



---

# AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LAS PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL GLUTEN Y EVOLUCIÓN DE LOS ALIMENTOS SIN GLUTEN

---

Editado por:

Eduardo Arranz, Fernando Fernández-Bañares,  
Cristina M. Rosell, Luis Rodrigo, Amado Salvador Peña.

# AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LAS PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON EL GLUTEN Y EVOLUCIÓN DE LOS ALIMENTOS SIN GLUTEN

E. Arranz, F. Fernández-Bañares, C. M. Rosell, L. Rodrigo y A.S. Peña.

Avances en el conocimiento de las patologías relacionadas con el gluten y evolución de los alimentos sin gluten  
Publicado y editado por la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC) 2018  
Diseño y maquetación: Cocomood Minds, S.L.  
ISBN: 978-84-697-3325-7

Este libro es una traducción del libro original:  
Advances in the Understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods E.  
Arranz, F. Fernández Bañares, C.M. Rosell, L. Rodrigo and A.S. Peña 1st edition. 2015 OmniaScience  
(Omnia Publisher SL) DOI: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.274> ISBN: 978-84-943418-2-3. Libro on line.  
Acceso desde: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/view/274/173>

Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma

## ÍNDICE DE AUTORES

### **ÁLVAREZ Juan B.**

Departamento de Genética, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes.  
Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba.  
Córdoba, España.

### **ARIAS RODRÍGUEZ Laura**

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina. Universidad de León.  
León, España.

### **ARMENTIA Alicia**

Servicio de Alergia. Hospital Universitario Río Hortega.  
Valladolid, España.

### **ARRANZ SANZ Eduardo**

Laboratorio de la Inmunología de las Mucosas. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).  
Valladolid, España.

---

### **BARRO LOSADA Francisco**

Instituto para la Agricultura Sostenible. Consejo de Investigación Nacional Español, (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Córdoba, España.

### **BERNARDO David**

Unidad de Gastroenterología. Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (ISS-IP). Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Madrid, España.

**BILBAO José Ramón**

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.  
Bizkaia, España

**BUSTAMANTE María Ángeles**

Departamento de Nutrición y Ciencia Alimentaria. Universidad del País Vasco (UPV-EHU).  
Álava, España.

---

**CAMINERO Alberto**

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University.  
Hamilton, Canadá.

**CARRASCO Anna**

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa.  
Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Terrassa, Barcelona, España.

**CASELLAS Francesc**

Unidad de Investigación del Sistema Digestivo, Hospital Universitari Vall d'Hebron Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Barcelona, España.

**CHIRDO Fernando G.**

Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos-IIFP (UNLPCONICET). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata.  
La Plata, Argentina.

---

**ESCUADERO-HERNÁNDEZ C.**

Laboratorio de Inmunología de la Mucosa. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).  
Valladolid, España.

**ESTEVE María**

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Terrassa, Barcelona, España.

---

**FARRÉ MASIP Carme**

Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital Universitari Sant Joan de Déu. University of Barcelona.

Esplugues de Llobregat, Barcelona, España.

**FERNÁNDEZ-BAÑARES Fernando**

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. Universidad de Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

Terrassa, Barcelona, España.

**FERNÁNDEZ-JIMÉNEZ Nora**

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.

Bizkaia, España.

---

**GARCÍA María Alejandra**

Universidad Nacional de La Plata (UNLP) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA).

La Plata, Argentina.

**GARROTE José Antonio**

Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega.

Valladolid, España.

**GIL-HUMANES Javier**

Departamento de Genética, Biología y Desarrollo Celular y Centro para Ingeniería del Genoma. Universidad de Minnesota.

Minneapolis, Minnesota, USA.

**GIMÉNEZ María J.**

Instituto para la Agricultura Sostenible. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Córdoba, España.

**GÓMEZ-PALLARES Manuel**

Área de Tecnología de Alimentos, Colegio de Ingeniería Agrícola (ETSIAA), Universidad de Valladolid.

Palencia, España.

---

**HERRERA-DE GUISE Claudia**

Unidad de Investigación del Sistema Digestivo, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Barcelona, España.

---

**KNIGHT Stella C.**

Antigen Presentation Research Group. Imperial College London. Northwick Park and St Mark's Campus.  
Harrow, Reino Unido.

---

**LUCENDO Alfredo J.**

Departamento de Gastroenterología. Hospital General de Tomelloso.  
Tomelloso, Ciudad Real. España.

---

**MARINÉ Meritxell**

Servicios de Gastroenterología y Medicina Interna, Hospital Universitari Mutua de Terrassa. University of Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).  
Terrassa, Barcelona, España.

**MATOS S. María Estela**

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.  
Caracas, Venezuela.

**MCCARVILLE Justin L.**

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University.  
Hamilton, Canadá.

**MEARIN María Luisa**

Unidad de Gastroenterología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Centro Médico de la Universidad de Leiden (LUMC).  
Leiden, Holanda.

**MENA M<sup>a</sup> Carmen**

Facilidad Departamento de Proteómica y Unidad del Gluten. Centro Nacional Español para la Biotecnología. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Madrid, España.

**MOLINA-INFANTE Javier**

Servicio de Gastroenterología. Hospital San Pedro de Alcántara.  
Cáceres, España.

**MONTORO HUGUET Miguel**

Departamento de Medicina. Universidad de Zaragoza. Jefe de la Unidad de Gastroenterología y Hepatología. Hospital San Jorge.  
Huesca, España.

---

**OLIVARES Marta**

Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA). Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Valencia, España.

**PALAZZO Juan P.**

Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio. Sidney Kimmel Medical College at Thomas Jefferson University.  
Philadelphia, EE.UU.

**PEÑA Amado Salvador**

Profesor Emérito, Centro Médico de la *Vrije Universiteit* (VUmc), Laboratorio de Inmunogenética, Departamento de Microbiología Médica y Control de Infecciones.  
Amsterdam, Holanda.

**PLAZA-IZURIETA Leticia**

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Instituto de Investigación BioCruces.  
Bizkaia, España.

**POLANCO Isabel**

Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Jefe del Servicio de Gastroenterología y de Nutrición Pediátrica, La Paz. Hospital de Niños de la Universidad Autónoma. La Paz.  
Madrid, España.

---

**RIBES-KONINCKX Carmen**

Jefe de la Unidad de Gastrohepatología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe.  
Valencia, España.

**RODRIGO Luis**

Profesor Emérito de Medicina. Universidad de Oviedo.  
Jefe del Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA).  
Oviedo, España.

**ROSELL Cristina M.**

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Valencia, España.

---

**SANTOLARIA-PIEDRAFITA Santos**

Unidad de Gastroenterología y Hepatología. Hospital San Jorge.  
Huesca, España.

**SANTOS Javier**

Departamento de Gastroenterología. Hospital Universitario Río Hortega.  
Valladolid, España.

**SANZ Yolanda**

Ecología Microbiana, Nutrición y Salud. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA). Consejo de Investigación Nacional Español (CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Valencia, España.

**SCIARINI Lorena S.**

Instituto de Ciencia Alimentaria y Tecnología (ICYTAC). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional de Córdoba (UNC).  
Córdoba, Argentina.

**SIMÓN Edurne**

Departamento de Nutrición y Ciencia Alimentaria. Universidad del País Vasco (UPV-EHU).  
Vitoria, España.

**SOUSA Carolina**

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.  
Sevilla, España.

