lo que concuerda con otros estudios.

En lo que respecta a la microbiota de las muestras fecales, hallaron una reducción de *Bifidobacterium*, *Clostridium lituseburense*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Lactobacillus* luego de la DLG y un aumento del recuento de *E. coli* y Enterobacterias totales, aunque este último no fue tan significativo.

Estos cambios se pueden deber a la reducción de polisacáridos no digeribles, sustrato para las bacterias que se hallaron disminuidas. En particular *Lactobacillus* y *Bifidobacterium longum* están relacionados con el metabolismo de polisacáridos, lo que puede explicar la reducción de esta población luego de DLG.

En cuanto a las citoquinas, hallaron una menor producción de IL-10 y mayor expresión de las respuestas de tipo Th1 como el TNF- α el IFN- γ en las muestras de células en contacto con el lipopolisacáridos de *E.coli*.

Datos similares se recogieron en niños con EC tratados con DLG y en pacientes con enfermedad de Crohn lo que nos induce a pensar en una relación de las alteraciones de la MI con los procesos inflamatorios de ID.²¹

V. PROBIÓTICOS

La Consulta de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) define a los probióticos como: “*microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud*”. Los microorganismos probióticos más utilizados por la industria para la adición a productos, son las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*²⁴, aunque algunas especies de *E. coli* y *Bacillus* también se utilizan, y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, .

Las especies de *Lactobacillus* se utilizan en el mercado en distintos productos como suplementos probióticos, tanto para el consumo humano como el animal. La importancia de los mismos cabe en su probada capacidad inmunomoduladora que se obtiene del cambio del equilibrio de Th1 / Th2 reduciendo la expresión de Th1.²⁵

VI. PROBIÓTICOS DISPONIBLES EN ARGENTINA

Existen alimentos que son sometidos a distintos procedimientos, por ejemplo a fermentación, en los cuales se utilizan bacterias probióticas.

En un estudio realizado en la Universidad Nacional del Nordeste, se analizó la concentración y el comportamiento de microorganismos en la producción del Chucrut. Durante la primera semana de fermentación se observó una gran concentración de *Leuconostoc mesenteroides*, que luego fue disminuyendo debido a la inhibición de su crecimiento como consecuencia del aumento de la concentración de ácido láctico. Al final del proceso las bacterias identificadas fueron mayormente *Lactobacillus plantarum*, esta bacteria es ácido tolerante, y posee un metabolismo homofermentativo, estas características permiten alcanzar grandes concentraciones de ácido láctico en el producto, para asegurar la conservación del vegetal.²⁵

Según el Código Alimentario Argentino, el Kéfir es el producto “*cuya fermentación se realiza con cultivos ácido-lácticos elaborados con granos de kéfir, L. kéfir, especies de los géneros Leuconostoc, Lactococos y Acetobacter, con producción de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono. Los granos de kéfir están constituidos por levaduras fermentadoras de la lactosa (Kluyveromyces marxianus) y levaduras no fermentadoras de la lactosa (Saccharomyces omnispurus, Saccharomyces cerevicie y Saccharomyces exiguus), L. casei, Bifidobacterias spp y Streptococos salivarius subsp. Termophilus*”. El kéfir es una

leche fermentada originada en las montañas caucásicas. Es un producto ampliamente consumido en los países del este de Europa, donde su producción es industrial, a diferencia de nuestro país donde es artesanal.²⁶

Los microorganismos presentes en los gránulos de kéfir, que poseen actividad fermentativa, crecen, se multiplican, y algunos de ellos, tales como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*, se transfieren a la leche.

En los últimos años la industria ha desarrollado distintos productos que poseen microorganismos con actividad probiótica, los más comunes son productos lácteos y alimentos fortificados.

Los criterios mínimos que se debe cumplir para los probióticos utilizados en la industria alimentaria son:

- Especificarse por género y cepa—la investigación sobre determinadas cepas específicas de probióticos no se puede aplicar a cualquier producto comercializado como probiótico.
- Estar vivos en el producto.
- Administrarse en dosis adecuadas hasta el final de la vida útil (con variabilidad mínima de un lote a otro).
- Haber demostrado ser eficaces en estudios controlados en humanos.
- Ser inocuos para el uso para el que estarían destinados.²⁷

Existen en el mercado dos bebidas de leche fermentada, una posee como bacteria probiótica *Lactobacillus casei defensis* y la otra *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* CNCM I-2494.

