



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

UNIVERSIDAD DE LEÓN

**ENFERMEDAD CELÍACA. FIRMA
MICROBIANA ASOCIADA A LA
ENFERMEDAD CELÍACA**

**CELIAC DISEASE. MICROBIAL SIGNATURE
ASSOCIATED WITH CELIAC DISEASE.**

María Calvo Porro

GRADO EN BIOLOGÍA

Septiembre, 2021



ÍNDICE:

1. RESUMEN:	
2. PÁGINA DE ABREVIATURAS:	
3. INTRODUCCIÓN:	1
4. ENFERMEDAD CELÍACA:	1
4.1 <u>EPIDEMIOLOGÍA:</u>	<u>2</u>
4.2 <u>PREDISPOSICIÓN GENÉTICA:</u>	<u>2</u>
4.3 <u>SÍNTOMAS Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.</u>	<u>3</u>
4.4 <u>GLUTEN:</u>	<u>6</u>
5. FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA:	6
6. PÉRDIDA DE LA TOLERANCIA ORAL AL GLUTEN:	9
7. IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL:	10
7.1 <u>MICROBIOTA INTESTINAL:</u>	<u>10</u>
7.1.1 COMPOSICIÓN NORMAL:	11
7.1.2 FUNCIONES:	12
7.2 <u>IMPLICACIÓN DE LA MICROBIOTA EN LA PÉRDIDA DE TOLERANCIA ORAL AL GLUTEN:</u>	<u>12</u>
7.3 <u>IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA EN EL METABOLISMO DEL GLUTEN E INMUNOGENICIDAD</u>	<u>15</u>
7.4 <u>GENÓMICA Y SECUENCIACIÓN:</u>	<u>16</u>
7.4.1 SECUENCIACIÓN DEL ARNr 16S:.....	17
7.4.2 SHOTGUN SEQUENCING y <i>WHOLE GENOME SEQUENCING</i> (WGS):....	17
7.5 <u>CARACTERIZACIÓN DE LA DISBIOSIS ASOCIADA A LA ENFERMEDAD CELÍACA</u>	<u>18</u>
7.5.1 FIRMA MICROBIANA ASOCIADA A LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL (EII):	18
7.5.2 FIRMA MICROBIANA ASOCIADA AL CÁNCER COLO-RECTAL:	19
7.5.3 DISBIOSIS EN LA ENFERMEDAD CELÍACA:	21
8. TRATAMIENTOS:	23
9. CONCLUSIÓN:	23
10. REFERENCIAS:	25



universidad
de león



1. RESUMEN:

El objetivo del trabajo es repasar los conocimientos generales sobre la enfermedad celíaca, los mecanismos implicados en su desarrollo y la importancia de la microbiota y su alteración (disbiosis). Finalmente, se intentará definir la firma microbiana asociada a la enfermedad, que podría emplearse como marcador de diagnóstico. Este TFG es un trabajo bibliográfico basado en la recopilación de información obtenida de artículos científicos.

La información aquí presentada pone de manifiesto la gran importancia que tiene la microbiota en el desarrollo de las enfermedades y cómo ciertas infecciones víricas y bacterianas podrían contribuir al inicio y/o progresión de la enfermedad celíaca. Diversos estudios han encontrado cambios en la composición de la microbiota de pacientes celíacos, pero hasta el momento, no se ha podido definir la firma microbiana característica de la enfermedad, pues se necesitan realizar más análisis.

PALABRAS CLAVE:

Enfermedad celíaca, firma microbiana, disbiosis, gluten, pérdida de tolerancia oral, microbiota.

ABSTRACT:

The aim of this work is to review the general knowledge about celiac disease, the mechanisms involved in its development and the importance of the microbiota and its imbalance (dysbiosis). Finally, this work will attempt to define the microbial signature associated with the celiac disease, which could be used as a diagnostic marker. This TFG is a bibliographic paper based on the compilation of information obtained from scientific articles related to celiac disease.

The information presented here highlights the great importance of the microbiota in the development of diseases and how certain viral and bacterial infections could contribute the onset and/or progression of the celiac disease. Several studies have found changes in the composition of the microbiota of celiac patients, but up to now, the microbial signature characteristic of the disease has not been precisely defined, as more analyzes are needed.

KEY WORDS:

Celiac disease, microbial signature, dysbiosis, gluten, loss of oral tolerance, microbiota.



2. PÁGINA DE ABREVIATURAS:

APCS: Células presentadoras de antígenos

CRC: Cáncer colo-rectal

DC: Células dendríticas

EC: Enfermedad celíaca

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal

GALT: Tejido linfóide asociado al intestino

HLA: Antígenos leucocitarios humanos

IEL: Linfocitos intraepiteliales

IMID: Enfermedades inflamatorias inmuno-mediadas

IRF1: Factor regulador del interferón 1

ITS: Espaciador transcrito interno

LPS: Lipopolisacárido

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

NCGS: Sensibilidad al gluten no celíaca

OTU: Unidad taxonómica operativa

PAR-2: Receptor 2 activado por proteasa

PAS: Síndrome autoinmune poliglandular

PPRs: Patrones de reconocimiento de patógenos

SCFAs: Ácidos grasos de cadena corta

TG2: Transglutaminasa tisular

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

WGS: Secuenciación de genoma completo

*Muchas de las abreviaturas corresponden a sus respectivos nombres en inglés



3. INTRODUCCIÓN:

Durante las últimas décadas está aumentando considerablemente en las sociedades actuales la prevalencia de enfermedades inflamatorias crónicas como lupus, artritis reumatoide o la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), que incluye a la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (El-Gabalawy *et al.*, 2010; Caminero *et al.*, 2016; Forbes *et al.*, 2016; Leonard *et al.*, 2021).

Muchas de estas enfermedades comparten una inflamación crónica causada por la alteración del sistema inmune (El-Gabalawy *et al.*, 2010) en la que están implicados muchos factores genéticos y ambientales (edad, tabaquismo, antecedentes familiares, dieta, alteración de la microbiota intestinal) (Forbes *et al.*, 2016). La prevalencia de este tipo de enfermedades inflamatorias inmunomediadas (IMID), es algo superior en mujeres que en hombres, pero en ambos casos los pacientes presentan un mayor riesgo de desarrollar comorbilidades similares u otras patologías relacionadas a IMID (El-Gabalawy *et al.*, 2010; Forbes *et al.*, 2016).

Por ello, es importante estudiar a fondo las diferentes enfermedades o trastornos inmunes, para así conocer al máximo las causas, los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad y poder encontrar alguna terapia o tratamiento.

4. ENFERMEDAD CELÍACA:

Aunque no se considera una enfermedad inflamatoria crónica, la enfermedad celíaca (EC) es una de las enfermedades autoinmunes más comunes en la población con una prevalencia mundial cercana al 1% (Al-Bawardy *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Caio *et al.*, 2019).

La EC se define como una enteropatía inflamatoria multisistémica del intestino delgado (Kahaly *et al.*, 2018; Serena *et al.*, 2019) que se origina por un proceso inmune autodestructivo en el propio intestino impulsado por células T y células B tras la ingesta de gluten en personas predispuestas genéticamente, y que previamente han perdido la tolerancia oral al gluten (proceso que se explicará más adelante) (Kahaly *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020).

La respuesta celular y la fisiopatología de la enfermedad, que se explicarán detalladamente más adelante, producen daño epitelial y la destrucción de enterocitos. La ruptura de la lámina propia



permite la infiltración de células inmunes, que reaccionan frente al antígeno (gluten), produciendo una respuesta inmunológica aberrante (Girbovan *et al.*, 2017; Kahaly *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; Lerner *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019).

Además de la EC, hay otros trastornos relacionados con el metabolismo del gluten, como la ataxia del gluten o la sensibilidad al gluten no celíaca (NCGS) (intolerancia al gluten) (Rubio-Tapia y Murray, 2007; Bao *et al.*, 2012; McAllister *et al.*, 2019), aunque no se van a explicar en este documento.

4.1 EPIDEMIOLOGÍA:

La prevalencia de la EC es dos veces superior en mujeres que en hombres, aunque está aumentando en ambos sexos en las últimas décadas, sobre todo en pacientes con riesgo a desarrollarla (Tye-Din *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020).

La enfermedad puede aparecer y detectarse en cualquier rango de edad, pero hay dos picos principales de incidencia, uno en los dos primeros años de vida y otro pico en la segunda-tercera década de edad (Caio *et al.*, 2019).

4.2 PREDISPOSICIÓN GENÉTICA:

La enfermedad celíaca tiene componente hereditario y recurrencia familiar (Caio *et al.*, 2019). La mayoría de los pacientes celíacos son portadores de una combinación de haplotipos concreta de los genes de clase II del antígeno leucocitario humano (HLA) que forman parte del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (Verdu *et al.*, 2015; Al-Bawardy *et al.*, 2017; Tye-Din *et al.*, 2018; Serena *et al.*, 2019).

En su mayoría, los pacientes celíacos poseen genotipo HLA-DQ2 (95% de los casos de EC), HLA-DQ8 o una combinación de ambos haplotipos (Meresse *et al.*, 2009; Kahaly *et al.*, 2018; Tye-Din *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019). La homocigosis de DQ2 aumenta el riesgo de enfermedad celíaca (Rubio-Tapia y Murray, 2007; Meresse *et al.*, 2009; Tye-Din *et al.*, 2018). También hay otros genes dentro de la región MHC y otros genes no HLA relacionados con EC.



Aunque aproximadamente el 40% de la población posee los alelos DQ2 (más abundante este que el DQ8) o DQ8, solo 1-3% de ellos acabará padeciendo la enfermedad (Al-Bawardy *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Valitutti *et al.*, 2019; Leonard *et al.*, 2021), por lo tanto, la presencia de los alelos HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 es necesaria pero no suficiente por sí sola para que se desencadene la enfermedad (McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Pecora *et al.*, 2020; Rubin y Crowe, 2020). Esto sugiere la existencia de otros factores implicados en el desarrollo de la enfermedad (como por ejemplo la microbiota intestinal), que se tratarán más adelante.

4.3 SÍNTOMAS Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

La mayoría de los pacientes presentan síntomas gastrointestinales reconocibles como diarrea (muy común), dolor, distensión abdominal, gastritis o pérdida de peso (Caputo *et al.*, 2010; Al-Bawardy *et al.*, 2017; McAllister *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020), pero también pueden presentar manifestaciones extraintestinales como dermatitis, deficiencia de hierro, anemia, malabsorción de vitaminas D, E, A, K, malabsorción de calcio o magnesio y osteopenia (Al-Bawardy *et al.*, 2017; Kahaly *et al.*, 2018; Lerner *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020).

Los pacientes celíacos presentan una elevada prevalencia de trastornos autoinmunes glandulares como la enfermedad hepática autoinmune, la enfermedad de Hashimoto, enfermedad de Graves (enfermedades tiroideas), diabetes mellitus tipo I, epilepsia, lupus o síndrome autoinmune poliglandular (PAS) (Kahaly *et al.*, 2018; Tye-Din *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Leonard *et al.*, 2021), pues comparten un trasfondo genético y mecanismos patogénicos comunes (Rubio-Tapia y Murray, 2007; Parzanese *et al.*, 2017; Kahaly *et al.*, 2018).