---

**VAQUERO AYALA Luis**

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina. Universidad de León.

León, España.

**VERDU Elena F.**

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University;

Hamilton. Canadá.

**VIÑA Sonia Zulma**

Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET-La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Curso Bioquímica y Fitoquímica.

La Plata, Argentina.

**VIVAS ALEGRE Santiago**

Servicio de Gastroenterología. Hospital Universitario de León. Instituto de Biomedicina.

León, España.

---

# ÍNDICE

## **EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y DE LOS PROCESOS NO CELÍACOS RELACIONADOS CON EL GLUTEN.**

Amado Salvador Peña, Luis Rodrigo 18

## **SECCIÓN I: GENÉTICA, GENOMICA, INMUNOLOGÍA Y SU APLICACIÓN AL TRATAMIENTO.**

Eduardo Arranz 57

### **CAPÍTULO 1 | GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA. GENES HLA Y NO-HLA.**

Leticia Plaza-Izurietta, Nora Fernández-Jiménez, José Ramón Bilbao 61

### **CAPÍTULO 2 | MECANISMOS DE LA TOLERANCIA INTESTINAL A LAS PROTEÍNAS DE LA DIETA.**

David Bernardo, Stella C. Knight 81

### **CAPÍTULO 3 | PROTEÍNAS DE LOS CEREALES: PÉPTIDOS INMUNOESTIMULADORES Y TÓXICOS.**

Fernando G. Chirido, Eduardo Arranz 111

### **CAPÍTULO 4 | PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.**

Celia Escudero-Hernández, José Antonio Garrote, Eduardo Arranz 130

### **CAPÍTULO 5 | MICROBIOTA INTESTINAL Y ENFERMEDAD CELÍACA.**

Marta Olivares, Yolanda Sanz 156

### **CAPÍTULO 6 | TERAPIAS ADYUVANTES Y OPCIONES A LA DIETA SIN GLUTEN EN LA ENFERMEDAD CELÍACA.**

Justin L. Mc Carville, Alberto Caminero, Elena F, Verdu 180

**CAPÍTULO 7 | NUEVAS TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA.**

Fernando Fernández-Bañares, Carme Farré, Anna Carrasco, Meritxell Mariné, María Esteve 207

**CAPÍTULO 8 | LA BIOPSIA INTESTINAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA: ¿ES AÚN EL PATRÓN ORO?**

Juan P. Palazzo 222

**CAPÍTULO 9 | MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS: DIFERENCIAS ENTRE NIÑOS, ADOLESCENTES Y ADULTOS.**

María Luisa Mearin, Miguel Montoro-Huguet, Isabel Polanco, Carmen Ribes-Köninckx, Santos Santolaria 235

**CAPÍTULO 10 | MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES DE LA ENFERMEDAD CELÍACA Y TRASTORNOS ASOCIADOS.**

Alfredo J. Lucendo, Luis Rodrigo, A. Salvador Peña 276

**CAPÍTULO 11 | SEGUIMIENTO DEL PACIENTE CELÍACO: ¿ES LA RECUPERACIÓN DE LA MUCOSA UN OBJETIVO DEL TRATAMIENTO?**

Santiago Vivas, Laura Arias, Luis Vaquero 328

**CAPÍTULO 12 | CALIDAD DE VIDA Y TRASTORNOS PSICOLÓGICOS EN EL PACIENTE CELÍACO.**

Claudia Herrera de Guise, Francesc Casellas 342

**CAPÍTULO 13 | SENSIBILIDAD AL GLUTEN NO CELÍACA.**

Javier Molina-Infante, Santos Santolaria, Fernando Fernández-Bañares 356

<b>CAPÍTULO 14   EL TRIGO COMO ALÉRGENO: ASMA DE LOS PANADEROS, ALERGIA ALIMENTARIA Y AL TRIGO.</b> Alicia Armentia, Eduardo Arranz, José Antonio, Javier Santos	375
<b>CAPÍTULO 15   TAXONOMÍA DE LOS CEREALES: EL PAPEL DE LA DOMESTICACIÓN Y LA MEJORA GENÉTICA EN LA INTOLERANCIA AL GLUTEN.</b> María J. Giménez, Javier Gil-Humanes, Juan B. Álvarez, Francisco Barro	398
<b>CAPÍTULO 16   HERRAMIENTAS ANALÍTICAS PARA LA DETECCIÓN DE GLUTEN. POLÍTICAS Y REGULACIÓN.</b> M <sup>a</sup> . Carmen Mena, Carolina Sousa	425
<b>CAPÍTULO 17   PRODUCTOS DE PANADERÍA Y PASTA SIN GLUTEN.</b> Manuel Gómez, Lorena S. Sciarini	457
<b>CAPÍTULO 18   PRODUCTOS ALIMENTARIOS AUTÓCTONOS LIBRES DE GLUTEN (AMÉRICA DEL SUR Y OTROS PAÍSES).</b> María Alejandra García, Sonia Zulma Viña	490
<b>CAPÍTULO 19   BEBIDAS ALCOHÓLICAS SIN GLUTEN.</b> María Ángeles Bustamante, Edurne Simón	522
<b>CAPÍTULO 20   ASPECTOS NUTRICIONALES Y COMERCIALIZACIÓN DE ALIMENTOS SIN GLUTEN.</b> Cristina M. Rosell, María Estela Matos	546

## CAPÍTULO 3

### PROTEÍNAS DE LOS CEREALES: PÉPTIDOS INMUNOESTIMULADORES Y TÓXICOS.

Fernando G. Chirido<sup>1</sup>, Eduardo Arranz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos-IIFP. (UNLP-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología de las Mucosas. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Universidad de Valladolid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Valladolid, España.

[fchirido@biol.unlp.edu.ar](mailto:fchirido@biol.unlp.edu.ar)    [earranz@med.uva.es](mailto:earranz@med.uva.es)

Cómo citar este capítulo:

Chirido, FG, Arranz E. Las Proteínas de los Cereales: *Péptidos Inmunoestimuladores y Tóxicos*. En Arranz E, Fernández-Bañares F, Rosell CM, Rodrigo L, Peña AS, editores: *Avances en el Conocimiento de las Patologías Relacionadas con el Gluten y Evolución de los Alimentos sin Gluten*.

## Resumen

Las proteínas de almacenamiento de los granos de trigo son la base de una amplia variedad de productos alimenticios de elaboración casera e industrial. No obstante, esas proteínas son tóxicas para un grupo de individuos (pacientes con enfermedad celíaca EC). Las gliadinas y las gluteninas presentes en trigo, así como sus equivalentes en la cebada y el centeno, (también llamadas prolaminas), están evolutivamente relacionadas y presentan un elevado grado de homología. El resultante del amasado de estas proteínas, en presencia de agua, genera una masa viscoelástica que se denomina gluten.

Los anticuerpos policlonales y monoclonales específicos de las prolaminas han sido una herramienta muy útil para caracterizar las propiedades estructurales y conformacionales de las prolaminas y particularmente, para el análisis basado en técnicas inmunoquímicas del contenido de gluten en productos alimenticios.

Esta determinación es de relevancia para la salud humana, ya que los pacientes celíacos deben seguir una estricta dieta (llamada dieta libre de gluten), el único tratamiento efectivo para recuperar la histología y funcionalidad del intestino delgado.

