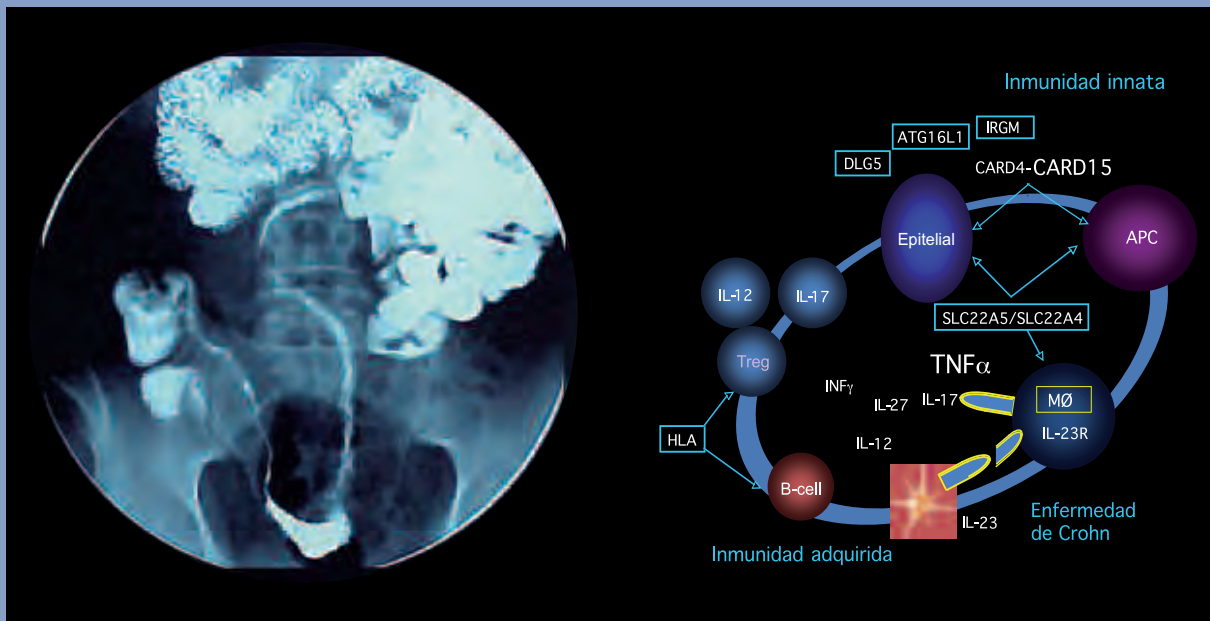


ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL AL DÍA

PUBLICACIÓN DE GETECCU PARA FORMACIÓN CONTINUADA



REVISIONES

- ¿Dónde están nuestros conocimientos sobre la genética de la EICI?
- ¿Estamos en condiciones de predecir el curso evolutivo de la EII?
- Quimioprofilaxis del cáncer colorrectal en la EICI

DEBATE

- ¿Es la enfermedad de Crohn una enfermedad infecciosa?

PUBLICACIONES ESPAÑOLAS EN REVISTAS INTERNACIONALES

- Clínica
- Investigación básica y aplicada

RESUMEN DE ARTÍCULOS RELEVANTES

TERAPÉUTICA BREVE

- Tratamiento endoscópico de las estenosis en la enfermedad de Crohn

LECTURA CRÍTICA DE LA LITERATURA

NOTICARIO



Sumario

Editorial

Revisiones

- 3 **¿Dónde están nuestros conocimientos sobre la genética de la enfermedad inflamatoria crónica intestinal (EICI)?**
A.S. Peña
- 15 **¿Estamos en condiciones de predecir el curso evolutivo de la enfermedad inflamatoria intestinal?**
*O. Merino Ochoa, L. Gómez Irwin,
J. C. Vitoria Cormenzana*
- 26 **Quimioprofilaxis del cáncer colorrectal en la enfermedad inflamatoria crónica intestinal.**
*V. Bernal Monterde, F. Sopeña Biarge,
M^a T. Arroyo Villarino*
-

Debate

- 35 **¿Es la enfermedad de Crohn una enfermedad infecciosa?**
*J. L. Mendoza, M. Barreiro de Acosta,
A. M. Álvarez Castro, A. López San Román*
-

Publicaciones españolas en revistas internacionales

Clínica

E. Doménech Morral

- 44 **Calidad de vida relacionada con la salud en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal: papel de la psicopatología y la personalidad.**
- 45 **N-acetil-cisteína combinada con mesalazina para el tratamiento de la colitis ulcerosa: estudio piloto, aleatorio, controlado con placebo.**
- 47 **Necesidad y seguridad de quimioprofilaxis tuberculosa previa a terapia anti-TNF en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.**
- 48 **Comparación de la eficacia de azatioprina en enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa: estudio prospectivo con seguimiento a largo plazo en 394 pacientes.**