Los pacientes con EC pueden acabar desarrollando una insuficiencia pancreática, hepatitis autoinmune, daño hepático, enfermedades neoplásicas, adenocarcinomas, intolerancia a la lactosa y otros trastornos gastrointestinales como la enfermedad inflamatoria intestinal (Rubio-Tapia y Murray, 2007; Parzanese *et al.*, 2017; Tye-Din *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020).

Clínicamente, los síntomas más característicos y relevantes que presentan los pacientes con EC, son la atrofia de las vellosidades y/o hiperplasia de las criptas, así como infiltración de células inmunes, como linfocitos intraepiteliales (IEL) en el epitelio intestinal (Figura 1) (Kahaly *et al.*, 2018; Serena *et al.*, 2019). Estos rasgos clínicos pueden emplearse como herramienta de diagnóstico (Tye-Din *et al.*, 2018), de acuerdo a la clasificación de grados Marsh (Weitz y Pisano, 2011).

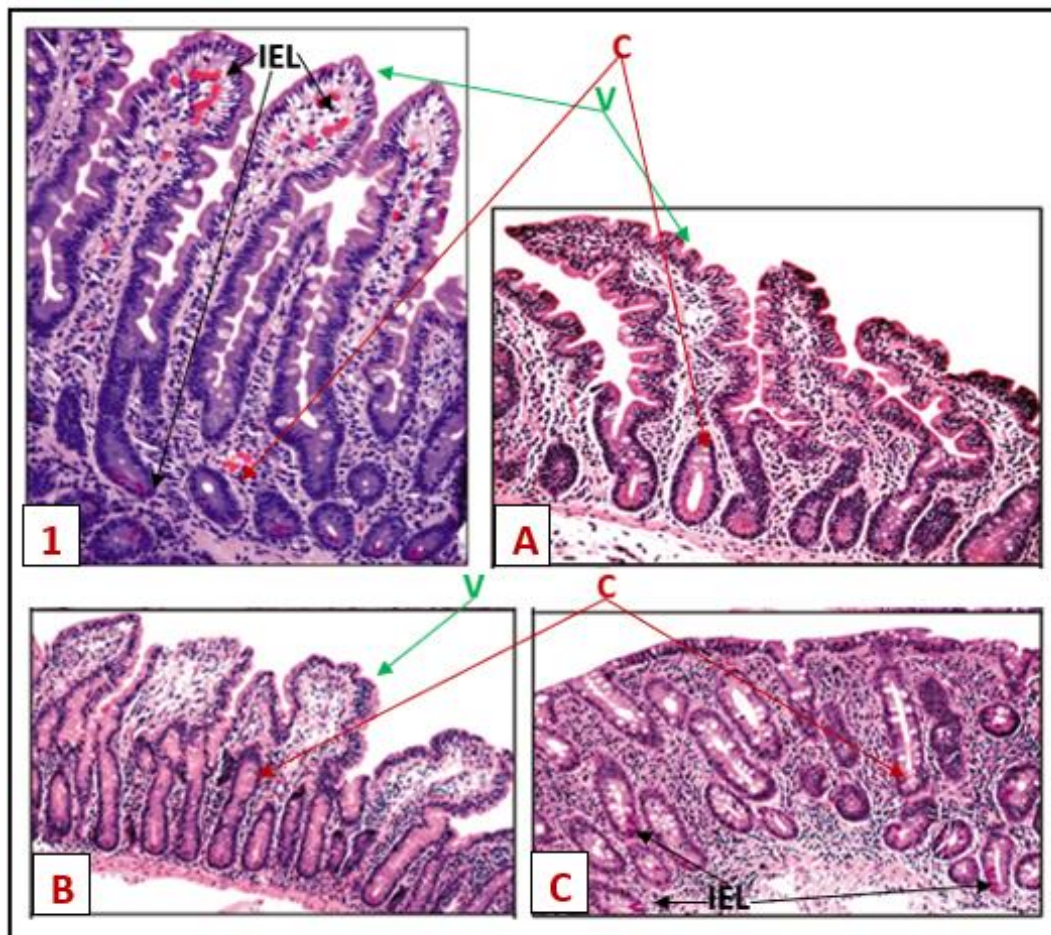


FIGURA 1: Representación de los cambios que experimenta la mucosa y epitelio de los pacientes celíacos. Modificada de (Bao *et al.*, 2012). “V” representa las vellosidades del epitelio intestinal, “C” las criptas intestinales e “IEL” los linfocitos intraepiteliales. 1- representa la mucosa duodenal sana, mientras que las letras A-B-C representan las diferentes fases de la enfermedad colónica (estadio inicial- enfermedad celíaca intermedia- estadio avanzado). Como se observa en la imagen, a medida que avanza la enfermedad celíaca se van destruyendo las vellosidades intestinales (hasta que en el estadio avanzado son prácticamente inexistentes), y se produce la hiperplasia en las criptas (van adquiriendo mayor tamaño por el aumento del número de células de la base de las vellosidades). En una mucosa sana, los linfocitos intraepiteliales (IEL) se encuentran en un ratio 25 IEL/100 enterocitos y adoptan una disposición dispersa, es decir, se distribuyen por toda la mucosa, mientras que en los pacientes celíacos, los IEL se encuentran generalmente en ratio superior a 35 IEL/100 enterocitos y se localizan en mayor medida cerca de las criptas.



Los IEL son células del sistema inmune (generalmente linfocitos T), cuya función se explicará de forma más detallada en el proceso fisiopatológico de la enfermedad. Se localizan dentro de la mucosa epitelial, intercalándose entre los enterocitos (células epiteliales intestinales). Los IEL principalmente se encargan de mantener la tolerancia oral a los antígenos solubles y regular la respuesta inmune en el intestino (Bao et al., 2012; Caminero and Verdu, 2019).

Hay varios tipos de EC (según la clasificación de grados Marsh-Oberhuber) atendiendo a los síntomas clínicos que presentan los pacientes celíacos, como el tipo y gravedad de lesiones en las vellosidades o en las criptas, o la cantidad de linfocitos intraepiteliales (IEL) localizados en el epitelio intestinal (Al-Bawardy *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Caio *et al.*, 2019; Cichewicz *et al.*, 2019), tal y como se representan en la tabla 1.

TABLA 1: Características clínicas de los diferentes grados de enfermedad celíaca de acuerdo con la clasificación Mash-Oberhuber, atendiendo a la cantidad de IEL, a la atrofia de las vellosidades y al estado de las criptas intestinales. Tabla modificada de (Weitz y Pisano, 2011).

Marsh 0
Mucosa y vellosidades conservadas
Marsh I “Infiltrativa”
Mucosa normal y arquitectura vellositaria conservada. Aumento de IEL
Marsh III o Destructiva
-III a.
Atrofia parcial de vellosidades Vellosidades acortadas y romas Leve infiltración linfocítica Criptas alargadas hiperplásicas
-III b.
Atrofia subtotal de vellosidades Atrofia de vellosidades, pero aún reconocibles Criptas alargadas con células epiteliales inmaduras Células inflamatorias
-III c.
Atrofia vellositaria total Pérdida completa de vellosidades Criptas severamente hiperplásicas y con infiltrado inflamatorio
Marsh IV “Hipoplásica”



Atrofia total de vellosidades Criptas de profundidad normal, pero hipoplásica Linfocitos intraepiteliales en número normal
--

4.4 GLUTEN:

El gluten es un conjunto de proteínas, compuestas principalmente por polímeros de gluteninas y monómeros de gliadina. Son polímeros proteicos que pertenecen al grupo de las prolaminas (proteínas ricas en prolina y glutamina) y componen gran parte de los granos de cereales como trigo, centeno y cebada (Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019). Los enlaces peptídicos de los que forman parte los aminoácidos prolina y glutamina son muy resistentes a la acción de las proteasas digestivas humanas (las enzimas humanas tienen una reducida actividad prolil-endopeptidasa) (Caminero *et al.*, 2015), por lo que el gluten, es solamente digerido parcialmente y con dificultad en el tracto gastrointestinal por el hospedador, lo que resulta en la generación de largos péptidos derivados altamente inmunogénicos en pacientes con predisposición a la enfermedad (McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Valitutti *et al.*, 2019; Fernández-Pérez *et al.*, 2020).

Más recientemente se ha descrito que los péptidos del gluten resultantes de la digestión enzimática humana, como el péptido 33-mer o el 19-mer (33 y 19 residuos proteicos respectivamente) pueden ser posteriormente hidrolizados por ciertos grupos bacterianos de la microbiota intestinal (conjunto de microorganismos que habitan en el tracto gastrointestinal del huésped) y alterar o modificar así su inmunogenicidad (Caminero *et al.*, 2015).

Por otra parte, varios estudios han demostrado que la capacidad de metabolizar el gluten parece estar presente en el nacimiento, pues bebés de poca edad son capaces de metabolizar completamente los péptidos 33-mer o 19-mer. No obstante, la capacidad de degradación desaparece progresivamente hasta los 2 años de edad (Caminero *et al.*, 2015; Fernández-Pérez *et al.*, 2020). Descubrir las causas de la pérdida de la capacidad de digerir el gluten podría dar una visión más completa de la EC y descubrir nuevos tratamientos.

5. FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA:

En los pacientes celíacos, los péptidos producidos en la digestión parcial como el péptido 33-mer o el 19-mer, o aquellos producidos por la modificación de los péptidos del gluten ejercida



por la microbiota intestinal, poseen varios epítomos altamente inmunogénicas y muy resistentes a las proteasas intestinales (Caputo *et al.*, 2010; Caminero *et al.*, 2015), los cuales activan respuestas inflamatorias mediadas por el sistema inmune adaptativo de los pacientes celíacos (Caminero *et al.*, 2015).

Los péptidos del gluten (33-mer principalmente) atraviesen la barrera epitelial intestinal y son deamidados por la enzima transglutaminasa tisular (TG2), que produce residuos peptídicos aún más inmunogénicos (Girbovan *et al.*, 2017; Bouziat *et al.*, 2018; McAllister *et al.*, 2019; Fernández-Pérez *et al.*, 2020; Pecora *et al.*, 2020).

Esas gliadinas inmunogénicas son reconocidas con gran facilidad y rapidez por los genotipos HLA-DQ2 y HLA-DQ8, pertenecientes a las moléculas HLA (antígenos leucocitarios humanos) clase II de las células presentadoras de antígenos (APCs). Estas APCs “presentan” los antígenos a los linfocitos T CD4+, que se activan y desencadenan una respuesta inmune proinflamatoria, mediada por TNF- α (factor de necrosis tumoral) e IL-21 (interleucina-21), implicados en la destrucción del epitelio y barrera intestinal, y la degradación de las uniones estrechas epiteliales, produciéndose así la destrucción de los enterocitos (Verdu *et al.*, 2015; Hardy y Tye-Din, 2016; Al-Bawardy *et al.*, 2017; Girbovan *et al.*, 2017; Tye-Din *et al.*, 2018; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Pecora *et al.*, 2020).