Se han usado solventes acuosos, tales como el etanol al 60-70%, para la extracción de las prolaminas de harinas y de productos alimenticios. Este método no es selectivo y por lo tanto, resulta en una compleja mezcla de proteínas que asociado a su baja solubilidad en soluciones acuosas, su elevado grado de homología y por como consecuencia, su reactividad cruzada, provocan dificultades en el análisis inmunoquímico de las proteínas derivadas del gluten.

Las prolaminas generan una respuesta inmune exacerbada en la mucosa intestinal de los pacientes con EC. Los linfocitos T son una pieza clave en esta respuesta anómala frente a un componente dietario. No obstante, nuevas perspectivas en el conocimiento sobre la inmunidad innata dirigen la atención hacia algunos péptidos de gliadinas que también pueden producir reacciones inflamatorias que podrían intervenir en la patogenia de EC.

## Palabras clave

Gliadinas, gluteninas, prolaminas, proteínas tóxicas, productos libres de gluten, enfermedad celíaca.

---

## 1. Introducción

Los granos de cereal son una de las más importantes fuentes de proteínas en la nutrición humana. El trigo y el arroz representan más del 70% de los granos de cereal consumidos mundialmente. La mayoría de los cultivares de trigo que se utilizan corresponden a variedades del *Triticum aestivum* L. hexaploide (con tres genomas codificados AABBDD), las cuales son usadas comúnmente para fabricar pan. El *Triticum durum*, tetraploide (genomas A y B), se usa primariamente para la producción de pastas. Particularmente, el uso a escala masiva de las proteínas de trigo, se debe a sus propiedades biofísicoquímicas, las cuales le otorgan la capacidad de formar una estructura particular llamada gluten. Esta estructura se obtiene de la harina de trigo por medio del lavado en presencia de agua y por la eliminación de algunos componentes solubles, principalmente el almidón. Como resultado, se obtiene una masa elástica y cohesiva capaz de retener gas, el cual se genera por la fermentación producida por microorganismos, usualmente levaduras. El trigo y los demás cereales nocivos para la EC se han visto ampliamente distribuidos desde hace unos 500 años, apenas una veintava parte del lapso que ha transcurrido desde el desarrollo de la agricultura. Las proteínas de almacenamiento de los granos de trigo son la base de una amplia variedad de productos alimentarios de elaboración casera e industrial. Debido a su capacidad de formar estructura, el gluten también se utiliza extensamente en la formulación de otros alimentos y es clave en el desarrollo de muchos productos en la industria alimentaria<sup>1-3</sup>. No obstante, estas proteínas son tóxicas para pacientes con enfermedad celíaca (EC). En este capítulo, examinaremos los aspectos estructurales de estas proteínas tóxicas para comprender su papel en la patogenia de la EC, así como los principios involucrados en los métodos para la certificación de los alimentos libres de gluten.

## 2. La Clasificación de las Proteínas de los Cereales

El trigo, la cebada (*Hordeum vulgare* L.) y el centeno (*Secale cereale* L.) son miembros de la tribu *Triticeae*, por lo que están evolutivamente emparentados. Todos contienen grupos de proteínas, que poseen un elevado grado de homología y que comparten propiedades físicoquímicas. La avena, aunque se halla en la misma subfamilia, pertenece a la tribu *Aveneae* y presenta algunas características diferentes (Figura 1)<sup>1-3</sup>.

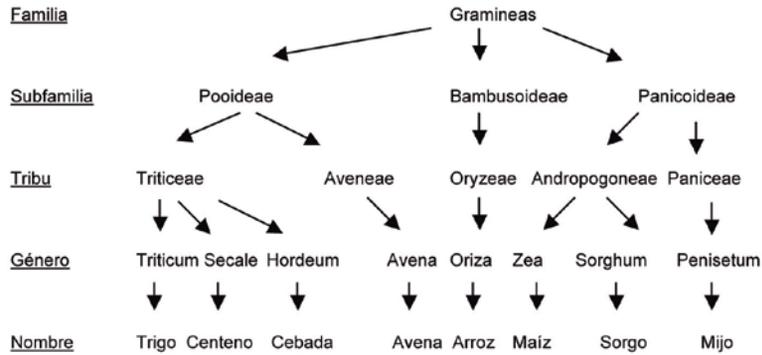


Figura 1. Relaciones taxonómicas entre los cereales<sup>4</sup>.

Las proteínas del endosperma del grano de trigo son mezclas complejas que fueron originalmente clasificadas por T.B. Osborne de acuerdo con su solubilidad en cuatro fracciones (1907): albúminas (solubles en agua); globulinas (solubles en soluciones salinas); gliadinas (solubles en etanol al 60-70%) y gluteninas (únicamente solubles bajo condiciones más agresivas, a saber, ácidos, agentes reductores, detergentes, urea, etc.).

Las gliadinas y las gluteninas, tanto como sus homólogos en cebada y centeno, son llamadas prolaminas. Este nombre se debe a su elevado contenido de los aminoácidos prolina y glutamina, los cuales junto a la fenilalanina, representan el 60 al 80% del total de su contenido de aminoácidos. Las prolaminas son sintetizadas y depositadas en el endosperma del grano como una fuente primaria de nitrógeno para la síntesis de proteínas que ocurre durante la germinación. El proceso de la molienda produce la harina de trigo, el ingrediente primario, esencial para la manufactura de alimentos.

Como proteínas de almacenamiento, las gliadinas y las gluteninas comprenden casi la mitad del contenido de proteínas de la harina de trigo<sup>2</sup>. Las gliadinas son monómeros, con pesos moleculares en el rango de 30 hasta 60kDa, mientras que las gluteninas, forman polímeros entre cadenas a través de uniones por puentes disulfuro con pesos moleculares que oscilan desde 80kDa hasta millones. Como consecuencia de este entrecruzamiento, las gluteninas son poco extraídas cuando se usa etanol acuoso (solvente más comúnmente usado) de los productos amasados, y aun menos en aquellos que han recibido tratamiento térmico.

Las gliadinas han sido clasificadas en  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas, basándose en su movilidad electroforética en condiciones de pH ácido (pH=3, A-PAGE)<sup>5</sup>. El mismo procedimiento ha sido usado para describir los componentes homólogos de la cebada y el centeno.

### 3. Características Estructurales y Propiedades Biofísicoquímicas

La estructura primaria de las prolaminas presenta regiones extensas de secuencias repetidas debidas a inserción y duplicación a lo largo del proceso evolutivo, lo que ha generado un elevado grado de polimorfismo. Las regiones repetitivas están formadas por unidades de 4 a 9 aminoácidos de longitud. Estas unidades incluyen una o más unidades de prolina y glutamina, lo que explica el elevado contenido de estos dos aminoácidos en las prolaminas.

La tabla 1 muestra una clasificación de las prolaminas de acuerdo con su composición y secuencia de aminoácidos<sup>1,3</sup>.

Tabla 1. Clasificación de las prolaminas de trigo, centeno y cebada.

