# Inmunoterapias experimentales* para la enfermedad celíaca, un modelo de autoinmunidad inducida por la dieta

F. León[1], L. Crespo[2] y G. Castillejo[3]

[1]Immunology Translational Medicine Centocor R&D – Johnson & Johnson, Malvern, PA, USA

[2]Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid

[3]Hospital Universitario San Joan, Reus (Tarragona)

**Resumen:** *La enfermedad celíaca se inicia como una intolerancia dietética de base enzimática frente a las gliadinas o péptidos del gluten, componente fundamental de los cereales más frecuentes en el mundo occidental. Rápidamente, esta intolerancia deriva en una enfermedad autoinmunitaria sistémica. En la actualidad, los celíacos deben seguir de por vida una dieta estricta carente de gluten, algo casi imposible en la práctica. El 50% de los celíacos que siguen una dieta sin gluten continúa experimentando síntomas, producción de autoanticuerpos y atrofia de las vellosidades intestinales. Por tanto, es necesario el desarrollo de nuevos tratamientos. Hasta la fecha se han realizado ensayos clínicos con cinco opciones terapéuticas dirigidas a distintos aspectos de la cascada autoinmunitaria y que se postulan como "complementos" de la dieta sin gluten para evitar el daño inducido por contaminaciones o transgresiones dietéticas. El acetato de larazótido es el fármaco experimental más avanzado y ha demostrado una reducción de los síntomas y de los anticuerpos antitransglutaminasa. El campo de la inmunoterapia experimental para la enfermedad celíaca está en sus inicios, pero presenta ya signos esperanzadores de que algún día habrá tratamientos farmacológicos que contribuyan a un mejor control de los pacientes celíacos y una mejora de su calidad de vida.*

**Palabras clave:** Dieta sin gluten – Enfermedad celíaca – Glutenasas – Larazótido.

## Introducción

La enfermedad celíaca es una de las afecciones genéticamente determinadas más prevalentes en la población occidental. Se caracteriza por la aparición de una reacción inmunitaria iniciada en el intestino delgado contra las proteínas del gluten de la dieta. En los individuos predispuestos, esta reacción desemboca en una respuesta autoinmunitaria contra varios autoantígenos y en el desarrollo de patología intestinal y extraintestinal. Varios estudios epidemiológicos han estimado una prevalencia de un caso por cada 130 a 400 individuos de la población general. Normalmente se presenta en los primeros años de la vida, aunque puede pasar inadvertida y no ser diagnosticada hasta la edad adulta, con una presentación atípica o extraintestinal. Muchas veces, sin embargo, la enfermedad puede apa-

*Todos los compuestos mencionados en este artículo son experimentales y no han sido aprobados para su uso, al no estar aún demostradas su eficacia y su seguridad.

recer en la edad adulta. Se estima que la enfermedad celíaca con manifestaciones extraintestinales es hasta 15 veces más frecuente que la que produce síntomas intestinales, y que por cada paciente diagnosticado hay entre 5 y 10 que no lo están. El descubrimiento y la introducción en la práctica clínica de tests serológicos sensibles y específicos (anticuerpos antiendomisio y antitransglutaminasa tisular) han permitido incrementar el diagnóstico de casos monosintomáticos o asintomáticos. El diagnóstico precoz de esta enfermedad resulta crucial, ya que la mortalidad asociada a ella es hasta dos a cuatro veces superior a la de la población general, relacionada principalmente con una elevada asociación de linfomas T y B, y en menor medida otros tumores digestivos.

## Patogenia de la enfermedad celíaca

La enfermedad celíaca es multifactorial, pues intervienen factores genéticos, inmunitarios y ambientales (gluten). Muestra una de las asociaciones más fuertes que se hayan descrito con la región HLA. En la mayoría de las poblaciones, más del 90% de los pacientes expresan el heterodímero HLA-DQ2 codificado por los alelos DQA1*0501 y DQB1*02; los restantes expresan el heterodímero HLA-DQ8, codificado por los alelos DQA1*03 y DQB1*0302. El papel predominante del HLA DQ2 se explica porque los péptidos de gluten modificados por la transglutaminasa tisular tienen una afinidad aumentada por las moléculas DQ2 de las células presentadoras de antígeno.