Las células dendríticas (DC) y las IEL sintetizan IL-15, una citoquina proinflamatoria implicada en las respuestas inmunes adaptativas-innatas. Esta interleucina inhibe la expresión de células T reguladoras (Tregs), necesarias para controlar la expresión de células T (Hardy y Tye-Din, 2016; Caminero y Verdu, 2019) e induce la activación e infiltración de más IEL, lo que contribuye al aumento de permeabilidad intestinal y a la degradación del epitelio y de la barrera intestinal (Hmida *et al.*, 2012; Caminero y Verdu, 2019).

Por otra parte, los linfocitos T CD4+ activados impulsan la expansión clonal de células B, que se diferencian a células plasmáticas productoras de anticuerpos contra el gluten y contra la transglutaminasa tisular (TG2), lo que contribuyen al daño epitelial (Figura 2) (Caputo *et al.*, 2010; Girbovan *et al.*, 2017; Herrán *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Kahaly *et al.*, 2018; Tye-Din *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019).

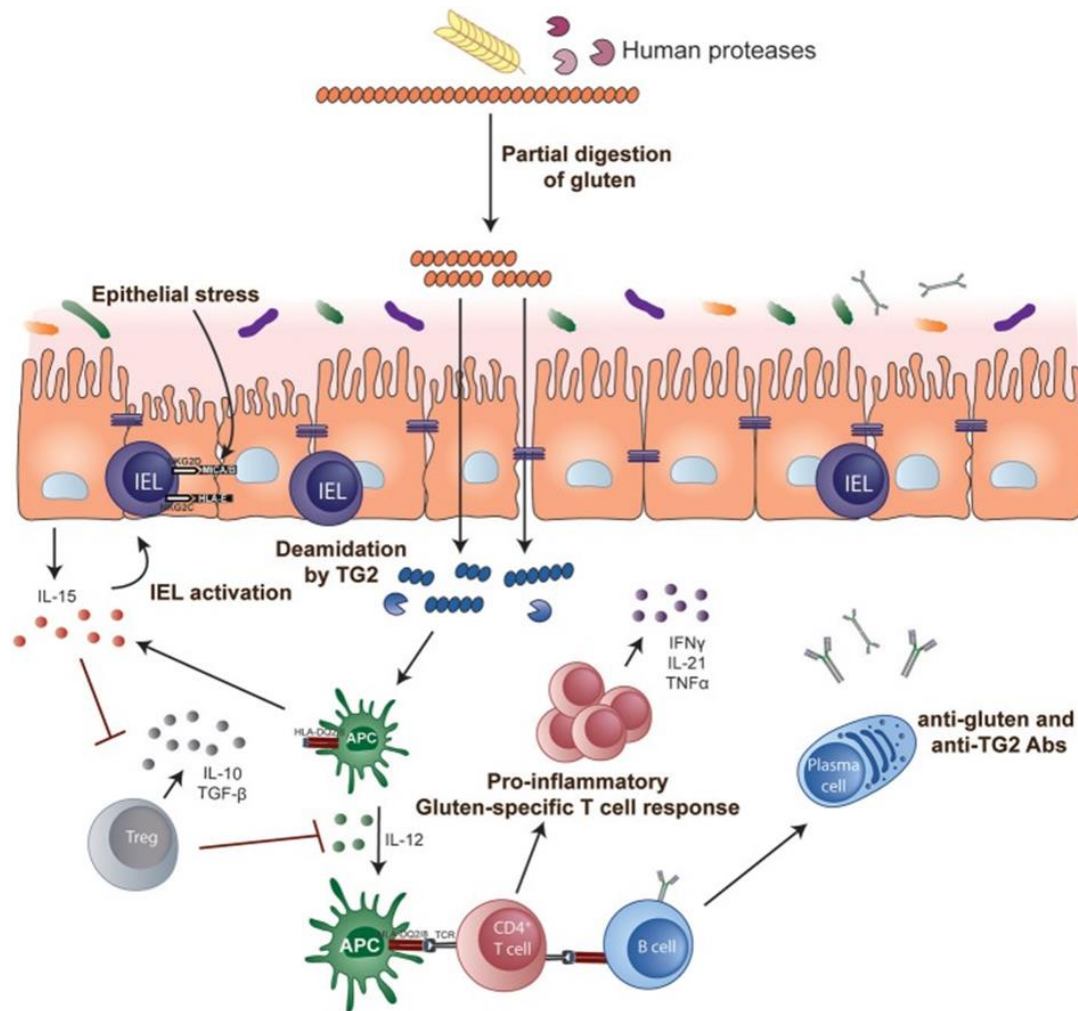


FIGURA 2: Obtenida de (Tye-Din *et al.*, 2018). La imagen supone la representación gráfica del proceso fisiopatológico, en la que se observa el efecto de la activación de los linfocitos T CD4+, de las células B y de la síntesis de citoquinas proinflamatorias sobre el aumento de la permeabilidad intestinal, el daño epitelial en la mucosa, criptas y vellosidades, así como la infiltración de IEL.

La liberación de estas citoquinas y factores proinflamatorios, y la activación de las células T y B, producen la hiperplasia de las criptas intestinales, el desmontaje de las uniones estrechas, la atrofia de las vellosidades, el aumento de la permeabilidad intestinal y la infiltración intraepitelial intestinal de linfocito (IEL). Se producen, por tanto, todas las características clínicas asociadas a la EC (Hardy y Tye-Din, 2016; Girbovan *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Caio *et al.*, 2019; Lerner *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019).

El diagnóstico de la enfermedad se puede realizar mediante pruebas genéticas para comprobar el genotipo para el HLA-DQ y mediante exámenes serológicos para comprobar si hay



anticuerpos de tipo IgA anti-TG2 (anticuerpos contra la enzima transglutaminasa) y/o anti-gliadina deamidada (anticuerpos contra los péptidos de gluten deamidados) (Bao *et al.*, 2012; Al-Bawardy *et al.*, 2017; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019), aunque puede que ciertos pacientes celíacos no presenten ningún anticuerpo. En último lugar, se puede recurrir a una biopsia debido al carácter más invasivo del proceso (Bao *et al.*, 2012; Tye-Din *et al.*, 2018; Lerner *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Rubin y Crowe, 2020; Leonard *et al.*, 2021).

6. PÉRDIDA DE LA TOLERANCIA ORAL AL GLUTEN:

Se han realizados numerosos estudios para determinar si el momento de introducción del gluten o el componente genético están involucrados en la pérdida de tolerancia al gluten (Cristofori *et al.*, 2018).

Se sabe que la mayoría de las personas genéticamente susceptibles a la EC no desarrollan la enfermedad, por lo que en la actualidad se está estudiando qué mecanismos exactos están implicados en la pérdida de tolerancia oral al gluten y el papel de las infecciones entéricas, células T reguladoras (Tregs) y células T en el desarrollo de la enfermedad (Tye-Din *et al.*, 2018).

La tolerancia oral es un estado caracterizado por la falta de respuesta inmune local y sistémica a los antígenos inocuos de los alimentos ingeridos. La tolerancia oral mantiene la homeostasis y previene de las reacciones inmunes alérgicas a los antígenos de la dieta (Pabst y Mowat, 2012; Brown, Jabri, *et al.*, 2018; Satitsuksanoa *et al.*, 2018). En el mantenimiento de la tolerancia oral están implicados los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT) (Pabst y Mowat, 2012; Satitsuksanoa *et al.*, 2018), que discriminan los antígenos propios de los extraños y las células dendríticas intestinales (Satitsuksanoa *et al.*, 2018).

Los antígenos solubles (partículas de alimentos) son capturados por la lámina propia y transferidos a las células dendríticas del intestino (Pabst y Mowat, 2012; Satitsuksanoa *et al.*, 2018), que transportan dicho antígeno a los ganglios linfáticos mesentéricos (mLN), encargados de inducir y regular la actividad de células Treg y del control de la función de las células B y T efectoras, para poder mantener la tolerancia oral (Pabst y Mowat, 2012; Brown, Jabri, *et al.*, 2018; Satitsuksanoa *et al.*, 2018).



Si en algún momento, se produce la pérdida de tolerancia oral al gluten en los individuos predispuestos, puede desencadenarse una respuesta inmune contra los antígenos del gluten y acabar desarrollándose la enfermedad celíaca (aunque para ello deben estar implicados otros factores ambientales, como la microbiota, que se explicarán con detalle más adelante).

7. IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL:

Existen factores indispensables para el desarrollo de la EC, como la predisposición genética, la ingesta de péptidos de gluten y la pérdida de tolerancia oral al gluten, que se han explicado con detalle en el trabajo. Sin embargo, en muchos casos no son suficientes para el desarrollo de la enfermedad celíaca, por lo se cree que hay otros factores externos como la edad, el consumo de alcohol, drogas o antibióticos que pueden estar implicados en su desarrollo. Recientemente, se ha descrito que la microbiota puede ser un factor clave implicado en el inicio y progresión de la enfermedad celíaca y de muchas otras enfermedades (Hmida *et al.*, 2012; Tojo *et al.*, 2014; Parzanese *et al.*, 2017; Brown, Short, *et al.*, 2018; Tye-Din *et al.*, 2018; Cristofori *et al.*, 2018; Satitsuksanoa *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; Caminero y Verdu, 2019; Guan, 2019; Serena *et al.*, 2019).

Por ello, es necesario conocer la composición de la microbiota intestinal de un individuo sano, las funciones que realiza, su importancia y qué implicaciones puede tener sobre la homeostasis del organismo en el que habita.

7.1 MICROBIOTA INTESTINAL:

La microbiota intestinal humana es el conjunto de microorganismos (bacterias, virus y levaduras) que habitan en su tracto gastrointestinal. En los individuos sanos, a lo largo del todo el tracto gastrointestinal, hay cerca de 10^{18} células bacterianas comensales. El número y diversidad de las poblaciones microbianas aumenta gradualmente desde el estómago al colon, donde la cantidad de bacterias comensales es mayor (10^{11}) (Tojo *et al.*, 2014; Caminero *et al.*, 2016; Forbes *et al.*, 2016; Rinninella *et al.*, 2019).



7.1.1 COMPOSICIÓN NORMAL:

El tracto gastrointestinal de los organismos no siempre está colonizado por las mismas especies, pues la composición de la microbiota varía en función de la edad y depende en gran medida de factores ambientales. (Girbovan *et al.*, 2017; Rinninella *et al.*, 2019)

La colonización intestinal comienza después del nacimiento (o incluso antes, durante la gestación) con anaerobios facultativos, enterobacterias, enterococos y lactobacilos. Progresivamente se van estableciendo otros filos bacterianos y la diversidad microbiana cambia hasta que se establece la composición definitiva estable, hacia los dos años de edad aproximadamente (Tojo *et al.*, 2014).

Aunque hay cerca de 1000 filos bacterianos, en un individuo sano adulto la microbiota está dominada por los filos *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Ruminococcus*) y *Bacteroidetes* (*Bacteroides* y *Prevotella*), aunque en menor proporción también se encuentran *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*), *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia* (Figura 3) (Tojo *et al.*, 2014; Jandhyala *et al.*, 2015; Forbes *et al.*, 2016; Girbovan *et al.*, 2017; Rinninella *et al.*, 2019; Valitutti *et al.*, 2019). Además de los grupos bacterianos nombrados, también hay minoritariamente arqueas metanógenas, algunas especies de levaduras y algunos virus bacteriófagos (Tojo *et al.*, 2014; Rinninella *et al.*, 2019).