Prolaminas					
Gliadinas (monómeros)			Gluteninas (agregados)		
Trigo	$\omega$ -gliadinas	$\alpha$ -, $\beta$ -gliadinas	$\gamma$ -gliadinas	LMW glu-	HMW glu-
	Pobres en S	Ricas en S			
Cebada	C hordeínas	-	$\gamma$ -hordeínas	B hordeínas	D hordeínas
Centeno	$\omega$ -secalinas	-	$\gamma$ -secalinas	LMW-secalinas	HMW-seca- linas

LWM = Bajo Peso Molecular ; HMW = Alto Peso Molecular

La secuencia de aminoácidos para la  $\alpha$ -gliadina fue la primera en ser descrita<sup>6</sup>. Es una proteína de 30kDa, soluble en etanol. Posteriores investigaciones revelaron que la estructura global de las prolaminas, la cual consiste en secuencias típicas en el extremo N terminal, conservando dominios y regiones repetitivas. Estas características pueden hallarse en los componentes homólogos del trigo, la cebada y el centeno. Las regiones N terminales de las  $\omega$ -gliadinas y las  $\omega$ -secalinas por ejemplo, presentan un elevado grado de homología y las secuencias repetidas representan un 80% de la molécula<sup>7</sup>. Se hallaron dos secuencias de consenso: PQQPY y PQQPFPQQ, las cuales explican el elevado contenido de prolina (P) y glutamina (Q) que se ha observado en estas proteínas. El análisis de las secuencias de las aveninas reveló que, aunque efectivamente, existen algunas secuencias de consenso de unidades repetidas, estas son diferentes de las del trigo, la cebada y el centeno.

Basándose en su peso molecular, las prolaminas pueden ser divididas en: Peso Molecular Alto (HMW, por sus siglas en inglés), Peso Molecular Medio (MMW) y Peso Molecular Bajo (LMW). Las proteínas del grupo HMW incluyen las HMW-gluteninas (trigo), HMW-secalinas (centeno) y las D-hordeínas (cebada), con pesos moleculares en el rango de 70-90kDa. El motivo de secuencia QQPGQG es muy frecuente en la región repetitiva.

En el grupo MMW el peso oscila entre 50-70kDa, e incluye  $\omega$ -gliadinas,  $\omega$ -secalinas (centeno) y C-hordeínas (cebada). Las secuencias están típicamente formadas por repeticiones de QPQQPFP y QQQFP. En el grupo LMW, el peso molecular oscila entre 30-45 kDa e incluye  $\alpha$ -/ $\beta$ -gliadinas y  $\gamma$ -gliadinas (trigo),  $\gamma$ -secalinas (centeno) y  $\gamma$ -hordeínas (cebada); estas contienen cisteínas que forman enlaces disulfuro intracadena. Debe recalarse que las proteínas homólogas a las  $\alpha$ -/ $\beta$ -gliadinas, no se hallan en el centeno, ni en la cebada<sup>1,3</sup>. La secuencia repetitiva típica en estas proteínas es QPQQPFP. Dentro de este mismo grupo existen otras proteínas con puentes disulfuro intercalado como LMW-GS (trigo),  $\gamma$ 75k-secalinas (centeno) y B-hordeínas (cebada) (Figuras 2 y 3A).

La estructura secundaria de las prolaminas contiene regiones de  $\alpha$ -hélice en los extremos N y C terminales, así como en algunas secuencias intercaladas. Las regiones repetitivas adoptan una estructura conocida como giro- $\beta$ . La unidad estructural de giro- $\beta$  se compone de cuatro residuos; los enlaces de puente de hidrógeno se hallan entre el grupo carboxil y el grupo de amidas del cuarto residuo<sup>10</sup>. La regularidad de las secuencias repetitivas y de la estructura giro- $\beta$  determinan la formación de una estructura cilíndrica con 13 residuos por giro, llamada espiral- $\beta$ . Los giros- $\beta$  predominan en las  $\omega$ -gliadinas. También se hallan en las gluteninas HMW y en menor grado, en las  $\gamma$ -gliadinas. En estos casos la distribución de los giros- $\beta$  es irregular. En contraste en las  $\alpha$ -gliadinas, esta estructura se restringe solo a unos pocos dominios cerca de la región N terminal; que son más irregulares y pueden contener secuencias intercaladas con una estructura de  $\alpha$ -hélice<sup>10</sup>. Las prolaminas son estructuras proteicas compactas con una elevada estabilidad fisicoquímica<sup>11</sup>. Su rígida estructura secundaria se preserva, aún bajo condiciones desnaturalizadoras leves<sup>12</sup> y solo las condiciones desnaturalizadoras fuertes, tales como la urea 4M, pueden alterar su estructura<sup>13</sup>.

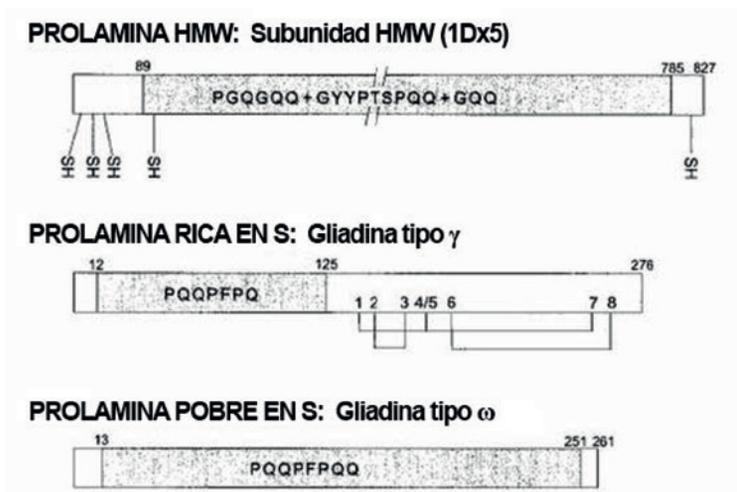


Figura 2. Esquema de la estructura de las gluteninas HMW y de las gliadinas ricas en azufre. Las líneas que conectan 1 al 8, indican los puentes disulfuro entre cisteínas, mientras que SH indica las



## 5. Caracterización de las Prolaminas por Métodos Inmunoquímicos

Se han obtenido tanto anticuerpos policlonales como monoclonales frente a las proteínas del trigo, la cebada y el centeno. Estos anticuerpos han sido una herramienta muy útil para caracterizar las propiedades estructurales y conformacionales de las prolaminas. La baja solubilidad de las prolaminas en soluciones acuosas, la dificultad de obtener componentes altamente purificados y el elevado grado de homología, con la consecuente reactividad cruzada, producen no obstante, algunas dificultades en esta clase de técnicas. La información obtenida por medio de métodos inmunoquímicos es relevante para profundizar en el conocimiento de este sistema de proteínas muy particular. Desde los primeros análisis inmunoquímicos por medio de anticuerpos policlonales, obtenidos de conejos inmunizados con  $\alpha$ -/ $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas, B-hordeínas o C-hordeínas, se observó que la inmunogenicidad de las secuencias repetitivas y en particular, de las regiones compuestas de giros beta determinan gran parte de la reactividad cruzada<sup>19</sup>. Estos resultados revelaron una homología parcial y la presencia de epítomos conformacionales y/o lineales similares en las  $\alpha$ - y  $\gamma$ -gliadinas, B-hordeínas y C-hordeínas. En los mismos estudios, las  $\omega$ -gliadinas presentaron una reactividad mucho menor no observando reconocimiento de proteínas de avena y arroz.

Los anticuerpos monoclonales fueron producidos usando diferentes estrategias para la inmunización y la selección de los hibridomas. Estos anticuerpos han profundizado nuestro conocimiento sobre las características estructurales de las prolaminas y han resultado útiles para el desarrollo de pruebas cuantitativas para determinar la concentración de gliadinas en extractos de los alimentos<sup>14,20-23</sup>. Uno de estos anticuerpos monoclonales, llamado R5, ha sido extensamente caracterizado y es uno de los anticuerpos más utilizados en pruebas ELISA para el control del gluten en los alimentos<sup>24,26</sup>.