El gluten es una mezcla compleja de polipéptidos presente en cereales como el trigo, la cebada, el centeno y la avena, consistente en dos fracciones: una soluble en alcohol, denominada gliadina, hordeína, secalina o avenina en función del cereal a que nos estemos refiriendo (trigo, cebada, centeno y avena, respectivamente), y otra insoluble que recibe el nombre de glutenina. Una característica común de las proteínas del gluten es su alta cantidad de prolina y glutamina, que hace que sean especialmente resistentes a la digestión por las enzimas gastrointestinales y permite su persistencia en el lumen intestinal, con el consecuente desarrollo de una respuesta inmunotóxica en los individuos genéticamente predispuestos. Los péptidos de gluten se unen a la enzima transglutaminasa tisular, que los desamina y transforma los residuos de glutamina en ácido glutámico, resultando péptidos cargados negativamente que son presentados por las moléculas HLA de clase II DQ2 y DQ8. Este hecho provoca la activación de los linfocitos CD4 T *helper* 1 en la lámina propia, y secundariamente una inflamación intestinal que da lugar a hiperplasia de las criptas y atrofia de las vellosidades intestinales. Uno de estos péptidos, el conocido como 33-mer, posee una secuencia altamente inmunógena que es reconocida por las células T de la mucosa intestinal. Se desconoce cómo los péptidos de gluten inmunógenos alcanzan la lámina propia desde la luz intestinal. Hay evidencias que demuestran que pueden pasar por vía paracelular a través de uniones intercelulares densas defectuosas. Sin embargo, otros estudios han demostrado que el transporte ocurre por medio de transcitosis epitelial, aunque también se ha propuesto que las células dendríticas puedan lanzar proyecciones que alcancen el lumen intestinal. Una vez activadas, las células CD4 secretan citocinas Th1, fundalmentalmente interferón gamma (IFN-$\gamma$). Otras citocinas relevantes en la patogenia de la enfermedad celíaca son el IFN-$\alpha$ y las interleucinas (IL) 15, 18 y 21. El resultado final es un daño a la mucosa manifestado como atrofia de las vellosidades e hiperplasia de las criptas, con reducción de la superficie de absorción intestinal (Fig. 1).

Las nuevas opciones terapéuticas tienen "puntos de ataque" complementarios. En un futuro este hecho posiblemente permitirá el tratamiento de la enfermedad celíaca con una combinación de dos o más fármacos, asociados a la dieta sin gluten. Hasta el momento se han desarrollado ensayos clínicos con cinco opciones diferentes. El acetato de larazótido (AT-1001) tiene como objetivo impedir el paso de péptidos de gluten a la

lámina propia mediante el cierre de las uniones intercelulares densas localizadas paracelularmente. Por otro lado, la degradación del gluten empleando endopeptidasas (ALV003 y AN-PEP) conduciría a la formación de aminoácidos no tóxicos, que no inducirían una respuesta inmunitaria patológica al alcanzar la lámina propia. También se está ensayando una vacuna desensibilizante *(Nexvax2®)* que utiliza tres péptidos del gluten, los cuales provocarían una reacción de inmunotolerancia en las células T en pacientes celíacos HLA DQ2 positivos. Y por último, se están estudiando nuevas alternativas de tratamiento basadas en fármacos inmunomoduladores, como el inhibidor de los receptores CCR9 de los linfocitos T (CCX282-B, *Traficet-EN®*) y la infección por el parásito *Necator americanus* (Fig. 1).

Los péptidos del gluten de la dieta alcanzan la lámina propia por vía paracelular y transcelular, y allí son desaminados por la enzima transglutaminasa (TG2) para producir epítopos altamente inmunógenos. Si se impide el paso de los péptidos reordenando y cerrando las uniones intercelulares densas localizadas

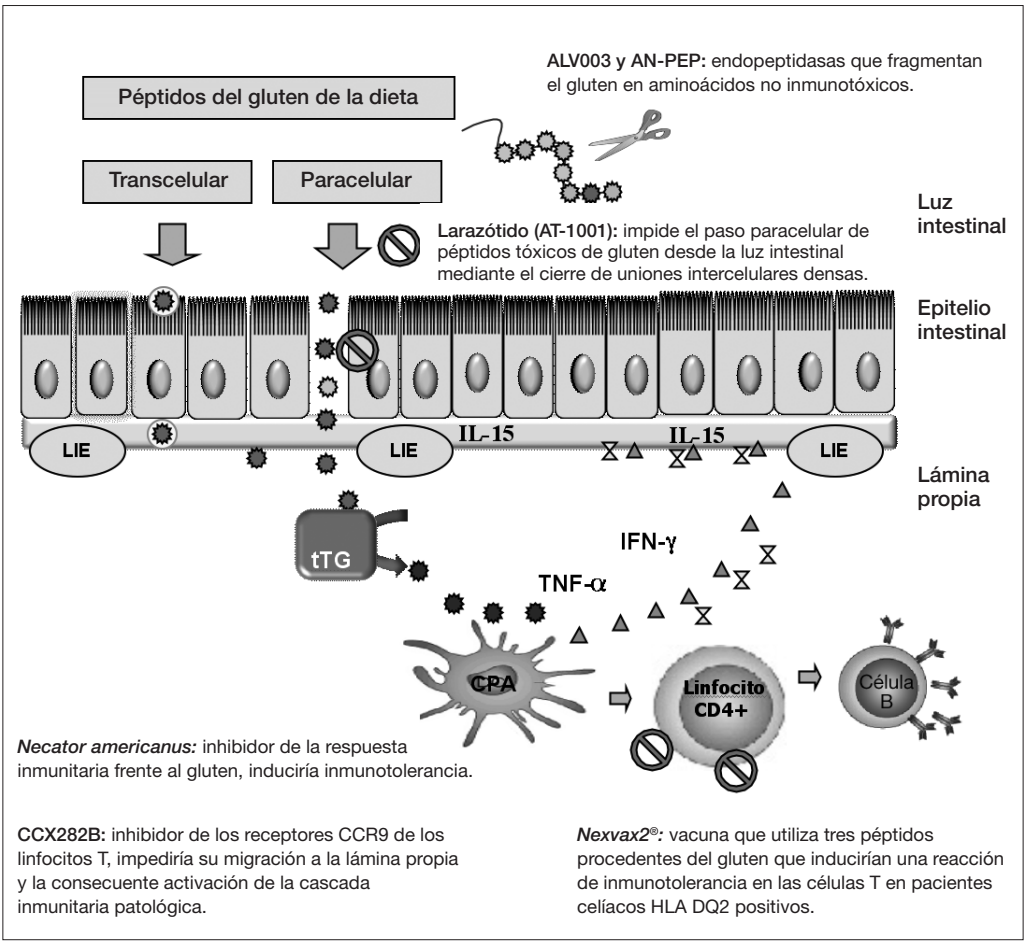


*Figura 1. Mecanismos de acción y puntos de ataque de las nuevas opciones terapéuticas en la enfermedad celíaca.*