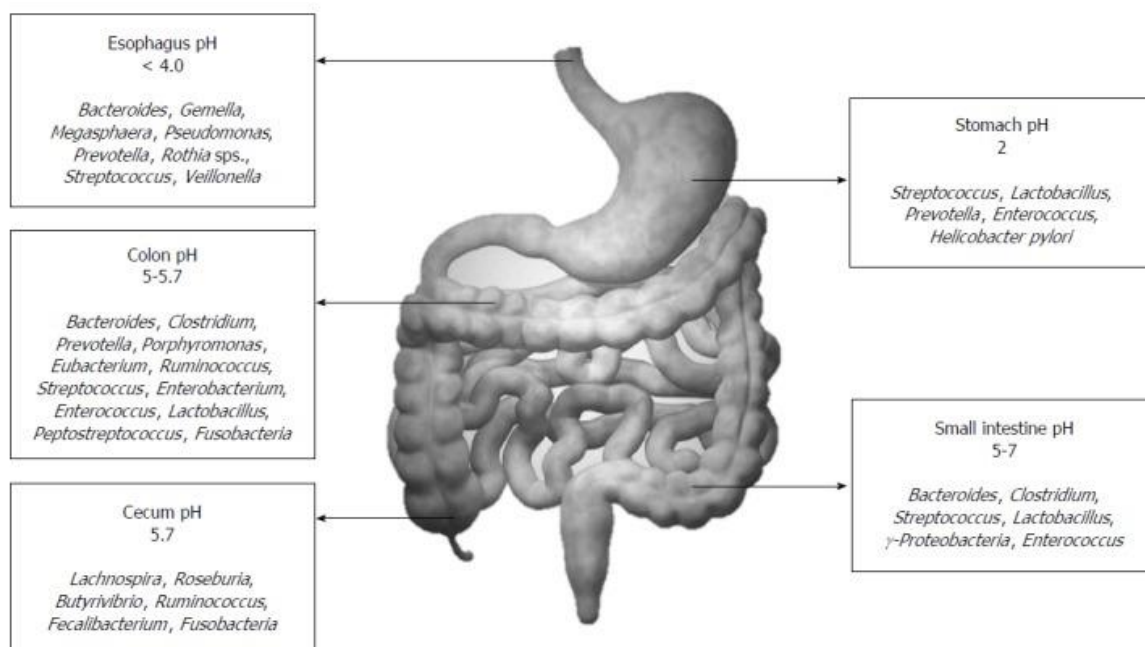




FIGURA 3: Obtenida de (Jandhyala *et al.*, 2015). La figura es una representación de los géneros y filos más abundantes y habituales de distintas regiones del tracto gastrointestinal (esófago, estómago, colon, intestino delgado y ciego). Como se puede observar en la imagen, algunos de los géneros más abundantes de la microbiota de la región intestinal son Bacteroides, Clostridium, Lactobacillus, Streptococcus, Proteobacterias, Enterococcus, Fusobacteria o Prevotella.

7.1.2 FUNCIONES:

La microbiota tiene una gran importancia en el correcto funcionamiento de su hospedador pues la alteración de esta (disbiosis) se ha relacionado con muchas enfermedades gastrointestinales como la enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colo-rectal y otras patologías extra-gastrointestinales (Tojo *et al.*, 2014; Jandhyala *et al.*, 2015; Verdu *et al.*, 2015; Serena *et al.*, 2019).

La microbiota regula algunas funciones metabólicas y fisiológicas del huésped, como la síntesis y absorción de moléculas esenciales para este (vitaminas, aminoácidos o ácidos biliares), la digestión de ciertas moléculas que no puede digerir el hospedador (como el gluten), la síntesis de moléculas antibacterianas como SCFAs (ácidos grasos de cadena corta), que impiden la colonización de bacterias enteropatógenas. También está implicada en la regulación del gasto energético y de la homeostasis intestinal e influye sobre la permeabilidad intestinal (Tojo *et al.*, 2014; Jandhyala *et al.*, 2015; Verdu *et al.*, 2015; Gagnière *et al.*, 2016; Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Cristofori *et al.*, 2018; Rinninella *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Valitutti *et al.*, 2019).

Otro de los papeles principales de la microbiota es la regulación del funcionamiento y maduración del sistema inmune del huésped (células T, B o células linfoides innatas), pues la microbiota puede modular la respuesta del huésped a los antígenos propios o a los no propios y controlar procesos fisiológicos del huésped (Tojo *et al.*, 2014; Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Rinninella *et al.*, 2019).

7.2 IMPLICACIÓN DE LA MICROBIOTA EN LA PÉRDIDA DE TOLERANCIA ORAL AL GLUTEN:

Como se ha mencionado previamente, la alteración de la microbiota se ha relacionado con muchas enfermedades gastrointestinales, como el cáncer colo-rectal o el síndrome del intestino irritable (Tojo *et al.*, 2014; Malla *et al.*, 2019) y con otras afecciones autoinmunes e inflamatorias (Leonard *et al.*, 2021). Más recientemente se ha estudiado sobre la relación entre



las infecciones por ciertas especies/cepas de reovirus y bacterias y la pérdida de la tolerancia oral.

La infección por la cepa aguda de norovirus murino CW3 (reovirus) o por la cepa tipo I Lang (T1L) de reovirus inducen la apoptosis prematura de los enterocitos y la pérdida de tolerancia oral al gluten (Bouziat *et al.*, 2017, 2018; Brown, Jabri, *et al.*, 2018; Brown, Short, *et al.*, 2018; Oikarinen *et al.*, 2021). Tras la infección, el virus atraviesa el intestino y se disemina a los tejidos subyacentes, hasta que llega a las placas de Peyer o a los ganglios linfáticos mesentéricos (Brown, Short, *et al.*, 2018).

La pérdida de tolerancia oral inducida por la infección vírica se caracteriza por la activación de la vía IRF1 (factor regulador del interferón 1), que bloquea la expresión de células Treg y estimula la expresión y respuesta de las células Thelper 1 al gluten en los nódulos linfáticos. Esto permite que se desencadenen respuestas inflamatorias y se sintetizen anticuerpos IgG frente a los antígenos de gluten y citoquinas (como IL-15 o TNF- α) que impiden la correcta función del sistema inmune. Todo ello causa la degradación de las vellosidades intestinales y daño epitelial, que contribuye al desarrollo de la enfermedad celíaca (Hmida *et al.*, 2012; Hardy y Tye-Din, 2016; Bouziat *et al.*, 2017, 2018; Brown, Jabri, *et al.*, 2018; Brown, Short, *et al.*, 2018; Tye-Din *et al.*, 2018; Caminero y Verdu, 2019; Oikarinen *et al.*, 2021).

También se ha encontrado correlación entre la infección por adenovirus, rotavirus, enterovirus y el virus de hepatitis C y la pérdida de tolerancia oral al gluten, pero en muchos casos no se ha demostrado causalidad (Bouziat *et al.*, 2017, 2018; Brown, Jabri, *et al.*, 2018; Brown, Short, *et al.*, 2018; Oikarinen *et al.*, 2021).

También se ha descrito la implicación de *Pseudomonas aeruginosa* en la pérdida de tolerancia oral al gluten (Bouziat *et al.*, 2017; Caminero y Verdu, 2019). Las proteasas (elastasas) con capacidad de degradación del gluten expresadas por *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno oportunista del intestino, inducen la respuesta inmune innata del huésped mediante la vía de señalización PAR2, aumentándose la cantidad de IEL en el intestino delgado. El exceso de activación de PAR-2 puede inducir la expresión de otros genes relacionados con la patogénesis de la EC y puede afectar a la secreción de iones, permeabilidad o motilidad intestinal (Caminero y Verdu, 2019).

Se ha demostrado, que tanto la infección vírica por reovirus como por *Pseudomonas aeruginosa* producen la pérdida de tolerancia oral al gluten, el aumento de la permeabilidad intestinal y contribuyen al daño epitelial generado en la mucosa intestinal, permitiendo establecerse las bases del desarrollo de la enfermedad celíaca (Figura 4) (Caputo *et al.*, 2010; Bouziat *et al.*, 2017; Caio *et al.*, 2019; Caminero y Verdu, 2019).