Es difícil efectuar la caracterización de la inmunoreactividad y en particular, la identificación del epítomo reconocido por un anticuerpo monoclonal en este sistema proteico. La interpretación de los resultados inmunoquímicos es difícil en este complejo sistema de proteínas: donde ocurren múltiples interacciones antígeno-anticuerpo, con un amplio rango de afinidades y elevada reactividad cruzada. Con el fin de simplificar el sistema de estudio e identificar el epítomo reconocido por los anticuerpos monoclonales, se usaron péptidos sintéticos o bibliotecas de fagos. En el caso particular del anticuerpo R5, se encontró que la secuencia central de los epítomos está formada por QQFPF, QQQFP, LQFPF y QLFPF<sup>24</sup>. Estas secuencias se encuentran en el trigo, el centeno y la cebada, pero no en la avena.

Más recientemente, además de las pruebas inmunoquímicas, se han utilizado técnicas más actualizadas para analizar los péptidos derivados de gluten en alimentos. Por ejemplo, se han propuesto diferentes sensores basados en propiedades físicas, electroquímicas<sup>27</sup> y magnéticas<sup>28</sup>. También se ha propuesto realizar la detección de los fragmentos del ADN del genoma del trigo por medio de PCR<sup>29</sup>. Aunque todos estos son métodos potentes en su capacidad de detección, no pueden aún sustituir el uso a gran escala las técnicas de ELISA cuantitativo.

## 6. Gliadinas Comúnmente Usadas en la Investigación de la Patogenia de la Enfermedad Celíaca o en el Análisis del Gluten

Para evaluar el papel de las gliadinas en los mecanismos patogénicos de la EC o en el desarrollo de las pruebas de certificación de alimentos, las fuentes de gliadinas más comúnmente utilizadas hasta el momento han sido: Gliadinas comerciales, la digestión enzimática de gliadinas enteras y más recientemente, el material de referencia preparado por el *European Working Group in Prolamin Analysis and Toxicity* (WGPAT) (Grupo de Trabajo Europeo sobre el Análisis y Toxicidad de las Prolaminas, por sus siglas en idioma Inglés)<sup>30</sup>.

- Las gliadinas comerciales son producidas por varias compañías. Estas consisten en gliadinas obtenidas a partir de la harina de trigo siguiendo protocolos convencionales para la eliminación de la fracción de albúmina-globulina y su posterior extracción con etanol acuoso. La fracción de proteínas extraída con etanol acuoso es luego liofilizada y distribuida bajo la forma de polvo, pero éste no es completamente soluble. Esta es una desventaja importante cuando se utiliza esta preparación de gliadinas como estándar en métodos cuantitativos. Además, debido al procedimiento de producción, puede alterarse la conformación de las proteínas y consecuentemente puede modificarse su interacción con los anticuerpos.
- Fragmentos de gliadinas obtenidos mediante digestión enzimática de las gliadinas comerciales se obtienen mediante tratamiento de gliadinas comerciales con las enzimas tripsina y pepsina; usualmente se les conoce como PT-gliadinas. Esta digestión enzimática produce una mezcla de péptidos de varios tamaños que han sido usados en la caracterización de la respuesta inmune en los pacientes con EC. Para pruebas biológicas, esta preparación se usa como un modelo de péptidos derivados del gluten, hallados en el lumen intestinal después del proceso fisiológico de la digestión. La desventaja de esta preparación es la gran variabilidad entre preparaciones.
- El material de referencia de WGPAT (gliadina PWG) fue desarrollado dentro de un proyecto multicéntrico internacional, que permite la validación de pruebas cuantitativas. Para su preparación se mezclaron las harinas de 28 variedades de trigos europeos y se siguió un protocolo convencional de extracción de prolaminas. La gliadina PWG fue caracterizada por la metodología más amplia disponible (RP-HPLC, electroforesis en gel de poliacrilamida, electroforesis capilar, MALDI-TOF, pruebas inmuno-químicas). También se evaluó su estabilidad y solubilidad. Por lo tanto, la gliadina PWG es un reactivo altamente estable y completamente soluble utilizado como material de referencia para pruebas cuantitativas en el análisis del gluten<sup>30</sup>.

## 7. Prolaminas y Toxicidad. Inducción de las Respuestas Inmunes Innata y Adaptativa

Estudios pioneros realizados por el grupo del Dr. Sollid (Oslo, Suecia) a comienzos de la década de 1990, demostraron la especificidad de los linfocitos T de la lamina propria aislados a partir de

la mucosa intestinal de pacientes con EC activa. Estos experimentos demostraron también el papel de los alelos de susceptibilidad HLA de clase II en la patogenia de la EC<sup>31,32</sup>. Estudios posteriores utilizando paneles de linfocitos T aislados de la mucosa intestinal permitieron un análisis profundo de los péptidos unidos a los alelos HLA de susceptibilidad (HLA-DQ2/DQ8)<sup>33</sup>. Diferentes grupos de investigación han contribuido sustancialmente al conocimiento de los mecanismos de la patogenia de la EC, tal vez una de las patologías con base inmune mejor conocidas.

Debido a sus secuencias particulares, los péptidos del gluten son resistentes a la degradación enzimática. En consecuencia, aun luego de la actividad de las enzimas digestivas, en el lumen intestinal permanecen fragmentos de gluten de gran tamaño. Estos péptidos son translocados a la lamina propia, donde son capturados y procesados por las células dendríticas. Allí, la transglutaminasa 2 (TG2), una enzima con múltiples funciones, media en la deamidación de residuos de glutamina, en posiciones seleccionadas de los péptidos de gluten<sup>35,36</sup>. Esta modificación hace que los péptidos tengan una mayor afinidad por los alelos de susceptibilidad de HLA de clase II<sup>17,37-39</sup>. Se han desarrollado algoritmos para la predicción de secuencias tóxicas, tomando en cuenta tanto la selección de péptidos capaces de interactuar con los alelos de susceptibilidad HLA como el requerimiento de la deamidación de glutaminas por TG2<sup>40,41</sup>. La información experimental de análisis de reactividad de linfocitos T sumada a estos algoritmos sugiere que la respuesta adaptativa T se halla restringida principalmente a ciertos péptidos del gluten que cumplen con el requerimiento de establecer una unión de alta afinidad con los alelos de susceptibilidad HLA y la deamidación selectiva por la TG2<sup>42,43</sup>.

Aunque la reactividad de los linfocitos T parece ser heterogénea, predomina la reactividad de estos frente a las  $\alpha$ -gliadinas. Los péptidos inmuno-dominantes, tales como la  $\alpha$ -gliadina p56-89<sup>44</sup>, inducen respuestas inmunes específicas en prácticamente todos los pacientes con enfermedad celíaca<sup>17,45</sup>. Este péptido, llamado 33mer, es considerado el péptido modelo para el estudio sobre la respuesta adaptativa en EC. Se han identificado a los principales epítomos en las  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas, así como en las gluteninas. Estos epítomos se unen a las moléculas de HLA-DQ2 y DQ8. A su vez, muchos de estos epítomos se unen con mayor afinidad cuando glutaminas de posiciones definidas han sido deamidadas por actividad de la enzima TG2, e incrementan la inducción de la proliferación de células T específicas<sup>36,37,44</sup>.