paracelularmente (como hace el larazótido), éstos no alcanzarán la lámina propia y no se iniciará la cascada inmunitaria patológica. Por otro lado, las endopeptidasas ALV003 y AN-PEP tienen como objetivo degradar el gluten hasta conseguir aminoácidos no tóxicos, que al llegar a la lámina propia no inducirían reacciones inmunitarias aberrantes. Otros fármacos en estudio inhiben la activación linfocitaria, como el inhibidor de los receptores CCR9 de los linfocitos T (CCX282B o *Traficet-EN*®), y hacen que éstos no alcancen la lámina propia intestinal desde el torrente sanguíneo y se impida la reacción inflamatoria típica de la enfermedad celíaca. La vacuna terapéutica *Nexvax2*® induce una reacción de inmunotolerancia en las células T de los pacientes DQ2 positivos, y la inoculación subcutánea de *Necator americanus* también trata de inducir reacciones de inmunotolerancia.

## Tratamiento actual de la enfermedad celíaca: dieta sin gluten

*Una dieta difícil de cumplir*

La dieta sin gluten supone la supresión de todo alimento que lo contenga, es decir, de cualquier producto que incluya harinas de trigo, cebada, centeno o avena. Actualmente no hay unanimidad en cuanto a considerar a la avena una proteína segura. Al ser su contenido en prolaminas inferior al de los tres cereales reconocidos como tóxicos, sus efectos nocivos podrían manifestarse a largo plazo, motivo por el cual la recomendación actual más extendida es desaconsejar su consumo. A priori, la eliminación del gluten de la dieta puede parecer tarea sencilla, pero hay que tener en cuenta que las harinas se utilizan ampliamente en la industria alimentaria y están presentes en multitud de alimentos. La normativa que regula el etiquetado de los productos alimentarios de la mayor parte de los países es deficiente. El colectivo celíaco está constantemente expuesto a contaminaciones incontroladas de gluten en los alimentos que consumen, por falta de tecnologías que permitan garantizar con fiabilidad si un alimento está libre de gluten. En consecuencia, cumplir fielmente la dieta sin gluten es complejo y a menudo el enfermo celíaco ve restringidas sus actividades sociales o se ve obligado a reducir la variedad de alimentos que ingiere. Por otro lado, los alimentos exentos de gluten pueden ser difíciles de encontrar, generalmente tienen peor sabor y a menudo son más caros. Se estima que, a lo largo del tiempo, entre el 30% y el 50% de los individuos celíacos serán incapaces de mantener una dieta sin gluten estricta. Estos pacientes podrán tener síntomas recurrentes, y además, el no cumplimiento de la dieta tiene como consecuencia una elevada morbilidad que puede manifestarse en forma de osteopenia, abortos de repetición, retraso del crecimiento fetal intrauterino, infertilidad masculina y un riesgo aumentado de neoplasias del tracto digestivo, principalmente. En definitiva, son necesarios tratamientos alternativos que actúen de manera conjunta con la dieta para mejorar la calidad de vida del paciente celíaco. Estos nuevos avances terapéuticos deberán ser seguros, eficaces y con un coste razonable. Hasta la fecha, su objetivo realista es la "neutralización" de pequeñas cantidades de gluten, consecuencia de su ingestión inevitable o no intencionada por parte de los pacientes celíacos. Por el momento no se plantea su aplicación como sustitutivos de la dieta sin gluten y no hay ninguno comercializado.

*La ingestión de pequeñas cantidades de gluten provoca daño en la mucosa intestinal*

La dieta sin gluten representa un reto para el paciente celíaco. Su seguimiento y su aceptación no son iguales si se trata de un niño, de un adolescente o de un adulto. También dependerá de si la enfermedad es sintomática o no. Por otro lado, la contaminación con harina de trigo de los alimentos que por naturaleza no contienen gluten y de aquellos manufacturados, que en principio no deberían contenerlo, incrementa la inseguridad de los

pacientes a la hora de determinar si un producto puede o no ser consumido. Hasta hace poco no se conocía la posible toxicidad de las trazas de gluten. Este hecho tiene trascendencia no sólo médica, sino también sobre la normativa de fabricación y etiquetado de los productos. Además, determinar el contenido de gluten de los alimentos es complejo; actualmente se hace mediante técnicas de inmunoensayo enzimático (ELISA), que emplean anticuerpos monoclonales o policlonales frente a una gran variedad de componentes del trigo. No obstante, la comparación de la cantidad de gluten obtenida mediante las distintas técnicas de ELISA (en especial para bajos contenidos de gluten cercanos al umbral tóxico) revela la inconsistencia de estos métodos, que por tanto resultan poco fiables. Recientemente se han desarrollado nuevos métodos analíticos para detectar el gluten de la cebada y del centeno, que están permitiendo garantizar el contenido de gluten con mayor fiabilidad.