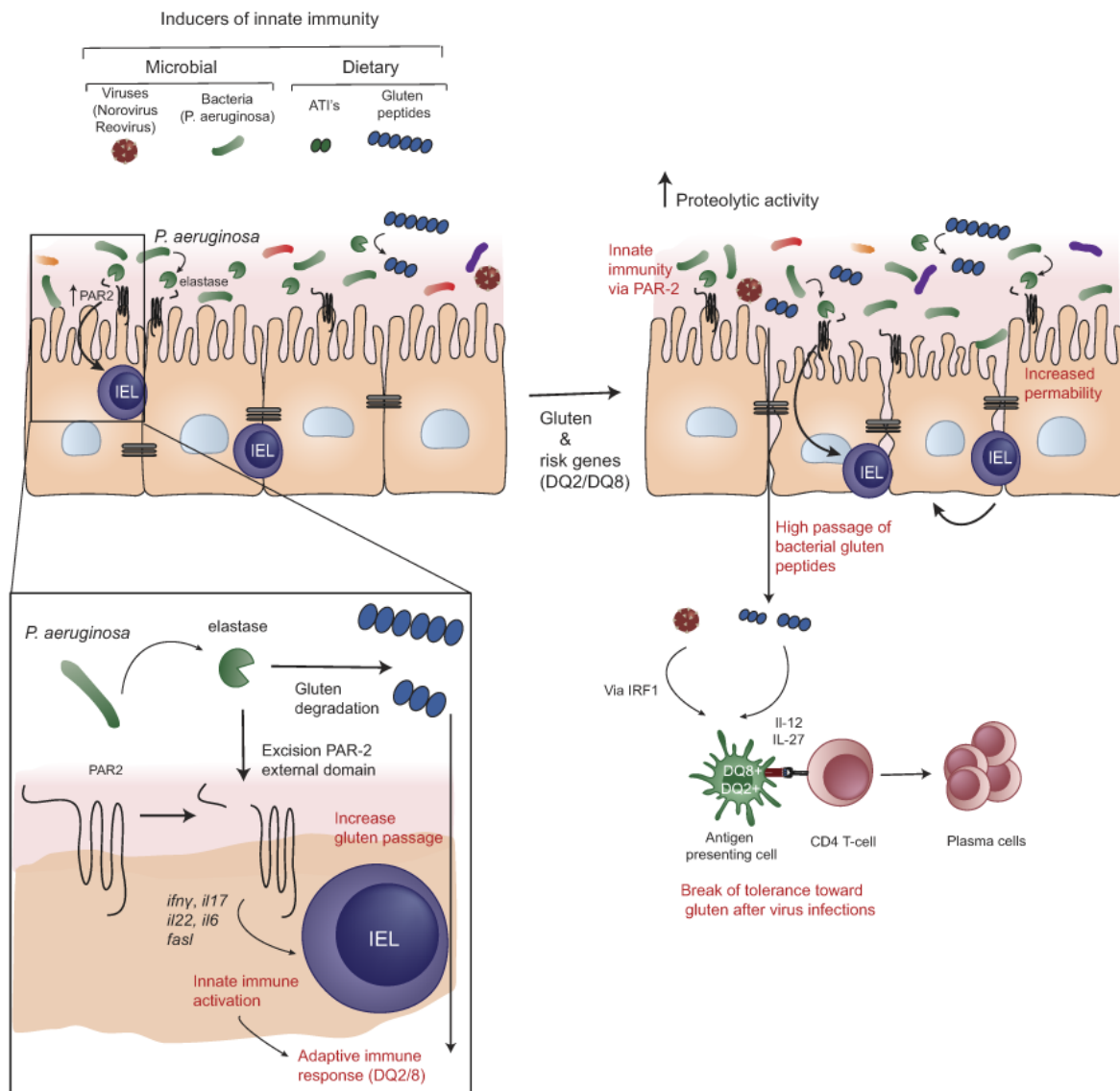


FIGURA 4: Representación esquemática obtenida de (Caminero y Verdu, 2019). Representa los mecanismos descritos previamente de cómo los microorganismos y virus pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad celíaca. *P. aeruginosa* produce una elastasa que es capaz de degradar el gluten, produciendo péptidos aún más inmunogénicos y de inducir la respuesta del sistema inmune mediante el receptor PAR-2 (receptor 2 activado por proteasa) hacia dichos péptidos en la lámina propia. Esta elastasa también estimula la síntesis de citoquinas proinflamatorias e induce el incremento del número de IEL. Por otra parte, la infección por reovirus mediante la vía IRF-1 y mediante la síntesis de IL-12 (interleucina-12) también induce el incremento de permeabilidad intestinal. Todo ello sumado a un genotipo predisponente, induce el desarrollo de la enfermedad celíaca.

7.3 IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA EN EL METABOLISMO DEL GLUTEN E INMUNOGENICIDAD

Como se ha informado previamente, ciertos grupos de la microbiota intestinal (como bacterias comensales o incluso patógenos oportunistas) pueden hidrolizar los péptidos de gluten resultantes de la digestión enzimática humana y modificar así su inmunogenicidad (Caminero *et al.*, 2015, 2016).

Se ha demostrado que *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno oportunista del intestino grueso *Staphylococcus* y ciertas especies de *Lactobacillus* son capaces de participar en la degradación de los péptidos del gluten (Caminero *et al.*, 2016).

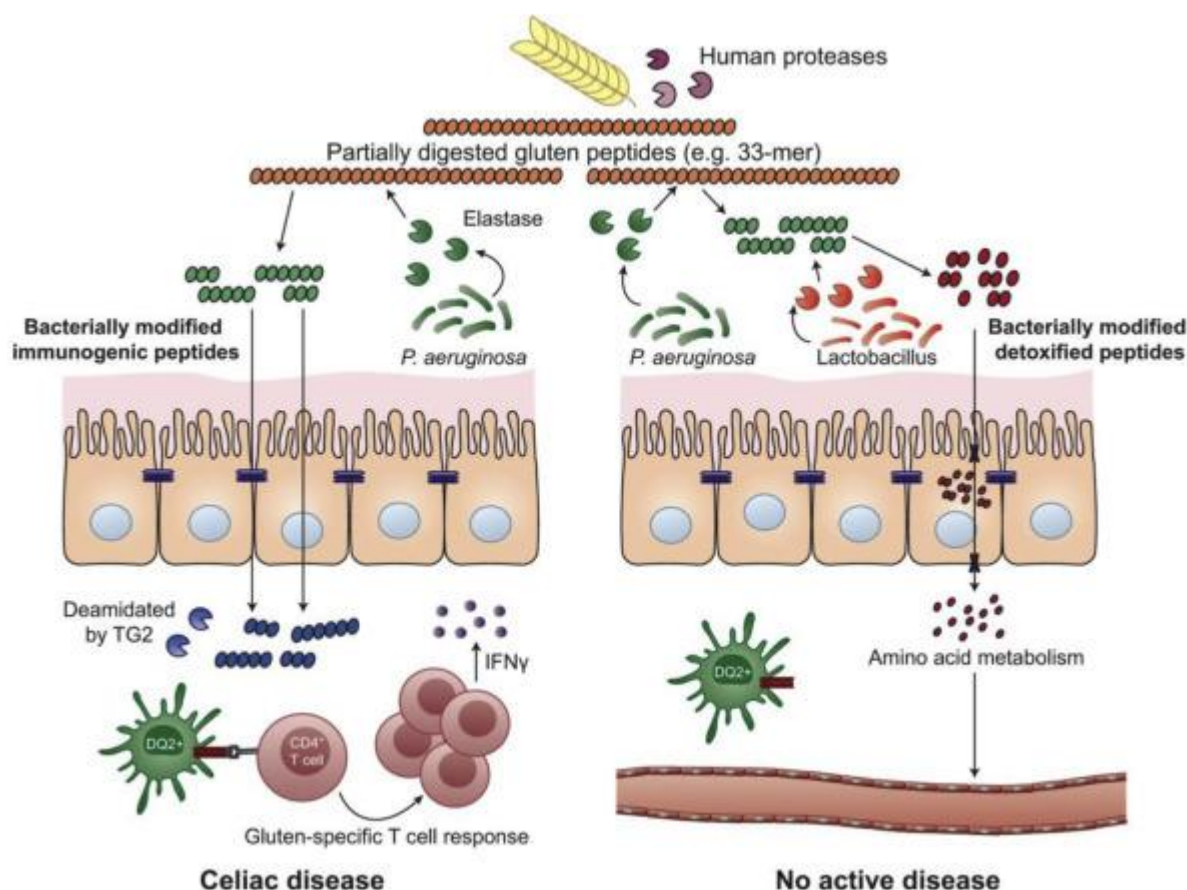


Figura 5: Obtenida de (Caminero *et al.*, 2016). La figura representa esquemáticamente el efecto que ejercen bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* o ciertas cepas de *Lactobacillus* sobre la digestión de los residuos de gliadina generados de la digestión del gluten por proteasas humanas.

Los resultados del estudio de (Caminero *et al.*, 2016), que se observan representados esquemáticamente en la Figura 5, demuestran que los péptidos resultantes de la degradación del gluten ejercida por *P. aeruginosa* son muy inmunogénicos para los pacientes celíacos, pues



son capaces de atravesar con facilidad la barrera epitelial, por lo que son más fácilmente reconocidos por las APCs y linfocitos T CD4+. Observaron que la elastasa de *P. aeruginosa*, implicada en la ruptura de tolerancia oral al gluten, también está implicada en la degradación del gluten. Estos péptidos inmunogénicos producidos por *Pseudomonas* pueden ser desintoxicados por especies de *Lactobacillus*, que producen péptidos más pequeños, prácticamente no inmunogénicos (Caminero *et al.*, 2016).

Por tanto, queda demostrado que la composición de la microbiota puede influir sobre la propia digestión del gluten y sobre la inmunogenicidad de los péptidos de gliadina.

7.4 GENÓMICA Y SECUENCIACIÓN:

Los avances y el desarrollo de las diferentes técnicas de secuenciación han permitido el estudio de la comunidad microbiana (microbiota) de una muestra, y de su microbioma (conjunto de los genes pertenecientes a la microbiota) por tanto, han permitido determinar qué microorganismos habitan en los humanos (Tojo *et al.*, 2014; Johnson *et al.*, 2019; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).

Hay varios métodos de secuenciación del genoma bacteriano (Malla *et al.*, 2019), como el estudio de los metabolitos microbianos y su función en el huésped (metabolómica) o la transcriptómica, es decir, el estudio del transcriptoma (ARN transcrito y qué ARNs se expresan activamente) (Bikel *et al.*, 2015; Jandhyala *et al.*, 2015; Aguiar-Pulido *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).

Sin embargo, los métodos más empleados son los métodos metagenómicos, que estudian el genoma de las bacterias de la muestra y que permiten conocer las interacciones huésped-patógenos (Bikel *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).

Estos métodos se basan en la secuenciación del gen de ARNr 16S (ARN ribosómico 16S) o “shotgun sequencing” (secuenciación de escopeta) para bacterias y de la región del espaciador transcrito interno (ITS) en hongos (Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020). Todas estas técnicas permiten estudiar los genomas microbianos de una muestra microbiana e identificar los taxones presentes en ella y su abundancia relativa (Aguiar-Pulido *et al.*, 2016; Ranjan *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).



Las secuencias amplificadas (tanto en el caso de la secuenciación del gen de RNAr 16S como en la técnica de secuenciación de escopeta) se agrupan según su similitud en unidades taxonómicas operativas (OTU) (Bikel *et al.*, 2015; Johnson *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020). Las secuencias se comparan con bases de datos de referencia, y si el grado de identidad es del 97%, se pueden considerar que dichas secuencias pertenecen a la misma especie, aunque hay que tener en cuenta que se ha podido producir algún error en el proceso de amplificación y que muchas cepas de bacterias de la mismas especie pueden ser muy diferentes entre sí (Bikel *et al.*, 2015; Johnson *et al.*, 2019).

7.4.1 SECUENCIACIÓN DEL ARNr 16S:

Es un método de secuenciación basada en amplicones, que consiste en comparar las secuencias amplificadas de ADN que codifican para la subunidad 16S del ARNr con las secuencias equivalentes, pertenecientes a otras bacterias, de una base de datos refencia (Bikel *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2019). El gen tiene cerca de 1500 pb y posee 9 regiones variables que permiten diferenciar e identificar los taxones de una muestra microbiana hasta nivel de género, raramente a nivel de especie. Es el marcador genético bacteriano más analizado por su rapidez y relativa eficacia. Es la técnica más empleada para el análisis de la composición de una muestra microbiana (Bikel *et al.*, 2015; Ranjan *et al.*, 2016; Johnson *et al.*, 2019; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).

7.4.2 SHOTGUN SEQUENCING y WHOLE GENOME SEQUENCING (WGS):

A diferencia de la secuenciación del ARNr 16S, la secuenciación de escopeta (*shotgun sequencing*) es un tipo de análisis no dirigido en el que se secuencian cadenas de ADN aleatorias obtenidas tras fracturar secuencias de DNA largas (Bikel *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2019; Galloway-Peña y Hanson, 2020).

El desarrollo de la secuenciación de escopeta ha permitido el desarrollo de técnicas de secuenciación del genoma completo (WGS), muy detalladas y con más cobertura de análisis que la secuenciación “shotgun” básica (pues secuencian el genoma entero) y permite detectar hasta nivel de especie con mayor precisión (Bikel *et al.*, 2015; Jandhyala *et al.*, 2015; Ranjan *et al.*, 2016; Johnson *et al.*, 2019; Malla *et al.*, 2019).

Para poder obtener una visión más completa y global del perfil de la comunidad pueden realizarse varios tipos de análisis, como un análisis transcriptómico y uno metagenómico, para



obtener información tanto de la taxonomía como de los genes que expresa la microbiota en el huésped (Bikel *et al.*, 2015; Aguiar-Pulido *et al.*, 2016).