Se ha propuesto una nomenclatura para los epítomos relevantes del gluten basada en la definición de la reactividad de por lo menos, un clon de célula T específico, el elemento de restricción HLA y el núcleo de nueve de aminoácidos del epítomo<sup>41</sup>. La lista incluye, al menos, 31 epítomos reconocidos por los linfocitos T CD4+, 24 de los cuales son HLA-DQ2 restringidos (23 DQ2.5 y 1 por DQ2.2) y 7 HLA-DQ8 restringidos (4 DQ8, y 3 por DQ8.5), presentes en  $\alpha$ -gliadina,  $\gamma$ -gliadina,  $\omega$ -gliadina, gluteninas LMW y HMW, hordeínas, secalinas y aveninas (tabla 2).

Se sabe que los péptidos del gluten pueden inducir daño en cultivos celulares de biopsias intestinales duodenales<sup>46</sup> o después de haber sido administrados *in vivo*, en el intestino proximal o distal<sup>47</sup>. Los efectos tempranos tales como la inducción de vías de estrés celular y la estimulación de

la inmunidad innata local, han sido descritos para los fragmentos de  $\alpha$ -gliadina p31-49 y p31-43. El péptido p31-43 puede inducir moléculas de MHC clase I no clásicas, estrés, muerte de células epiteliales y podría potenciar el efecto del factor de crecimiento epidérmico (EGF), así como la estimulación del sistema de quinasas de MAP quinasa p38, y la producción de IL-15, por parte de las células mononucleares de la lamina propia<sup>48,50,51</sup>. Se ha observado que el péptido p31-43, a diferencia de otros péptidos, se acumula en los lisosomas intracelulares, donde induce la activación de TG2 y la degradación de PPAR $\gamma$ , que es un modulador de la inflamación intestinal<sup>52</sup>. También, se ha descrito la actividad de otros péptidos de gliadinas con diversos efectos biológicos<sup>53,55</sup>.

Tabla 2. Lista de péptidos relevantes reconocidos por las células CD4<sup>+</sup> T.

EPITOPO		
Nomenclatura actual	Nomenclatura anterior	Secuencia*
<b>DQ2.5 restringidos</b>		
DQ2.5-glia- $\alpha$ 1a	DQ2- $\alpha$ -I, $\alpha$ 9	PFQPQ <b>EL</b> PY
DQ2.5-glia- $\alpha$ 1b	DQ2- $\alpha$ -III	PYPQ <b>PEL</b> PY
DQ2.5-glia- $\alpha$ 2	DQ2- $\alpha$ -II, $\alpha$ 2	PQ <b>PEL</b> PYPQ
DQ2.5-glia- $\alpha$ 3	glia- $\alpha$ 20	FR <b>PE</b> QYPYQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 1	DQ2- $\gamma$ -I	PQQSF <b>PE</b> QQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 2	DQ2- $\gamma$ -II, $\gamma$ 30	IQ <b>PE</b> QPAQL
DQ2.5-glia- $\gamma$ 3	DQ2- $\gamma$ -III	<b>QQPE</b> QYPYQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 4a	DQ2- $\gamma$ -IV	SQ <b>PE</b> QEFPQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 4b	DQ2- $\gamma$ -VIIc	PQ <b>PE</b> QEFPQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 4c	DQ2- $\gamma$ -VIIa	<b>QQPE</b> QPFQ
DQ2.5-glia- $\gamma$ 4d	DQ2- $\gamma$ -VIIb	PQ <b>PE</b> QPF <b>C</b> Q
DQ2.5-glia- $\gamma$ 5	DQ2- $\gamma$ -VI	QQPF <b>PE</b> QPQ
DQ2.5-glia- $\omega$ 1	DQ2- $\omega$ -I	PFQPQ <b>PE</b> QPF
DQ2.5-glia- $\omega$ 2	DQ2- $\omega$ -II	PQ <b>PE</b> QPF <b>P</b> W
DQ2.5-glut-L1	glutenina-17	PF <b>SE</b> EQPV
DQ2.5-glut-L2	glutenina-156	FS <b>QQ</b> Q <b>ES</b> PF
DQ2.5-hor-1	Hor- $\alpha$ 9,Ha 9	PFQPQ <b>PE</b> QPF
DQ2.5-hor-2	Hor- $\alpha$ 2,Ha 2	PQ <b>PE</b> QPF <b>P</b> Q
DQ2.5-hor-3	hor-I-DQ2	PI <b>PE</b> QPQPY
DQ2.5-sec-1	Sec- $\alpha$ 9,Sa 9	PFQPQ <b>PE</b> QPF
DQ2.5-sec-2	Sec- $\alpha$ 2,Sa 2	PQ <b>PE</b> QPF <b>P</b> Q
DQ2.5-ave-1a	Av- $\alpha$ 9 <sup>a</sup>	PYPEQ <b>EE</b> PF
DQ2.5-ave-1b	Av- $\alpha$ 9B,1490	PYPEQ <b>EE</b> QPF

DQ8 restringidos		
DQ8-glia- $\alpha$ 1	DQ8- $\alpha$ -I	EGSFQPSQE
DQ8-glia- $\gamma$ 1a	DQ8- $\gamma$ -Ia	EQPQQPFPQ
DQ8-glia- $\gamma$ 1b	DQ8- $\gamma$ -Ib	EQPQQPYPE
DQ8-glut-H1	HMW -glutenina	QGYYP TSPQ

*\*Secuencia de aminoácidos en un código de una letra. En rojo: los residuos de glutamato (E) debidos a la deamidación de TG2 que son importantes para la unión a la molécula DQ2/8. En azul: otros residuos de glutamina (Q), potenciales sustratos para TG2<sup>41</sup>.*

No obstante, quedan por identificar los receptores de estos péptidos tóxicos, comprender mejor su interacción con los enterocitos y cómo ocurre el transporte transepitelial de estos péptidos. Experimentos de transcitosis llevados a cabo in vivo, sugieren que el receptor de transferrina CD71, puede mediar la translocación de los complejos de péptidos de gliadinas/ IgA anti-gliadinas<sup>56</sup>. Se ha descrito, en pacientes celíacos con EC, un elevado transporte transepitelial desde la membrana apical hacia la membrana basal en los enterocitos, incrementada por IFN- $\gamma$ <sup>53</sup> (Tabla 2) (Figura 3).

El conocimiento actual de la patogenia de la EC involucra dos clases de péptidos tóxicos: aquellos que son capaces de inducir un cambio muy rápido en la mucosa, mediante mecanismos inflamatorios e innatos, y otros, que generan la respuesta adaptativa. Ambas vías interactúan y se potencian la una a la otra para mantener el proceso crónico del daño intestinal<sup>42,57</sup>.

En conclusión, los estudios que buscan incrementar nuestro conocimiento sobre las secuencias tóxicas de gliadinas y gluteninas, así como de los péptidos homólogos presentes en otros cereales tóxicos, tienen gran importancia para comprender muchos aspectos de la patogenia de la enfermedad celíaca.

Los mecanismos y secuencias responsables de la inducción de reacciones inflamatorias, todavía no son bien comprendidas. Algunas de estas vías inflamatorias podrían también tener un papel central en otra entidad clínica llamada Sensibilidad al Gluten no Celíaca.