En los países del norte de Europa se permiten hasta 100 ppm en los productos sin gluten especiales para celíacos. Un límite más prudente, de 20 ppm, es el permitido en Norteamérica y en los países del sur de Europa. En un ensayo prospectivo, doble ciego, controlado con placebo, Catassi et al. demostraron que 50 mg diarios de gluten ingeridos durante 3 meses eran suficientes para provocar un descenso significativo en la proporción entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas. No se demostró correlación clínica ni serológica (inmunoglobulina A antitransglutaminasa) con los cambios mucosos provocados por la ingestión de estas trazas de gluten. Debido al escaso número de pacientes estudiado, no se consiguió demostrar la posible toxicidad de dosis de 10 mg de gluten. Una revisión sistemática reciente sugiere que una ingesta de gluten diaria menor de 10 mg es poco probable que ocasione anormalidades histológicas significativas. Con el umbral de menos de 20 ppm de gluten en los alimentos especiales para personas celíacas se consigue una ingesta menor de 50 mg/día, lo que aporta un margen de seguridad suficiente.

## Ensayos clínicos terapéuticos en enfermedad celíaca

### *Inhibicion de la permeabilidad intestinal: acetato de larazótido (AT-1001)*

El citoesqueleto y las uniones intercelulares densas regulan la permeabilidad del epitelio intestinal, y evitan la entrada de bacterias nocivas o antígenos de la dieta. Un acontecimiento precoz en la enfermedad celíaca es la rotura de estas uniones intercelulares densas, lo que aumenta la permeabilidad paracelular y favorece el paso de péptidos nocivos a la lámina propia. El acetato de larazótido (AT-1001, desarrollado por la compañía americana Alba Therapeutics) es un octapéptido inhibidor de la descomposición de las uniones intercelulares densas del epitelio intestinal mediante reordenación del citoesqueleto. Por tanto, bloquea el paso paracelular de gluten a la lámina propia, lo que podría contribuir a evitar el desarrollo de la cascada inmunitaria patológica característica de los pacientes celíacos.

Se han realizado tres estudios de fase I: dos estudios clínicos en sujetos sanos (uno de seguridad de una sola dosis y otro de dosis múltiples) y un tercer estudio de prueba de concepto en sujetos con enfermedad celíaca.

El estudio de fase IIA fue un estudio aleatorizado, controlado con placebo y doble ciego, con 86 enfermos celíacos en remisión. Los pacientes incluidos ingirieron una dosis de provocación de 800 mg de gluten 15 minutos después de la administración de AT-1001 o placebo, tres veces al día durante 2 semanas. El AT-1001 fue bien tolerado a todas las dosis, incluida la de 8 mg, y se demostró su seguridad y tolerabilidad en la población de los pacientes reclutados. No hubo acontecimientos adversos graves. La provocación con gluten de 2 semanas no tenía potencia suficiente para surtir un efecto significativo al evaluar la eficacia y los criterios de valoración a priori, pero los análisis exploratorio y ad hoc demostraron que el AT-1001 era eficaz para prevenir el aumento de la permeabilidad intestinal y los signos y síntomas inducidos por la provocación con gluten.

Posteriormente se llevaron a cabo dos estudios de fase IIB. En el primero de ellos (aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego) se administraron distintas dosis de larazótido (1, 4 y 8 mg en cada uno de los grupos) o placebo, e incluyó 184 pacientes celíacos en remisión a quienes se reintrodujo el gluten (dosis de 900 mg administradas tres veces al día durante 6 semanas). El AT-1001 demostró una reducción de la permeabilidad intestinal evaluada mediante el estudio del índice de lactulosa/manitol durante y después de la provocación con gluten, si bien no alcanzó significación estadística. Se objetivó un beneficio estadísticamente significativo del larazótido en la reducción de los signos y síntomas tras la provocación con gluten, así como una disminución en la positividad de los anticuerpos antitransglutaminasa. Es la primera vez que un fármaco se muestra eficaz frente al gluten en los pacientes celíacos.

El segundo estudio de fase IIB realizado por Alba Therapeutics fue aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego, en pacientes celíacos con dieta estricta sin gluten que fueron divididos en tres grupos (larazótido 4 mg tres veces al día, larazótido 8 mg tres veces al día o placebo). Su objetivo primario era conocer el índice entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas comparando biopsias de los días 0 y 56 (antes y después del tratamiento con AT-1001). Sus objetivos secundarios eran valorar la seguridad y la tolerabilidad del fármaco. Este estudio finalizó su reclutamiento a mediados de 2009 y aún está pendiente de resultados.

Por el momento, una característica del AT-1001 es que no pasa a la circulación sistémica, lo que afianza su buen perfil de seguridad. No se comunicó ningún acontecimiento adverso grave en ninguno de los estudios.