La mayoría de las muestras microbianas analizadas pertenecen a muestras fecales, aunque la microbiota analizada en dichas muestras está correlacionada con la microbiota que habita en el intestino delgado. No obstante, hay que tener en cuenta que la enfermedad celíaca afecta principalmente al intestino delgado, y las muestras fecales pertenecen a bacterias de todo el tracto digestivo, pero mayoritariamente del intestino grueso (Bikel *et al.*, 2015; Ranjan *et al.*, 2016; Cristofori *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2019).

A pesar de las diferencias en las técnicas empleadas para el análisis de muestras microbianas, ambas permiten, como se ha informado previamente, estudiar y conocer la composición microbiana de pacientes sanos o de pacientes con ciertas enfermedades, así como la caracterización de una firma microbiana asociada a dichas enfermedades (Tojo *et al.*, 2014; Verdu *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2019).

7.5 CARACTERIZACIÓN DE LA DISBIOSIS ASOCIADA A LA ENFERMEDAD CELÍACA

Los avances en genómica y secuenciación han permitido determinar la microbiota asociada a ciertas enfermedades inflamatorias relacionadas con el tracto gastrointestinal, como en el caso de la enfermedad inflamatoria intestinal o el cáncer colo-rectal, enfermedades en las que se ha llegado a determinar su firma microbiana característica.

7.5.1 FIRMA MICROBIANA ASOCIADA A LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL (EII):

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es el término que se emplea para agrupar a dos trastornos inflamatorios crónicos que afectan al tracto intestinal: la enfermedad de Crohn (afecta al intestino delgado y parte inicial del grueso) y la colitis ulcerosa (afecta principalmente al colon (intestino grueso)) (Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Wehkamp *et al.*, 2016; Franzosa *et al.*, 2019; Schirmer *et al.*, 2019).

Al igual que otras enfermedades inflamatorias, presentan cierta predisposición genética y gran influencia de factores ambientales (Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Guan, 2019).



Los pacientes con EII presentan una inflamación intestinal causada por la respuesta anormal y agresiva de células inflamatorias inmunes y la síntesis de citoquinas proinflamatorias, lo que altera la función de barrera epitelial y de las criptas, (Forbes *et al.*, 2016; Wehkamp *et al.*, 2016; Guan, 2019; Schirmer *et al.*, 2019). En consecuencia, se produce una disbiosis microbiana intestinal, con pérdida de diversidad y aumento de microorganismos promotores de la inflamación, y cambios en las interacciones huésped-microbiota (Tojo *et al.*, 2014; Schirmer *et al.*, 2018; Franzosa *et al.*, 2019).

Los análisis metagenómicos han demostrado que los pacientes presentan una abundancia general de especies de bacteriófagos, Proteobacterias (*Enterobacteria*, *Pasteurellaceae* (sobre todo de especies patógenas como *E. coli*, o bacterias del género *Klebsiella* y *Shigella*)), *Firmicutes* (*Lactobacillus*) y *Fusobacteria* y una disminución de *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Clostridium* y de organismos comensales protectores del epitelio y menor proporción fúngica *Ascomycota/Basidiomycota* (Forbes *et al.*, 2016; Schirmer *et al.*, 2018; Waldschmitt *et al.*, 2018; Rinninella *et al.*, 2019; Pecora *et al.*, 2020). Sin embargo, los resultados pueden no ser concluyentes puesto que los análisis consisten en el estudio del RNA de muestras fecales (Schirmer *et al.*, 2018).

Se puede discriminar entre enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa por la existencia de una firma microbiana característica. La abundancia de bacterias de *Faecalibacterium* y otros géneros de *Clostridium* es característica de colitis ulcerosa pero no de enfermedad de Crohn, mientras que la abundancia de *Fusobacterium*, *Collinsella* y *Escherichia* y la menor abundancia de *Faecalibacterium* y *Ruminococcus* es típica de pacientes con enfermedad de Crohn (Pascal *et al.*, 2017; Waldschmitt *et al.*, 2018).

7.5.2 FIRMA MICROBIANA ASOCIADA AL CÁNCER COLO-RECTAL:

El cáncer colorrectal (CRC) es uno de los cánceres más comunes y con mayor mortalidad en la población (Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Wong y Yu, 2019). Previamente al desarrollo de CRC, aparecen pólipos benignos, que malignifican en adenomas (primero como carcinoma intramuscular y después como adenomas polipoides), y estos, años después, en tumores. Algunos pacientes, presentan previamente al CRC enfermedad de Crohn (Tilg *et al.*, 2018; Wong y Yu, 2019; Yachida *et al.*, 2019).



La producción del tumor se debe a causas genéticas y ambientales, siendo el papel de la microbiota muy importante en su desarrollo (Wong y Yu, 2019; Yachida *et al.*, 2019).

Los análisis de secuenciación de RNAr (RNA ribosómico) han determinado que los pacientes con CRC presentan una abundancia de taxones pro-carcinógenos y pro-inflamatorios como *Proteobacteria* (*Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*), en estadios iniciales (poliadenoma), o *Bacteroidetes* (*Bacteroides* (*B. fragilis*), *Porphyromonas* o *Prevotella*), *Firmicutes* (*Enterococcus faecalis* y *Streptococcus gallolyticus*), y, primariamente, *Fusobacterium spp* y concretamente, *Fusobacterium nucleatum* en estadios avanzados o muy avanzados (Tojo *et al.*, 2014; Brennan y Garrett, 2016; Tilg *et al.*, 2018; Rinninella *et al.*, 2019; Wong y Yu, 2019; Yachida *et al.*, 2019; Mori y Pasca, 2021).

También se ha detectado una reducción de la diversidad de *Clostridium* (Tojo *et al.*, 2014) y de especies de *Faecalibacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (Mori and Pasca., 2021) y la alteración de los perfiles vírico y fúngico, (Gagnière *et al.*, 2016; Rinninella *et al.*, 2019; Wong y Yu, 2019; Yachida *et al.*, 2019), con una reducción de la diversidad fúngica (y abundancia de hongos patógenos como *Candida* y *Trichoderma*) y una mayor abundancia de bacteriófagos virulentos (Mori and Pasca., 2021).

Esta microbiota puede inducir producción de citoquinas y procesos inflamatorios y la producción de genotoxinas que permiten a las bacterias adherirse al epitelio intestinal e invadirlo. Estas toxinas pueden modular ciertas vías de señalización propias del huésped. También pueden sintetizar genotoxinas que provocan daño al DNA, lo que conlleva a la debilidad del epitelio y la activación del sistema inmune (activación de los PRRs (receptores de reconocimiento de patrones o antígenos microbianos) (Gagnière *et al.*, 2016; Wong y Yu, 2019).

Varios estudios han llegado a la conclusión de que se pueden emplear biomarcadores para detectar la presencia o la gravedad de una enfermedad. En el caso del CRC, los principales marcadores (que pueden considerarse como firma microbiana característica) son *Fusobacterium nucleatum* y/o *Clostridium symbiosum*, aunque también ciertas especies de *Streptococcus* y *Prevotella*, aunque pueden cambiar en función de la etapa de CRC (Villéger *et al.*, 2018; Wong y Yu, 2019; Mori y Pasca, 2021).



7.5.3 DISBIOSIS EN LA ENFERMEDAD CELÍACA:

El descubrimiento de una microbiota característica y de la firma microbiana asociada a enfermedades como el cáncer colo-rectal o la enfermedad inflamatoria intestinal, ha llevado a que en los últimos años, se estén realizando análisis para poder establecer la firma microbiana característica de la enfermedad celíaca.

Se ha demostrado que la exposición a antibióticos en las primeras etapas del desarrollo, el modo de nacimiento (cesárea o parto vaginal), el momento de introducción del gluten en la dieta, la lactancia materna, el desarrollo de ciertas enfermedades inflamatorias y, principalmente, la exposición a ciertas infecciones inflamatorias intestinales víricas o bacterianas (como se ha explicado previamente), pueden modificar la tolerancia oral al gluten, la permeabilidad intestinal, estimular la inmunogenicidad a los antígenos del gluten y producir disbiosis en la microbiota intestinal (Bouziat *et al.*, 2017; Girbovan *et al.*, 2017; Parzanese *et al.*, 2017; Tye-Din *et al.*, 2018; Cristofori *et al.*, 2018; Satitsuksanoa *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; Valitutti *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019; Serena *et al.*, 2019; Pecora *et al.*, 2020; Rubin y Crowe, 2020).

La disbiosis se ha demostrado que está relacionada con la pérdida de tolerancia al gluten en individuos predispuestos y con el desarrollo de la enfermedad celíaca (Di Biase *et al.*, 2021).

Se ha observado en diversos análisis de muestras fecales, que los pacientes celíacos parecen presentar una disminución de la abundancia y diversidad de especies de *Lactobacillus* (*Firmicutes*) y *Bifidobacterias* (*Actinobacteria*) y una mayor abundancia de proteobacterias (como *Neisseria* o enterobacterias como *Escherichia coli*), *Bacteroidetes* (*Bacteroides* y *Prevotella*), y ciertas especies de *Firmicutes* (*Staphylococcus* y *Streptococcus*) que los individuos sanos (Schippa *et al.*, 2010; Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; Girbovan *et al.*, 2017; Cristofori *et al.*, 2018; Caminero y Verdu, 2019; Serena *et al.*, 2019; Valitutti *et al.*, 2019; Pecora *et al.*, 2020; Di Biase *et al.*, 2021).

Aunque en la enfermedad celíaca se han detectado alteraciones en las poblaciones de la microbiota intestinal, no se ha caracterizado bien la población microbiana de los pacientes celíacos, por lo que hasta el momento, no se ha definido con precisión la firma microbiana característica de la enfermedad.



Ciertos estudios novedosos han demostrado, que además de los cambios microbianos anteriores, muchos de los pacientes celíacos presentan una menor abundancia de *Firmicutes* y una mayor abundancia de *Parabacteroides*, *Acinetobacter* (Proteobacterias), *Bacilli* (grupo de *Firmicutes*), *Fusobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Akkermasia* (*Verrucomicrobia*) (Di Biase *et al.*, 2021). Los análisis encontraron que la microbiota de pacientes celíacos estaban dominadas principalmente por Enterobacterias (casi el 87% del total bacteriano) y un subdominio de *Bacteroidetes* y *Streptococcus* (Di Biase *et al.*, 2021; Leonard *et al.*, 2021).

Por el contrario, se ha observado una disminución de la abundancia de *Streptococcus thermophilus*, *Faecalibacterium prausnitzii* y de cepas de *Porphyromonas* (Leonard *et al.*, 2021).

Sin embargo, a diferencia de los estudios previos, encontraron una menor abundancia relativa de *Bacteroides/Prevotella* que los controles sanos (no un aumento) (Di Biase *et al.*, 2021).