A través del trabajo en conjunto entre CONICET (Cerela) y una empresa láctea argentina, desarrollaron un producto bebible que contiene *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*.²⁸

VII. CONCLUSIONES

Se pueden describir alteraciones de la microbiota intestinal en individuos genéticamente susceptibles a desarrollar EC, en individuos con EC activa y en individuos tratados con DLG, no sabiendo hasta el día de hoy si son causa o consecuencia de la enfermedad.

Entre las alteraciones de la MI en pacientes celíacos, se vieron menor cantidad de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y mayor cantidad de *Escherichia coli* y *Shigella* en el tracto gastrointestinal.

Si bien el conocimiento sobre la composición de la MI en EC es incipiente, la evidencia sugiere que los probióticos, como complemento de la DLG, podrían ser benéficos en los siguientes niveles:

- Aumento de la expresión de proteínas de unión estrecha con la consiguiente mejora de la integridad de barrera del epitelio de ID, lo que redundaría en menor translocación de péptidos de gliadina a la lámina propia.
- Digestión total por parte de los simbioses de los péptidos de gluten, menor presencia de los mismos en la lámina propia, menor estímulo de Th1 y Th2, con la consiguiente reducción de la expresión de TNF- α e IFN- γ y de autoinmunidad sistémica.
- Mantenimiento de la acción antiinflamatoria mediada por Tregs: mayor expresión de IL-10

La DLG, único tratamiento de la EC en la actualidad, al ser deficiente en oligosacáridos no digeribles puede a su vez, alterar la microbiota. Al respecto, aún no se dispone de estudios científicos que puedan hacer luz sobre la posibilidad de emplear prebióticos en la DLG a fin de sustituir la carencia de este sustrato fundamental para la MI simbiote. Siendo prioritaria la necesidad de investigar este punto.

En nuestro país, algunos de los alimentos disponibles como fuente de probióticos son el chucrut, el kéfir, y leches fermentadas. Las especies de microorganismos utilizadas en productos industriales se eligen por su capacidad inmunomoduladora y por lograr la reducción de los factores de inflamación, a partir del cambio del equilibrio entre células Th1 / Th2 reduciendo la expresión de Th1.

Por lo expuesto en este trabajo, consideramos que es nuestro desafío como Licenciadas en Nutrición, profundizar la investigación respecto de los beneficios que podría aportar el tratamiento con probióticos y prebióticos en pacientes celíacos y desarrollar estrategias para su incorporación en la DLG, abriendo así nuevos horizontes en el tratamiento nutricional de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a la Universidad de Buenos Aires y a la Escuela de Nutrición por brindarnos la oportunidad de lograr un progreso personal y formarnos como profesionales.

Agradecer a la Licenciada en nutrición Ivana Milkovic y Diseñadora gráfica, Gabriela Revale quienes, sin ningún interés, nos brindaron su creatividad, apoyo y paciencia.

De manera especial queremos agradecer a nuestra tutora de tesis, nuestra maestra, la Licenciada Silvia M. Fioravanti. Gracias por compartirnos tus conocimientos, por enseñarnos y guiarnos en esta última y tan importante etapa. Gracias por las enseñanzas de vida que trascienden el conocimiento formal. Por darnos la confianza para alcanzar nuestro objetivo. Gracias Sil, por hacernos sentir tus colegas desde la aquella primera reunión en al aula 10 del subsuelo de la Facultad.

A nuestros amigos, los de siempre y los recientes. Esos hermanos que nos da la vida y que nos acompañan en las buenas y en las malas. A ellos, gracias.