*Tratamiento enzimático: prolil-endopeptidasas (AVL003 y AN-PEP)*

Puesto que la estructura peptídica del gluten es esencial para producir toxicidad, si los polipéptidos del gluten se hidrolizaran hasta sus aminoácidos constituyentes se perdería la capacidad lesiva para el intestino. Este descubrimiento supone un avance esperanzador en la investigación de la enfermedad celíaca.

ALV003 (producto desarrollado por la empresa norteamericana Alvine Pharmaceuticals) es una mezcla de dos glutenasas diferentes con sustratos complementarios: una cisteína endoproteasa derivada de semillas germinadas de la cebada y una prolil-endopeptidasa procedente de *Sphingomonas capsulata*. Ambas son activas en medio ácido, y en una formulación 1/1 administrada por vía oral maximizan su actividad glutenasa.

En 2008 se realizó un ensayo clínico con 20 pacientes celíacos en remisión con buena adherencia a la dieta sin gluten, a quienes se aleatorizó para recibir una dieta con gluten (16 g al día durante 3 días) pretratada con AVL003 (10 pacientes) o una dieta con gluten pretratada con placebo (10 pacientes). En el grupo tratado con AVL003 se observó una disminución significativa de los marcadores séricos de actividad inmunitaria característicos de los pacientes celíacos (IFN-$\gamma$ medido con técnica de ELISpot) y de la cantidad sérica de péptido 33-mer, en comparación con el grupo que recibió placebo. El siguiente objetivo de la compañía Alvine es valorar la efectividad de las proteasas, no como preprocesamiento de los alimentos sino como un suplemento real de la dieta. Se ha realizado un estudio de prueba de concepto en el cual se ha documentado que el AVL003 ingerido por sujetos sanos puede degradar eficazmente alimentos ricos en gluten. Por ahora, este fármaco sólo se plantea como un suplemento de la dieta sin gluten, para "descontaminar" las posibles trazas de gluten que pueda contener.

En agosto de 2009 comenzó en Finlandia un ensayo clínico de fase IIA para estudiar ALV003, y aún está en periodo de reclutamiento. Este ensayo ha sido diseñado con la intención de reclutar unos 110 pacientes y finalizar en octubre de 2010. Se trata de un estudio doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, de 6 semanas de duración, en sujetos con enfermedad celíaca bien controlada a quienes se instruirá para ingerir una pequeña cantidad de gluten prefijada en la fase

activa del estudio. Los objetivos primarios son valorar la histología de la mucosa intestinal antes y después del tratamiento (días 0 y 56), y la tolerabilidad del fármaco. Como objetivos secundarios se plantea analizar los cambios en los linfocitos intraepiteliales y los valores de los anticuerpos celíacos.

Existe otra prolil-endoproteasa llamada AN-PEP, derivada de *Aspergillus niger*. Recientemente se han comunicado los resultados de un ensayo clínico aleatorizado, cruzado, doble ciego y controlado con placebo, desarrollado para valorar la seguridad y la eficacia de AN-PEP en pacientes celíacos a quienes se sometió a una provocación con gluten. Se incluyeron 14 pacientes bien controlados que fueron aleatorizados para consumir durante 2 semanas 7 g de gluten en el desayuno junto con una mermelada que contenía AN-PEP, o placebo (primera fase). Posteriormente se les sometió a un periodo de lavado de 2 semanas de duración en el cual mantenían una dieta estricta sin gluten (segunda fase), y por último (tercera fase) se les aleatorizó para recibir gluten asociado a AN-PEP (siete pacientes) o placebo (siete pacientes) durante otras 2 semanas. Antes y después de las fases primera y tercera se realizaron biopsias duodenales, se determinaron los valores séricos de anticuerpos celíacos y se recogieron los datos de un cuestionario de calidad de vida. Sólo en dos pacientes del grupo placebo y en uno del grupo tratado con AN-PEP se constató deterioro histológico, pero esta diferencia no alcanzó significación estadística. No se documentaron cambios relevantes en los valores séricos de los anticuerpos celíacos ni en los cuestionarios de calidad de vida. Los autores concluyeron que AN-PEP es seguro y bien tolerado.

*Vacuna terapéutica:* Nexvax2®

Se trata de una vacuna desensibilizante que utiliza tres péptidos del gluten, los cuales provocan una reacción en las células T sensibles al gluten en los pacientes con HLA DQ2 positivo. *Nexvax2®* ha convertido estos péptidos en un agente capaz de inducir inmunotolerancia en un ratón con células T sensibles al gluten y restricción HLA DQ2. El primer estudio de fase I con dosis crecientes de *Nexvax2®* en 40 pacientes en Australia mostró efectos secundarios relacionados con el gluten, por lo que fue necesario reducir la dosis (de 90 a 60 µg). La administración fue por vía subcutánea en dosis semanal durante 3 semanas. Actualmente se encuentran reclutando voluntarios celíacos que sigan una dieta sin gluten para determinar la seguridad de las inyecciones semanales de *Nexvax2®* durante 3 semanas, comparando las respuestas inmunitarias con *Nexvax2®* y placebo (inyección de solución salina fisiológica). El estudio tiene previsto finalizar en junio de 2010.