La disminución de la diversidad y abundancia de especies del género *Bacteroides* (como *B. vulgatus* o *B. uniformis*) deteriora la función inmunológica del huésped. *Bacteroides vulgatus* degrada el LPS (Lipopolisacárido bacteriano, un componente de la membrana externa de bacterias gram negativas que estimula la actividad del sistema inmune del huésped). *Bacteroides uniformis* inhibe la producción del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y estimula la síntesis de IL-10. Al encontrarse disminuidas, por tanto, se demuestra que los pacientes celíacos presentan un sistema inmune más debilitado (Leonard *et al.*, 2021).

Asimismo, los Lactobacilos y las Bifidobacterias tienen un papel importante en la degradación del gluten, pues producen péptidos del gluten menos inmunogénicos (Girbovan *et al.*, 2017; Pecora *et al.*, 2020; Leonard *et al.*, 2021) y disminuyen la síntesis de citoquinas proinflamatorias, por lo que actúan como agentes protectores, por ello, al estar disminuidos en diversidad y abundancia, no se pueden solucionar los problemas y daños producidos por la enfermedad celíaca (Valitutti *et al.*, 2019; Di Biase *et al.*, 2021).

A diferencia de lo ocurrido en otras enfermedades como EII o CRC, se está lejos de obtener una firma microbiana claramente asociada a la EC (Di Biase *et al.*, 2021), pues en muchos casos, los estudios analizan pocas muestras, lo que influye en la fiabilidad y representatividad del análisis. Al ser relativamente pocos los estudios fiables realizados hasta el momento, y al



tener pocas muestras analizadas, los resultados no son concluyentes pues no se puede generalizar. Además, en muchos casos los resultados se contradicen, pues para un mismo grupo bacteriano hay estudios que han encontrado un aumento de la diversidad, mientras que otros estudios han encontrado una disminución. Igualmente, muchos de los cambios en diversidad y abundancia de bacterias observados se han relacionado con otras patologías y pueden depender del tipo de EC del paciente (Di Biase *et al.*, 2021; Marasco *et al.*, 2021).

Por otra parte, las técnicas de análisis se basan en el análisis de las heces de los pacientes. La microbiota característica de la enfermedad celíaca pertenece al intestino delgado, mientras que la mayor parte de las bacterias analizadas en una muestra fecal pertenecen al intestino grueso, por lo que puede que los cambios observados no se correspondan exactamente a cambios asociados a la enfermedad celíaca sino sean de otras enfermedades asociadas al intestino (Aguiar-Pulido *et al.*, 2016; Tilg *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2019).

8. TRATAMIENTOS:

El único tratamiento eficaz que existe en la actualidad es el seguimiento de una dieta libre de gluten, aunque solo resuelve ciertos síntomas clínicos y restaura parcialmente la composición y diversidad de la microbiota beneficiosa (Actinobacterias, Enterobacterias, Staphilococcus) (Al-Bawardy *et al.*, 2017; Cristofori *et al.*, 2018; Kahaly *et al.*, 2018; Caio *et al.*, 2019; McAllister *et al.*, 2019). Este tratamiento puede no ser eficaz por el consumo involuntario o deliberado de gluten (Rubio-Tapia y Murray, 2007).

También se están desarrollando otras terapias basadas en la inhibición de los péptidos inmunogénicos o el empleo de probióticos con cepas bacterianas beneficiosas productoras de péptidos protectores (Caputo *et al.*, 2010; Girbovan *et al.*, 2017; Cristofori *et al.*, 2018; Serena *et al.*, 2019).

9. CONCLUSIÓN:

La EC es una enfermedad autoinmune en la que se produce daño en el epitelio y mucosa intestinal por una respuesta inmunológica al gluten ingerido en la dieta. Además de la predisposición genética, se necesita la modificación de otros factores ambientales para que se desarrolle dicha enfermedad.



Además de la edad o los hábitos de vida, los principales procesos relacionados con el desarrollo de la enfermedad celíaca son la alteración de la composición y funcionamiento de la microbiota intestinal (disbiosis), y la pérdida de tolerancia oral al gluten (causada por infecciones víricas y bacterianas), que son el primer paso para el desarrollo de la enfermedad.

La microbiota tiene gran importancia en el desarrollo de muchas enfermedades inmunes o inflamatorias relacionadas con el intestino, como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) o el cáncer colo-rectal (CRC), por lo que en los últimos años se ha estudiado y establecido la firma microbiana asociada a ambas enfermedades, es decir qué alteración de la microbiota se produce y cuáles son los cambios en la composición, diversidad y abundancia asociados a dichas enfermedades.

El estudio de la firma microbiana puede emplearse como marcador de diagnóstico de la enfermedad y puede ser importante para conocer si se está desarrollando la enfermedad en el paciente y en qué estado se encuentra.

Por ello, se ha intentado establecer la firma microbiana para la enfermedad celíaca. Sin embargo, aunque se han observado alteraciones en la composición de la microbiota (disbiosis) de pacientes celíacos, como el aumento de ciertas cepas de bacterias enteropatógenas y la disminución de bacterias beneficiosas comensales implicadas en muchas funciones fisiológicas del huésped, como en la digestión del gluten, todavía se está lejos de establecer una firma microbiana definitiva asociada a la EC.



10. REFERENCIAS:

Aguiar-Pulido, V., Huang, W., Suarez-Ulloa, V., Cickovski, T., Mathee, K. y Narasimhan, G. (2016) "Metagenomics, Metatranscriptomics, and Metabolomics Approaches for Microbiome Analysis", *Evolutionary Bioinformatics Online*, 12(S1), pp. 5-16.

Al-Bawardy, B., Codipilly, D. C., Rubio-Tapia, A., Bruining, D. H., Hansel, S. L. y Murray, J. A. (2017) "Celiac disease: a clinical review", *Abdominal Radiology (NY)*, 42(2), pp. 351-360.

Bao, F., Green, P. H. y Bhagat, G. (2012) "An update on celiac disease histopathology and the road ahead", *Archives of pathology & laboratory medicine*, 136(7), pp. 735-745.

Di Biase, A. R., Marasco, G., Ravaioli, F., Dajti, E., Colecchia, L., Righi, B., D'Amico, V., Festi, D., Iughetti, L. y Colecchia, A. (2021) "Gut microbiota signatures and clinical manifestations in celiac disease children at onset: a pilot study", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 36(2), pp. 446-454.

Bikel, S., Valdez-Lara, A., Cornejo-Granados, F., Rico, K., Canizales-Quinteros, S., Soberón, X., Del Pozo-Yauner, L. y Ochoa-Leyva, A. (2015) "Combining metagenomics, metatranscriptomics and viromics to explore novel microbial interactions: Towards a systems-level understanding of human microbiome", *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 13, pp. 390-401.

Bouziat, R., Biering, S. B., Kouame, E., Sangani, K. A., Kang, S., Ernest, J. D., Varma, M., Brown, J. J., Urbanek, K., Dermody, T. S., Ng, A., Hinterleitner, R., Hwang, S. y Jabri, B. (2018) "Murine Norovirus infection induces TH1 inflammatory responses to dietary antigens", *Cell host & microbe*, 24(5), pp. 677-688.

Bouziat, R., Hinterleitner, R., Brown, J. J., Stencel-Baerenwald, J. E., Ikizler, M., Mayassi, T., Meisel, M., Kim, S. M., Discepolo, V., Puijssers, A. J., Ernest, J. D., Iskarpatyoti, J. A., Costes, L. M. M., Lawrence, I., Palanski, B. A., Varma, M., Zurenski, M. A., Khomandiak, S., McAllister, N., Aravamudhan, P., Boehme, K. W., Hu, F., Samsom, J. N., Reinecker, H.-C., Kupfer, S. S., Guandalini, S., Semrad, C. E., Abadie, V., Khosla, C., Barreiro, L. B., Xavier, R. J., Ng, A., Dermody, T. S. y Jabri, B. (2017) "Reovirus infection triggers inflammatory responses to dietary antigens and development of celiac disease", *Science*, 356(6333), pp. 44-50.

Brennan, C. A. y Garrett, W. S. (2016) "Gut Microbiota, Inflammation, and Colorectal Cancer", *Annual Review of Microbiology*, 70, pp. 395-411.

Brown, J. J., Jabri, B. y Dermody, T. S. (2018) "A viral trigger for celiac disease", *PLoS Pathogens*, 14(9), 1007181.

Brown, J. J., Short, S. P., Stencel-Baerenwald, J., Urbanek, K., Puijssers, A. J., McAllister, N., Ikizler, M., Taylor, G., Aravamudhan, P., Khomandiak, S., Jabri, B., Williams, C. S. y Dermody, T. S. (2018) "Reovirus-Induced Apoptosis in the Intestine Limits Establishment of Enteric Infection", *Journal of Virology*, 92(10), 02062-17.

Caio, G., Volta, U., Sapone, A., Leffler, D. A., De Giorgio, R., Catassi, C. y Fasano, A. (2019) "Celiac disease: A comprehensive current review", *BMC Medicine*, 142.

Caminero, A., Galipeau, H. J., McCarville, J. L., Johnston, C. W., Bernier, S. P., Russell, A. K., Jury, J., Herran, A. R., Casqueiro, J., Tye-Din, J. A., Surette, M. G., Magarvey, N. A., Schuppan, D. y Verdu, E. F. (2016) "Duodenal Bacteria From Patients With Celiac Disease and Healthy Subjects Distinctly Affect Gluten Breakdown and Immunogenicity", *Gastroenterology*, 151(4), pp. 670-683.

Caminero, A., Nistal, E., Herrán, A. R., Pérez-Andrés, J., Ferrero, M. A., Vaquero Ayala, L., Vivas, S., Ruiz de Morales, J. M. G., Albillos, S. M. y Casqueiro, F. J. (2015) "Differences in gluten metabolism among healthy volunteers, coeliac disease patients and first-degree relatives", *British Journal of Nutrition*, 114(8), pp. 1157-1167.

Caminero, A. y Verdu, E. F. (2019) "Celiac disease: Should we care about microbes?", *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 317(2), pp. G161-G170.



Caputo, I., Lepretti, M., Martucciello, S. y Esposito, C. (2010) "Enzymatic strategies to detoxify gluten: Implications for celiac disease", *Enzyme Research*, 2010, 174354.

Cichewicz, A. B., Mearns, E. S., Taylor, A., Boulanger, T., Gerber, M., Leffler, D. A., Drahos, J., Sanders, D. S., Thomas Craig, K. J. y Lebwohl, B. (2019) "Diagnosis and Treatment Patterns in Celiac Disease", *Digestive Diseases and Sciences*, 64(8), pp. 2095-2106.

Cristofori, F., Indrio, F., Miniello, V. L., De Angelis, M. y Francavilla, R. (2018) "Probiotics in celiac disease", *Nutrients*, 10(12), 1824.

El-Gabalawy, H., Guenther, L. C. y Bernstein, C. N. (2010) "Epidemiology of immune-mediated inflammatory diseases: Incidence, prevalence, natural history, and comorbidities", *Journal of Rheumatology Supplement*, 85, pp. 2-10.

Fernández-Pérez, S., Pérez-Andrés, J., Gutiérrez, S., Navasa, N., Martínez-Blanco, H., Ferrero, M. Á., Vivas, S., Vaquero, L., Iglesias, C., Casqueiro, J. y Rodríguez-Aparicio, L. B. (2020) "The Human Digestive Tract Is Capable of Degrading Gluten from Birth", *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7696.