El desarrollo de herramientas analíticas para la detección de gliadinas y gluteninas en alimentos destinados al consumo por pacientes con EC, requiere información inmunoquímica precisa sobre la reactividad de los anticuerpos utilizados. El desarrollo de nuevos métodos requiere además, la identificación de las secuencias apropiadas de estas proteínas como blanco tanto para la detección mediante técnicas inmunoquímicas y no inmunoquímicas. Adicionalmente, los péptidos de gliadinas pueden ser usados para la detección de anticuerpos específicos: en particular, algunas secuencias con glutaminas deamidadas son una herramienta muy útil en ensayos de serología para la detección de pacientes con EC.

## Referencias

1. Shewry PR, Halford NG. *Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization*. J Exp Botany 2002; 53(370): 947-58.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/53.370.947>
2. Shewry PR, Tatham AS. *The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution*. Biochem J. 1990; 267: 1-12.  
PMid:2183790 PMCID:PMC1131235
3. Delcour JA, Joye IJ, Pareyt B, Wilderjans E, Brijs K, Lagrain B. *Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products*. Annu Rev Food Sci Technol. 2012; 3: 469-92.  
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>  
PMid:22224557
4. Kagnoff MF. *Overview and pathogenesis of celiac disease*. Gastroenterology 2005; 128(2 Suppl 1): S10-8.  
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.008>  
PMid:15825116
5. Bushuk W, Zillman RR. *Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams*. Can J Plant Sci. 1978; 58: 505-15.  
<http://dx.doi.org/10.4141/cjps78-076>
6. Kasarda DD, Okita TW, Bernardin JE, Baecker PA, Nimmo CC, Lew EJ et al. *Nucleic acid (cDNA) and amino acid sequences of a-type gliadins from wheat (Triticum aestivum)*. Proc Natl Acad Sci (USA). 1984; 81: 4712-6.  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.15.4712>
7. Kasarda DD, Autran JC, Lew EJ, Nimmo CC, Shewry PR. *N-terminal amino acid sequences of [omega]-gliadins and w-secalins. Implications for the evolution of prolamin genes*. Biochim Biophys Acta. 1983; 747: 138-50.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838\(83\)90132-2](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838(83)90132-2)
8. Van Herpen TW, Goryunova SB, van der Schoot J, Mitreva M, Salentijn E, Vorst et al. *Alpha-gliadin genes from the A, B and D genomes of wheat contain different sets of celiac disease epitopes*. BMC Genomics. 2006; 7: 1-13.  
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-7-1>  
PMid:16403227 PMCID:PMC1368968
9. Sollid LM. *Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder*. Nat Rev Immunol. 2002; 2(9): 647-55.  
<http://dx.doi.org/10.1038/nri885>  
PMid:12209133
10. Tatham AS, Mifflin BJ, Shewry PR. *The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: relationships to gluten elasticity*. Cereal Chem. 1985; 62: 405-12.

11. Schofield JD, Bottomley RC, Timms MF, Booth MR. *The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions.* J. Cereal Sci. 1983; 1: 241-53.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210\(83\)80012-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0733-5210(83)80012-5)
12. Andrews JL, Skerritt JH. Quality-related epitopes of High Mr. subunits of wheat glutenin. J Cereal Sci. 1994; 19: 219-29.  
<http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1994.1029>
13. Goldsbrough AP, Bulleid NJ, Freedman RB, Flavell RB. *Conformational differences between two wheat HMW-glutenin subunits are due to a short region containing six amino acid differences.* Biochem J. 1989; 263: 837-42.  
PMid:2597130 PMCID:PMC1133506
14. Skerritt JH, Hill AS. *Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods.* J Assoc Off Anal Chem. 1991; 74: 257-64.  
PMid:2050607
15. Chirido FG, Fossati CA, Añón MC. *Fractionation of wheat, barley and rye prolamins by cation-exchange FPLC.* J Agric Food Chem. 1994; 42: 2460-5.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jf00047a018>
16. Shimoni Y, Blechl AE, Anderson OD, Galili G. *A recombinant protein of two high molecular weight glutenins alters gluten polymer formation in transgenic wheat.* J Biol Chem. 1997; 272(24): 15488-9.  
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.272.24.15488>  
PMid:9182582
17. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy Y et al. *The intestinal T cell response to alpha gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase.* J Exp Med. 2000A; 191: 603-12.  
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.191.4.603>  
PMid:10684852 PMCID:PMC2195837
18. Arentz-Hansen EH, McAdam SN, Molberg O, Kristiansen C, Sollid LM. *Production of a panel of recombinant gliadins for the characterisation of T cell reactivity in coeliac disease.* Gut. 2000B; 46: 46-51.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.46.1.46>  
PMid:10601054 PMCID:PMC1727782
19. Festenstein GN, Hay FC, Shewry PR. *Immunochemical relationships of the prolamins storage proteins of barley, wheat, rye and oats.* Biochim Biophys Acta. 1987; 912: 371-83.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838\(87\)90042-2](http://dx.doi.org/10.1016/0167-4838(87)90042-2)
20. Ellis HJ, Doyle AP, Wieser H, Sturgess RP, Day P, Ciclitira PJ. *Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a sequenced peptide of alpha-gliadin from the coeliac-activating domain I.* J Biochem Biophys Methods. 1994; 28(1): 77-82.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0165-022X\(94\)90066-3](http://dx.doi.org/10.1016/0165-022X(94)90066-3)

21. Chirido FG, Añón MA, Fossati CA. *Optimization of a competitive ELISA for quantification of prolamins in food*. Food and Agricultural Immunology. 1995; 7(4): 333-43.  
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109509354893>
22. Chirido FG, Añón MC, Fossati CA. *Development of high sensitive enzyme immunoassays for gliadin quantification using the streptavidin-biotin amplification system*. Food Agric Immunol. 1998; 10(2): 143-55.  
<http://dx.doi.org/10.1080/09540109809354977>
23. Sánchez D, Tucková L, Burkhard M, Plicka J, Mothes T, Hoffmanová I et al. *Specificity analysis of anti-gliadin mouse monoclonal antibodies used for detection of gliadin in food for gluten-free diet*. J Agric Food Chem. 2007; 4; 55(7): 2627-32.
24. Kahlenberg F, Sánchez D, Lachmann I, Tuckova L, Tlaskalova H, Méndez E et al. *Monoclonal antibody R5 for detection of putatively celiac-toxic gliadin peptides*. Eur Food Res Technol. 2006; 222: 78-82.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-005-0100-4>
25. Moron B, Bethune MT, Comino I, Manyani H, Ferragud M, López MC et al. *Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: Characterization of monoclonal antinboides to a main immunogenic gluten peptide*. PloS One. 2008 May 28; 3(5):e2294.  
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002294>  
PMid:18509534 PMCID:PMC2386552
26. Mujico JR, Dekking L, Kooy-Winkelaar Y, Verheijen R, van Wichen P, Streppel L et al. *Validation of a new enzyme-linked immunosorbent assay to detect the triggering proteins and peptides for celiac disease: interlaboratory study*. J AOAC Int. 2012; 95(1): 206-15.  
<http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.11-042>  
PMid:22468361
27. Nassef HM, Bermudo-Redondo MC, Ciclitira PJ, Ellis HJ, Fragoso A, O'Sullivan CK. *Electrochemical immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin in foodstuff*. Anal Chem. 2008; 80(23): 9265-71.  
<http://dx.doi.org/10.1021/ac801620j>  
PMid:19551990
28. Laube T, Kergaravat SV, Fabiano SN, Hernández SR, Alegret S, Pividori MI. *Magneto immunosensor for gliadin detection in gluten-free foodstuff: towards food safety for celiac patients*. Biosens Bioelectron. 2011; 27(1): 46-52.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2011.06.006>  
PMid:21764291
29. Hernández M, Esteve T, Pla M. *Real-time polymerase chain reaction based assays for quantitative detection of barley, rice, sunflower, and wheat*. J Agric Food Chem. 2005; 53(18): 7003-9.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jf050797j>  
PMid:16131102