*Modulación de la inmunidad con* Necator americanus

La investigación se basa en la teoría de que nuestro sistema inmunitario necesita exponerse a organismos exógenos para funcionar correctamente. La desaparición de los parásitos intestinales en el intestino de los humanos residentes en los países desarrollados puede ser la causa del aumento de afecciones como la enfermedad celíaca, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa o el asma. La supervivencia del parásito en el intestino se basa en su capacidad para interferir con la respuesta inmunitaria del huésped. Los mecanismos utilizados para hacerlo son similares a los que se usan para regular las enfermedades autoinmunitarias. Los investigadores sospechan que cuando los parásitos son excluidos del ambiente, algunos individuos reaccionan contra ellos mismos y desarrollan enfermedades autoinmunitarias como las mencionadas.

En un pequeño grupo de personas sanas con enfermedad celíaca en tratamiento con dieta, los investigadores se plantearon si *Necator americanus* inhibiría la respuesta inmunitaria Th1 frente al gluten al inducir una respuesta Th2. En diciembre de 2008 concluyó un estudio realizado en Australia de fase IIA, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de provocación con gluten durante 3 a 5 días en 20 pacientes voluntarios tras la infección por el parásito *Necator americanus*

en 10 de ellos. Las larvas del parásito se inyectaron por vía subcutánea en dos tiempos (10 larvas en el momento 0 y cinco larvas más a las 12 semanas). A los pacientes del grupo placebo se les inyectó un preparado que contenía unas gotas de tabasco para que no notasen diferencia con la irritación producida por las larvas reales. Los pacientes huéspedes de parásitos vivos toleraron la provocación con gluten y puntuaron mejor en los tests de síntomas digestivos en comparación con los sujetos control sin parásitos. Además, experimentaron menos inflamación y menos daño en la mucosa intestinal, pero no se alcanzó significación estadística. La conclusión fue que parece haber un efecto inmunomodulador por parte de *Necator,* pero se necesitan estudios adicionales. Al final de las 21 semanas del ensayo se ofreció a todos los voluntarios medicación para eliminar el parásito, pero todos optaron por mantenerlos.

## Bibliografía


- Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. Aliment Pharmacol Ther. 2008;27:1044-52.
- Álvarez Cáceres R. Ensayos clínicos: diseño, análisis e interpretación. Madrid: Díaz de Santos; 2005.
- Catassi C, Fasano F. Celiac disease. Curr Opin Gastroenterol. 2008;24:687-91.
- Catassi C, Fabiani E, Iacono G, D'Agate C, Francavilla R, Biagi F, et al. A prospective, double blind, placebo controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. Am J Clin Nutr. 2007;85:160-6.
- Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. Lancet. 2009;373:1480-93.
- Drago S, El Asmar R, DiPierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. Scand J Gastroenterol. 2006;41:408-19.
- Farrel RF, Nelly CP. Celiac sprue. N Engl J Med. 2002;346:180-8.
- Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. Arch Intern Med. 2003;163:286-92.
- Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. Gastroenterology. 2001;120:636-51.
- Fasano A, Uzzau S, Fiore C, Margaretten K. The enterotoxic effect on zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracelular pathway. Gastroenterology. 1997;112:839-46.
- Feldman M, Friedsman LS, Brandt LJ, editores. Sleinsenger y Fordtran. Enfermedades digestivas y hepáticas. 8ª ed. Madrid: Elsevier; 2008.
- Fernández-Bañares F, Esteve-Comas M, Rosinach M. Cribado de la enfermedad celíaca en grupos de riesgo. Gastroenterol Hepatol. 2005;28:561-6.
- Fleckenstein B, Molberg O, Qiao SW, Schmid DG, von der Mülbe F, Elgstøen K, et al. Gliadin T cell epitope selection by tissue transglutaminase in celiac disease. Role of enzyme specificity and pH influence on the transamidation versus deamidation process. J Biol Chem. 2002;277:34109-16.
- Gibert A, Espadaler M, Canela MA, Sánchez A, Vaqué C, Rafecas M. Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be 20, 100 or 200 ppm? Eur J Gastroenterol Hepatol. 2006;18:1187-95.
- Green PH, Cellier C. Celiac disease. N Engl J Med. 2007;357:1731-43.
- Green PH, Jabri B. Coeliac disease. Lancet. 2003;362:383-91.
- Holm K, Maki M, Vuolteenaho K, Mustalahti K, Ashorn M, Ruuska T, et al. Oats in the treatment of childhood celiac disease: a 2 year controlled trial and a long term follow up study. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23:1463-72.
- Kelly CP, Green PH, Murray JA, DiMarino AJ, Arsenescu RI, Colatrella AM, et al. Safety, tolerability and effects on intestinal permeability of larazotide acetate in celiac disease: results of a phase IIb – 6 week gluten-challenge clinical trial. Gastroenterology. 2009;136(Suppl 1):A474.
- Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. Gastroenterology. 2005;128:S124-7.
- Lanzini A, Lanzaroto F, Mora A, et al. Small intestinal recovery is often incomplete in serum-negative celiacs during gluten free-diet. Gastroenterology. 2007;132:A109.
- Lee SK, Lo W, Memeo L, Rotterdam H, Green PH. Duodenal histology in patients with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. Gastrointest Endosc. 2003;57:187-91.
- Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of