Y por encima de todo y, con todo nuestro amor, queremos agradecer a los pilares fundamentales de nuestras vidas, nuestras familias. Agradecerles por ser la fuente de motivación e inspiración para superarnos día a día. Por levantarnos frente a cada obstáculo que tuvimos en este largo caminar y por celebrar cada

triunfo junto a nosotras. Es gracias a su apoyo incondicionalidad que hoy pueden decirnos Licenciadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Sousa Moraes LF, Grzeskowiak LM, de Sales Teixeira TF, Gouveia Peluzio M do C. Intestinal Microbiota and Probiotics in Celiac Disease. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):482–9.
2. Sanz Y. Microbiome and Gluten. *Ann Nutr Metab.* 2015;67(Suppl. 2):27–42.
3. Moscoso J F, Quera P R. Enfermedad celíaca.Revisión. *Rev Médica Chile.* 2016;144(2):211–21.
4. Aaltonen K, Laurikka P, Huhtala H, Mäki M, Kaukinen K, Kurppa K. The Long-Term Consumption of Oats in Celiac Disease Patients Is Safe: A Large Cross-Sectional Study. *Nutrients.* 2017;9(6).
5. Ministerio de Salud de la Nación. Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en el primer nivel de atención. Argentina; 2011.
6. Ortiz C, Valenzuela R, Lucero A Y. Enfermedad celíaca, sensibilidad no celíaca al gluten y alergia al trigo: comparación de patologías diferentes gatilladas por un mismo alimento. *Rev Chil Pediatría.* 2017;88(3):417–23.
7. Passos M do CF, Moraes-Filho JP. Intestinal microbiota in digestive diseases. *Arq Gastroenterol.* 2017;54(3):255–62.

8. Golfetto L, de Senna FD, Hermes J, Beserra BTS, França F da S, Martinello F. Lower bifidobacteria counts in adult patients with celiac disease on a gluten-free diet. *Arq Gastroenterol*. 2014;51(2):139–43.
9. Crivelli A. Enfermedad celíaca: genética y autoinmunidad. *Mundo Celíaco*. 2014;(16):7,8.
10. Laparra M, Olivares M, Sanz Y. Microbiota intestinal y enfermedad celíaca. En: Rodrigo L, Peña AS, editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. España: OmniaScience; 2013. p. 479–96.
11. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients*. 2015;7(8):6900–23.
12. Organización Mundial de Gastroenterología. *Enfermedad celíaca. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología*; 2012.
13. FACE. Federación de Asociaciones de Celíacos de España [Internet]. España: FACE; c2011 [citado 12 de febrero de 2018]. FACE. ¿Qué es la Enfermedad Celíaca? [aprox. 5 pantallas] Disponible en: <https://www.celiacos.org/enfermedad-celiaca.html> -
14. Pérez Cortés S, Peña Ortiz J, Ramos Garibay C, Pérez Maciel A. Dermatitis herpetiforme. *Rev Cent Dermatol Pascua*. 2007;16(3):137–43.
15. Berger A. Th1 and Th2 responses: what are they? *BMJ*. 2000;321(7258):424.
16. Robles-Alonso V, Guarner F. Progreso En El Conocimiento De La Microbiota Intestinal Humana. *Nutr Hosp*. 2013;28(3):553–7.

17. MetaHit.eu [Internet]. MetaHit; c2008. [actualizado 1 jun 2011; citado 6 ene 2018]. Disponible en: <http://www.metahit.eu>
18. Group TNHW, Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009;19(12):2317–23.
19. Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breastfeeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child.* 2006;91(1):39–43.
20. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hosp.* 2007;22:14–9.
21. De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br J Nutr.* 2009;102(8):1154–60.
22. Galipeau HJ, Verdu EF. Gut microbes and adverse food reactions: Focus on gluten related disorders. *Gut Microbes.* 2014;5(5):594–605.
23. Olivares M, Castillejo G, Varea V, Sanz Y. Double-blind, randomized, 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.
24. FAO. Probióticos en los alimentos: Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. [Internet]. Italia; 2010 [citado 28 de enero de 2018]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.corpmontana.com//handle/123456789/471>

25. Ambrosini S, Bedogni G, Fogar R, Frank W. Elaboración de chucrut: proceso de fermentación. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste; 2002.
26. León Peláez ÁM. Estudio de la capacidad de los microorganismos del kefir para inhibir el desarrollo fúngico y para secuestrar micotoxinas. [Argentina]: UNLP; 2013.
27. Organización Mundial de Gastroenterología. Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: probióticos y prebióticos. Organización Mundial de Gastroenterología; 2011.
28. Sancor.com [Internet]. Argentina: Sancor; 2017 [citado 24 ene 2018]. Disponible en: <http://www.sancor.com/productos/nutricion-y-salud?es>