30. Van Eckert R, Berghofer E, Ciclitira PJ, Chirido FG, Denery-Papini S, Ellis J et al. *Towards a new gliadin reference material- Isolation and characterisation*. J Cereal Sc. 2006; 43: 331-41.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.009>
31. Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O et al. *Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1\*0501,beta 1\*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients*. J Exp Med. 1993; 178(1): 187-96.  
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.178.1.187>  
PMid:8315377
32. Johansen BH, Buus S, Vartdal F, Viken H, Eriksen JA, Thorsby E et al. *Binding of peptides to HLA-DQ molecules: peptide binding properties of the disease-associated HLA-DQ(alpha 1\*0501, beta 1\*0201) molecule*. Int Immunol. 1994; 6(3): 453-61.  
<http://dx.doi.org/10.1093/intimm/6.3.453>  
PMid:8186196
33. Van de Wal Y, Kooy YM, van Veelen PA, Peña SA, Mearin LM, Molberg Ø et al. *Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin*. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95(17): 10050-4.  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.17.10050>  
Pmid:9707598 PMCID:PMC21459
34. Qiao SW, Bergseng E, Molberg Ø, Xia J, Fleckenstein B, Khosla C et al. *Antigen presentation to celiac lesion-derived T cells of a 33-mer gliadin peptide naturally formed by gastrointestinal digestion*. J Immunol. 2004; 173(3): 1757-62.  
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.173.3.1757>  
PMid:15265905
35. Ráki M, Schjetne KW, Stammaes J, Molberg Ø, Jahnsen FL, Issekutz TB et al. *Surface expression of transglutaminase 2 by dendritic cells and its potential role for uptake and presentation of gluten peptides to T cells*. Scand J Immunol. 2007; 65(3): 213-20.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3083.2006.01881.x>  
PMid:17309775
36. Van de Wal Y, Kooy Y, Van Veelen P, Pena S, Mearin L, Papadopoulos G et al. *Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadinspecific T cell reactivity*. J Immunol. 1998; 161: 1585-8.  
PMid:9712018
37. Moldberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Scott H et al. *Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut -derived T cells in coeliac disease*. Nature Med. 1998; 4(6): 713-7.  
<http://dx.doi.org/10.1038/nm0698-713>

38. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AVS. *In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T cell epitope*. *Nature Med.* 2000; 6: 337-42.  
<http://dx.doi.org/10.1038/73200>  
PMid:10700238
39. Molberg O, Uhlen AK, Jensen T, Flaete NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H et al. *Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease*. *Gastroenterology.* 2005; 128(2): 393-401.  
<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.003>  
PMid:15685550
40. Sollid LM, Qiao SW, Anderson RP, Gianfrani C, Koning F. *Nomenclature and listing of celiac disease relevant gluten T-cell epitopes restricted by HLA-DQ molecules*. *Immunogenetics.* 2012; 64(6): 455-60.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>  
PMid:22322673 PMCID:PMC3349865
41. Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. *Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis*. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 493-525.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00251-012-0599-z>  
PMid:22322673 PMCID:PMC3349865
42. Meresse B, Malamut G, Cerf-Bensussan N. *Celiac disease: an immunological jigsaw*. *Immunity.* 2012; 36(6): 907-19.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.06.006>  
PMid:22749351
43. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM et al. *Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue*. *Science.* 2002; 297(5590): 2275-9.  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074129>  
PMid:12351792
44. Vader W, Kooy Y, Van Veelen P, De Ru A, Harris D, Benckhuijsen W et al. *The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides*. *Gastroenterology.* 2002; 122(7): 1729-37.  
<http://dx.doi.org/10.1053/gast.2002.33606>  
PMid:12055577
45. Howdle PD, Corazza GR, Bullen AW, Losowsky MS. *Gluten sensitivity of small intestinal mucosa in vitro: quantitative assessment of histologic change*. *Gastroenterology.* 1981; 80(3): 442-50.  
PMid:7450439
46. Ellis HJ, Ciclitira PJ. *In vivo gluten challenge in celiac disease*. *Can J Gastroenterol.* 2001; 15(4): 243-7.  
PMid:11331926

47. Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, Zhang S, Collier C, Schmitz J et al. *A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease.* Immunity. 2004; 21, 367-77.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>  
PMid:15357948
48. Giovannini C, Sanchez M, Straface E, Scazzocchio B, Silano M, De Vincenzi M. *Induction of apoptosis in caco-2 cells by wheat gliadin peptides.* Toxicology. 2000; 145(1): 63-71.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00223-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00223-1)
49. Barone M, Gimigliano A, Castoria G, Paoletta G, Maurano F et al. *Growth factor-like activity of gliadin, an alimentary protein: implications for celiac disease.* Gut 2007; 56: 480-88.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.086637>  
PMid:16891357 PMCID:PMC1856836
50. Maiuri 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(9377): 30-7.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13803-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13803-2)
51. Luciani A, Vilella VR, Vasaturo A, Giardino I, Pettoello-Mantovani M, Guido S et al. *Lysosomal accumulation of gliadin p31-43 peptide induces oxidative stress and tissue transglutaminase-mediated PPARgamma downregulation in intestinal epithelial cells and coeliac mucosa.* Gut. 2010; 59(3): 311-9.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2009.183608>  
PMid:19951908
52. Terrazzano G, Sica M, Gianfrani C, Mazzarella G, Maurano F, De Giulio B et al. *Gliadin regulates the NK-dendritic cell cross-talk by HLA-E surface stabilization.* J Immunol. 2007; 179: 372-81.  
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.1.372>  
PMid:17579058
53. Junker Y, Zeissig S, Kim S-J, Barisari D, Wieser H, Leffler DA et al. *Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of tolllike receptor 4.* J Exp Med. 2012; 209(13): 2395-2408.  
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20102660>  
PMid:23209313 PMCID:PMC3526354
54. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3.* Gastroenterology. 2008; 135(1): 194-204 e3.
55. Matysiak-Budnik T, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Lebreton C, Menard S, Candalh C et al. *Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease.* J Exp Med. 2008; 205(1): 143-54.  
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20071204>  
PMid:18166587 PMCID:PMC2234361

56. Zimmer KP, Fischer I, Mothes T, Weissen-Plenz G, Schmitz M, Wieser H et al. Endocytotic segregation of gliadin peptide 31-49 in enterocytes. *Gut*. 2010; 59(3): 300-10.

<http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.169656>

PMid:19654123

57. Sollid LM, Jabri B. Triggers and drivers of autoimmunity: lessons from celiac disease. *Nat Rev Immunol*. 2013 Apr; 13(4): 294-302.

<http://dx.doi.org/10.1038/nri3407>

PMid:23493116 PMCID:PMC3818716162