celiac disease among children in Finland. N Engl J Med. 2003;348:2517-24.
– Marinaro M, Fasano A, DeMagistis M. Zonula occludens toxin acts as an adjuvant through different mucosal routes and induces protective inmune responses. Infect Immun. 2003;71:1897-902.
– Matysiak-Budnik T, Candalh C, Dugave C, Namane A, Cellier C, Cerf-Bensussan N, et al. Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. Gastroenterology. 2003;125:696-707.
– Mauri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S, et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. Lancet. 2003;362:30-7.
– Molberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies fliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. Nat Med. 1998;4:713-7.
– Mulder C, Cellier C. Coeliac disease: changing views. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2005;19:313-21.
– O'Mahony S, Howdle PD, Losowsky MS. Management of patients with non-responsive coeliac disease. Aliment Pharmacol Ther. 1996;10:671-80.
– Paterson BM, Lammers KM, Arrieta MC. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coelic disease subjects: a proof of concept study. Aliment Pharmacol Ther. 2007;26:757-66.
– Riches PL, McRorie E, Fraser WD. Osteoporosis associated with neutralizing autoantibodies against osteoprotegerein. N Engl J Med. 2009;361:1459-65.
– Riestra S, Fernández E, Rodrigo L, García S, Ocio G. Prevalence of coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. Scand J Gastroenterol. 2000;35:398-402.
– Rodrigo L. Investigational therapies for celiac disease. Expert Opin Investig Drugs. 2009;18:1865-73.
– Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, Lahr BD, Wu TT, Murray JA. Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. Am J Gastroenterol 2010;105:1412-20.
– Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. Gastroenterology. 2009;137:1912-33.
– Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac disease. Science. 2002;297: 2275-9.
– Sociedad Española de Enfermedad Celíaca. Libro blanco de la Enfermedad Celíaca. Madrid: Consejería de Salud de la Comunidad de Madrid; 2008.
– Tack GJ, Van de Water J, Kooy-Winkelaar EM, et al. Can prolyl-endoprotease enzyme treatment mitigate the toxic effect of gluten in celiac patients? University of Leiden. DSM Biotechnology Center. Digestive Disease Week 2010. New Orleans, USA; abstr. 379.
– Tye-Din JA, Anderson RP, Ffrench R, Brown GJ, Hodsman P, Siegel M, et al. The effects of ALV003 pre-digestion of gluten on immune and symptons in celiac disease in vivo. Clin Immunol. 2010;134:289-95.
– Van de Wal Y, Kooy Y, Van Veelen P, Peña S, Mearin L, Papadopoulos G, et al. Selective deamination by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. J Immunol. 1998;161:1585-8.

## DISCUSIÓN

**J. Aramburu:** En primer lugar, ¿la composición de la flora intestinal tiene algún efecto sobre el desarrollo de la enfermedad? Porque en el modelo transgénico de ratón de enfermedad inflamatoria intestinal o Crohn, con HLA y CD4 humanizado, la composición de la flora intestinal es clave. Además, cuando se abre la permeabilidad del epitelio intestinal, los receptores *toll-like* apicales y basolaterales inducen diferentes tipos de señalización, y éstas se han ligado a roturas de la barrera y a una mayor reacción inflamatoria. En segundo lugar, debido a que la enfermedad está ligada a un HLA concreto, ¿es posible averiguar la predisposición a sufrir la enfermedad durante la infancia y administrar una dieta o algún probiótico para paliar la enfermedad?

**F. León:** En relación a la primera pregunta, la composición de la flora intestinal de los ce-

líacos es diferente, pero no se sabe si es la causa o la consecuencia de la enfermedad. En cuanto a la segunda pregunta, hay un ensayo realizado en Argentina para evaluar el uso de probióticos. Algunos probióticos son eficaces para normalizar la permeabilidad intestinal, inhiben la respuesta Th1 y promueven la respuesta de IL-10, y son los que se utilizarán en el futuro. Es un abordaje interesante.

**L. Álvarez-Vallina:** Cuando has presentado los resultados del larazótido, no se ha visto una correlación de los anticuerpos transglutaminasa con la dosis. ¿Qué explicación sugieres?

**F. León:** No conseguimos ver un efecto dosis-respuesta, pero es algo muy habitual en los fármacos que actúan sobre el sistema inmunitario. Cuando trabajas en la industria farmacéutica te das cuenta de que es un fenómeno habitual. Es posible que no hayamos podido ver el efecto dosis-respuesta debido a la existencia de un efecto umbral, y que nuestro estudio se encontrase en una parte no lineal del rango de dosis-respuesta, muy alto o muy bajo. Éste fue un problema importante en nuestro ensayo, porque si no hay dosis-respuesta se cuestiona la eficacia del fármaco, incluso se cuestiona que el grupo placebo funcionó peor por casualidad y que en realidad no hubo ningún beneficio. Uno de problemas que nos encontramos durante los ensayos clínicos con enfermedades inmunitarias es que si no hay un grupo placebo, la única forma de demostrar que el fármaco funciona es mediante biomarcadores muy específicos, por lo que si no dispones de un grupo placebo o de los biomarcadores adecuados, nunca sabrás si una respuesta clínica se debe al fármaco o a la evolución natural de la enfermedad.