Forbes, J. D., Van Domselaar, G. y Bernstein, C. N. (2016) "The gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases", *Frontiers in Microbiology*, 7, 1081.

Franzosa, E. A., Sirota-Madi, A., Avila-Pacheco, J., Fornelos, N., Haiser, H. J., Reinker, S., Vatanen, T., Hall, A. B., Mallick, H., McIver, L. J., Sauk, J. S., Wilson, R. G., Stevens, B. W., Scott, J. M., Pierce, K., Deik, A. A., Bullock, K., Imhann, F., Porter, J. A., Zhernakova, A., Fu, J., Weersma, R. K., Wijmenga, C., Clish, C. B., Vlamakis, H., Huttenhower, C. y Xavier, R. J. (2019) "Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease", *Nature Microbiology*, 4(2), pp. 293-305.

Gagnière, J., Raisch, J., Veziat, J., Barnich, N., Bonnet, R., Buc, E., Bringer, M. A., Pezet, D. y Bonnet, M. (2016) "Gut microbiota imbalance and colorectal cancer", *World Journal of Gastroenterology*, 22(2), pp. 501-518.

Galloway-Peña, J. y Hanson, B. (2020) "Tools for Analysis of the Microbiome", *Digestive Diseases and Sciences*, 65(3), pp. 674-685.

Girbovan, A., Sur, G., Samasca, G. y Lupan, I. (2017) "Dysbiosis a risk factor for celiac disease", *Medical Microbiology and Immunology*, 206(2), pp. 83-91.

Guan, Q. (2019) "A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease", *Journal of Immunology Research*, 2019, 7247238.

Hardy, M. Y. y Tye-Din, J. A. (2016) "Coeliac disease: a unique model for investigating broken tolerance in autoimmunity", *Clinical & Translational Immunology*, 5(11), 112.

Herrán, A. R., Pérez-Andrés, J., Caminero, A., Nistal, E., Vivas, S., María Ruiz de Morales, J. y Casqueiro, J. (2017) "Gluten-degrading bacteria are present in the human small intestine of healthy volunteers and celiac patients", *Research in microbiology*, 168(7), pp. 673-684.

Hmida, N. B., Ahmed, M. Ben, Moussa, A., Rejeb, M. Ben, Said, Y., Kourda, N., Meresse, B., Abdeladhim, M., Louzir, H. y Cerf-Bensussan, N. (2012) "Impaired Control of Effector T Cells by Regulatory T Cells: A Clue to Loss of Oral Tolerance and Autoimmunity in Celiac Disease?", *American Journal of Gastroenterology*, 107(4), pp. 604-611.

Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M. y Reddy, D. N. (2015) "Role of the normal gut microbiota", *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), pp. 8787-8803.

Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B.-Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E. y Weinstock, G. M. (2019) "Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis", *Nature Communications*, 10(1), 5029.



- Kahaly, G. J., Frommer, L. y Schuppan, D. (2018) "Celiac disease and glandular autoimmunity", *Nutrients*, 10(7), 814.
- Leonard, M. M., Valitutti, F., Karathia, H., Pujolassos, M., Kenyon, V., Fanelli, B., Troisi, J., Subramanian, P., Camhi, S., Colucci, A., Serena, G., Cucchiara, S., Trovato, C. M., Malamisura, B., Francavilla, R., Elli, L., Hasan, N. A., Zomorodi, A. R., Colwell, R., Fasano, A. y CD-GEMM Team. (2021) "Microbiome signatures of progression toward celiac disease onset in at-risk children in a longitudinal prospective cohort study", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(29), 2020322118.
- Lerner, A., Torsten, M. y Wusterhausen, P. (2019) "Autoimmunity in celiac disease: Extra-intestinal manifestations", *Autoimmunity Reviews*, 18(3), pp. 241-246.
- Malla, M. A., Dubey, A., Kumar, A., Yadav, S., Hashem, A. y Allah, E. F. A. (2019) "Exploring the human microbiome: The potential future role of next-generation sequencing in disease diagnosis and treatment", *Frontiers in Immunology*, 9, 2868.
- Marasco, G., Di Biase, A. R. y Colecchia, A. (2021) "Microbial Signatures in Celiac Disease: Still Far From a Final Answer", *Gastroenterology*, 161(1), pp. 358-359. doi:10.1053/j.gastro.2020.10.059.
- McAllister, B. P., Williams, E. y Clarke, K. (2019) "A Comprehensive Review of Celiac Disease/Gluten-Sensitive Enteropathies", *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 57(2), pp. 226-243.
- Meresse, B., Ripoché, J., Heyman, M. y Cerf-Bensussan, N. (2009) "Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis", *Mucosal Immunology*, 2(1), pp. 8-23.
- Mori, G. y Pasca, M. R. (2021) "Gut microbial signatures in sporadic and hereditary colorectal cancer", *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1312.
- Nagao-Kitamoto, H., Kitamoto, S., Kuffa, P. y Kamada, N. (2016) "Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases", *Intestinal Research*, 14(2), pp. 127-138.
- Oikarinen, M., Puustinen, L., Lehtonen, J., Hakola, L., Simell, S., Toppari, J., Ilonen, J., Veijola, R., Virtanen, S. M., Knip, M. y Hyöty, H. (2021) "Enterovirus Infections Are Associated With the Development of Celiac Disease in a Birth Cohort Study", *Frontiers in Immunology*, 11, 604529.
- Pabst, O. y Mowat, A. M. (2012) "Oral tolerance to food protein", *Mucosal Immunology*, 5(3), pp. 232-239.
- Parzanese, I., Qehajaj, D., Patrino, F., Aralica, M., Chiriva-Internati, M., Stifter, S., Elli, L. y Grizzi, F. (2017) "Celiac disease: From pathophysiology to treatment", *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 8(2), pp. 27-38.
- Pascal, V., Pozuelo, M., Borruel, N., Casellas, F., Campos, D., Santiago, A., Martínez, X., Varela, E., Sarrabayrouse, G., Machiels, K., Vermeire, S., Sokol, H., Guarner, F. y Manichanh, C. (2017) "A microbial signature for Crohn's disease", *Gut*, 66(5), pp. 813-822.
- Pecora, F., Persico, F., Gismondi, P., Fornaroli, F., Iuliano, S., De'Angelis, G. L. y Esposito, S. (2020) "Gut Microbiota in Celiac Disease: Is There Any Role for Probiotics?", *Frontiers in Immunology*, 11, 957.
- Ranjan, R., Rani, A., Metwally, A., McGee, H. S. y Perkins, D. L. (2016) "Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469(4), pp. 967-977.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Migliano, G. A. D., Gasbarrini, A. y Mele, M. C. (2019) "What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases", *Microorganisms*, 7(1), 14.
- Rubin, J. E. y Crowe, S. E. (2020) "Celiac disease", *Annals of Internal Medicine*, 172(1), pp. ITC1-ITC16.



- Rubio-Tapia, A. y Murray, J. A. (2007) "The Liver and Celiac Disease", *Hepatology*, 46(5), pp. 1650-1658.
- Satitsuksanoa, P., Jansen, K., Głobińska, A., Veen, W. van de y Akdis, M. (2018) "Regulatory Immune Mechanisms in Tolerance to Food Allergy", *Frontiers in Immunology*, 9, 2939.
- Schippa, S., Iebba, V., Barbato, M., Nardo, G. Di, Totino, V., Checchi, M. P., Longhi, C., Maiella, G., Cucchiara, S. y Conte, M. P. (2010) "A distinctive «microbial signature» in celiac pediatric patients", *BMC Microbiology*, 10, 175.
- Schirmer, M., Franzosa, E. A., Lloyd-Price, J., McIver, L. J., Schwager, R., Poon, T. W., Ananthkrishnan, A. N., Andrews, E., Barron, G., Lake, K., Prasad, M., Sauk, J., Stevens, B., Wilson, R. G., Braun, J., Denson, L. A., Kugathasan, S., McGovern, D. P. B., Vlamakis, H., Xavier, R. J. y Huttenhower, C. (2018) "Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome", *Nature Microbiology*, 3(3), pp. 337-346.
- Schirmer, M., Garner, A., Vlamakis, H. y Xavier, R. J. (2019) "Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease", *Nature Reviews Microbiology*, 17(8), pp. 497-511.
- Serena, G., Lima, R. y Fasano, A. (2019) "Genetic and Environmental Contributors for Celiac Disease", *Current Allergy and Asthma Reports*, 19(9), 40.
- Tilg, H., Adolph, T. E., Gerner, R. R. y Moschen, A. R. (2018) "The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer", *Cancer Cell*, 33(6), pp. 954-964.
- Tojo, R., Suárez, A., Clemente, M. G., De Los Reyes-Gavilán, C. G., Margolles, A., Gueimonde, M. y Ruas-Madiedo, P. (2014) "Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis", *World Journal of Gastroenterology*, 20(41), pp. 15163-15176.
- Tye-Din, J. A., Galipeau, H. J. y Agardh, D. (2018) "Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies", *Frontiers in Pediatrics*, 6, 350.
- Valitutti, F., Cucchiara, S. y Fasano, A. (2019) "Celiac disease and the microbiome", *Nutrients*, 11(10), 2403.
- Verdu, E. F., Galipeau, H. J. y Jabri, B. (2015) "Novel players in coeliac disease pathogenesis: Role of the gut microbiota", *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 12(9), pp. 497-506.
- Villéger, R., Lopès, A., Veziant, J., Gagnière, J., Barnich, N., Billard, E., Boucher, D. y Bonnet, M. (2018) "Microbial markers in colorectal cancer detection and/or prognosis", *World Journal of Gastroenterology*, 24(22), pp. 2327-2347.
- Waldschmitt, N., Metwaly, A., Fischer, S. y Haller, D. (2018) "Microbial Signatures as a Predictive Tool in IBD - Pearls and Pitfalls", *Inflammatory Bowel Diseases*, 24(6), pp. 1123-1132. doi:10.1093/ibd/izy059.
- Wehkamp, J., Götz, M., Herrlinger, K., Steurer, W. y Stange, E. F. (2016) "Inflammatory Bowel Disease: Crohn's disease and ulcerative colitis", *Deutsches Arzteblatt International*, 113(5), pp. 72-82.
- Weitz, J. C. V y Pisano, R. O. (2011) "Clasificación de Marsh", *Gastroenterología Latinoamericana*, 22(3), pp. 268-270.
- Wong, S. H. y Yu, J. (2019) "Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications", *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 16(11), pp. 690-704.
- Yachida, S., Mizutani, S., Shiroma, H., Shiba, S., Nakajima, T., Sakamoto, T., Watanabe, H., Masuda, K., Nishimoto, Y., Kubo, M., Hosoda, F., Rokutan, H., Matsumoto, M., Takamaru, H., Yamada, M., Matsuda, T., Iwasaki, M., Yamaji, T., Yachida, T., Soga, T., Kurokawa, K., Toyoda, A., Ogura, Y., Hayashi, T., Hatakeyama, M., Nakagama, H., Saito, Y., Fukuda, S., Shibata, T. y Yamada, T. (2019) "Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer", *Nature Medicine*, 25, pp. 968-976.