**A. González:** Dada la alta prevalencia de la enfermedad celíaca y que se asocia exclusivamente a unos determinados HLA, ¿tendría sentido realizar un cribado poblacional para poder prevenir la enfermedad en los niños mediante una alimentación sin gluten?

**F. León:** Creo que algún día se hará. De hecho, hay mucha gente que lo ha propuesto. Se cumplen los requisitos de la Organización Mundial de la Salud para realizar un cribado poblacional. Además, el HLA tiene un valor predictivo negativo muy grande, es decir, si no se posee HLA DQ2 o DQ8 no se produce esta enfermedad, por lo que es un buen test. Por otro lado, esto ya se hace en todas las familias que tienen un miembro con celiaquía, pero en el futuro se hará en toda la población.

**M. Juan:** Pero el problema del test es que, por sí misma, el 20% de la población posee DQ2 o DQ8 (y afortunadamente la mayoría no son celíacos), por lo que además del cribado poblacional también deberían hacerse pruebas para detectar anticuerpos antitransglutaminasa o antigliadina.

**F. León:** Sí, pero el valor predictivo positivo es bajo. Tal y como ha comentado la Dra. González, si un individuo posee más predisposición a padecer la enfermedad debe tener más cuidado con el tiempo de introducción del gluten en la dieta, promover la lactancia materna, etc. La relación coste/beneficio de realizar este cribado poblacional todavía no está clara, pero a medida que el coste del test del HLA baje, puede que llegue a realizarse de manera generalizada.

**N. Prats:** Por curiosidad, ¿por qué habéis descartado el uso terapéutico de la inyección subcutánea de larvas de *Necator americanus*? Y en segundo lugar, ¿sería posible inmunizar con cutícula de parásito, como se hace en el asma por vía inhalada?

**F. León:** Es una buena observación. Este abordaje no es conveniente porque deben inyectarse larvas de gusano, pero creo que algún día se descubrirá qué parte del parásito induce el cambio de respuesta Th1 a Th2,

para posteriormente utilizarla para desarrollar un fármaco nuevo.

**M. Juan:** El desarrollo de la respuesta inmunitaria dependiente de células T durante la enfermedad celíaca depende de varios factores: la molécula del HLA, los demás elementos implicados en la presentación antigénica y la permeabilidad de la membrana. En mi opinión, creo que es muy difícil conseguir un tratamiento efectivo si sólo se tiene en cuenta uno de estos elementos. Por el contrario, el tratamiento más efectivo posiblemente será el que los combine todos, aunque uno de los problemas a los que nos enfrentaremos será demostrar la bioseguridad de todos ellos a la vez. Me parece que el hecho de buscar una sola diana terapéutica es un factor limitante a la hora de desarrollar un tratamiento efectivo. Además, creo que hay que recordar que, aunque se desarrolló un fármaco antirretroviral, para que el tratamiento contra el virus de la inmunodeficiencia humana sea efectivo debe ser multifármaco. En el caso de la celiaquía, parece un poco difícil que podamos llegar a algo efectivo si no descubrimos y actuamos sobre todos los factores que están implicados en la enfermedad.

**F. León:** Estoy totalmente de acuerdo. La única manera de averiguar si una enfermedad se debe a un solo factor de forma predominante, a un conjunto de factores o bien que haya un ciclo en el cual los pacientes empiecen por un factor y terminen con varios, es hacer ensayos clínicos que analicen de forma muy cuidadosa los biomarcadores presentes antes, durante y después del tratamiento. Con esta metodología se ha descubierto que la psoriasis se debe casi exclusivamente (el 95% de los casos) a la interleucina 23 (IL-23). Si se bloquea la IL-23, la psoriasis desaparece. Y la enfermedad de Crohn podría intuirse que también está causada por la acción de la IL-23 (basándose en modelos animales), pero ésta sólo interviene en el 30% de los casos. Hasta que no se realiza el ensayo clínico y posteriormente se determinan la IL-23 y los marcadores de inflamación, no puede establecerse si el tratamiento depende de un elemento o de una combinación de ellos. Sin duda, para el futuro de la inmunoterapia, la combinación de elementos será el mejor tratamiento, sobre todo para las enfermedades autoinmunitarias y las alérgicas.

**M. Juan:** Respecto a lo que has comentado acerca de los biomarcadores, hace unos 4 años se publicó un estudio[1,2] en el cual se usaron tetrámeros de clase II con péptido específico para determinar las concentraciones. ¿Es reproducible?

**F. León:** No es reproducible porque el propio grupo no es capaz de manufacturarlos. Pero sería un diagnóstico ideal, porque por citometría de flujo puede diagnosticarse celiaquía y monitorizar la evolución de la enfermedad. El problema es que nadie ha podido reproducir los tetrámeros y este grupo sólo los obtiene cada 6 meses.

[1]Ráki M, Fallang LE, Brottveit M, Bergseng E, Quarsten H, Lundin KE, et al. Tetramer visualization of gut-homing gluten-specific T cells in the peripheral blood of celiac disease patients. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:2831-6.

[2]Brottveit M, Ráki M, Bergseng E, Fallang LE, Simonsen B, Løvik A, et al. Assessing possible celiac disease by an HLA-DQ2-gliadin tetramer test. Am J Gastroenterol. 2011;106:1318-24.