Investigación básica y aplicada

L. Menchén

- 50 **CD209 en enfermedad inflamatoria intestinal: estudio caso-control en población española.**
- 51 **Papel de PPAR γ en la restauración de la homeostasis del colon tras la inflamación y disfunción inducida por estrés.**
- 53 **Prevalencia de macrocreatinkinasa tipo 1 en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII).**
- 54 ***Lactobacillus casei* disminuye las señales inflamatorias inducidas por bacterias comensales en la mucosa de la enfermedad de Crohn.**
-

Resumen de artículos relevantes

A. López San Román

- 56 **Tratamiento con metronidazol más azatioprina para la prevención de la recurrencia postoperatoria de la enfermedad de Crohn. Un ensayo controlado y aleatorizado.**
-

Terapéutica breve

O. Sendino, E. Ricart

- 59 **Tratamiento endoscópico de las estenosis en la enfermedad de Crohn.**
-

Lectura crítica de la literatura

A. Gutiérrez Casbas, J. P. Gisbert

- 61 **Retirada de la inmunosupresión en el tratamiento de mantenimiento programado con infliximab de la enfermedad de Crohn: un ensayo aleatorizado.**
-

Noticario

¿Dónde están nuestros conocimientos sobre la genética de la enfermedad inflamatoria crónica intestinal (EICI)?

A.S. Peña

Profesor Emérito del VU University Medical Centre de Ámsterdam. Holanda.

Resumen

A principios del año 2009, nuestros conocimientos sobre la genética se encuentran en fase de consolidación en unas áreas y de desarrollo en otras.

Hasta la fecha estos conocimientos han permitido consolidar el carácter multifactorial y poligénico de estas enfermedades. La genética ha contribuido al avance en el conocimiento de la regulación de la inflamación intestinal en general y de la inflamación patológica que existe en los pacientes con EICI.

La genética puede contribuir al diagnóstico y pronóstico de estas enfermedades, pero en estos campos todavía estamos en un período de pleno desarrollo. Nuevos protocolos e instrumentos, como por ejemplo poder leer los resultados en un EICI-chip, ayudarán al clínico a establecer un diagnóstico y un posible pronóstico para establecer un tratamiento personalizado. En esta revisión se presenta la evidencia de la contribución de la genética a las diversas áreas de investigación clínica implicadas en la EICI. Se describen brevemente nuevos protocolos y herramientas que permitirán entender mejor la patogenia y el pronóstico.

Summary

At the start of the year 2009 our knowledge on genetics is in a consolidation phase in some areas and in a developing phase in other areas.

This knowledge so far has consolidated the multifactorial and multigenic character of these diseases and has contributed to clarify and understand the regulation of intestinal inflammation in general and the pathological inflammation affecting in particular patients suffering from IBD.

Genetics may contribute to the diagnostic and prognostic aspects of these diseases however, in these particular fields; the discipline of genetics is as yet in a phase of development. New protocols and instruments such as for example the results readable on an IBD-chip, will be of help to the clinician to establish a diagnosis and a possible prognostic indication in order to personalize the treatment.

This review describes the evidence of the contribution of the discipline of genetics to different areas of clinical investigation in IBD. New protocols and tools are briefly reviewed since they will allow an improved understanding of the pathogenesis and prognosis of these diseases.

Palabras clave

Genética, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, EICI, inmunología, inmunogenética.

Keywords

Genetics, ulcerative colitis, Crohn's disease, IBD, immunology, immunogenetics.

Introducción

Pocas disciplinas médicas se han beneficiado tanto de los avances en Biología molecular, del conocimiento del genoma humano, de la informática y de "communication networks" a nivel global, como el de la genética de las enfermedades crónicas inflamatorias y autoinmunes. Sin embargo, en la práctica clínica, la influencia de la genética

en el diagnóstico y manejo de la enfermedad inflamatoria intestinal es todavía limitado, aun siendo de gran significado en el entendimiento de la etiopatogenia de estas enfermedades.

Los avances de la genética y la genómica en la práctica clínica representan un gran reto para todas las enferme-

dades complejas multifactoriales y poligénicas, tal y como han concluido autores norteamericanos en una revisión de artículos sobre enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer desde el año 2000 hasta febrero de 2008⁽¹⁾.

Para alcanzar objetivos claros es necesario preparar a los profesionales de la salud en los nuevos conocimientos que son necesarios para comprobar la evidencia de la utilidad clínica de los tests genéticos o genómicos. Es necesario definir los costes de las nuevas pruebas diagnósticas y establecer su justificación como instrumento diagnóstico o pronóstico⁽²⁾. Para ello también es necesario un acercamiento multidisciplinario entre clínicos, básicos, informáticos y estadísticos.

¿Por qué estudiar la genética en la EICI?

Desde 1976 se comunicó la existencia de familias con más de un miembro con afección de la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa⁽³⁻⁵⁾ sugiriendo la presencia de factores genéticos y ambientales. Estudios en gemelos monocigóticos (univitelinos, idénticos) y dicigóticos (bivitelinos o gemelos no idénticos) dieron mayor soporte al factor genético, ya que la presencia de enfermedad en ambos gemelos es significativamente mayor en los univitelinos que en los no idénticos a pesar de compartir el mismo ambiente en ambos casos⁽⁶⁻¹⁰⁾. Los estudios en gemelos han revelado también que los factores genéticos son más importantes en la enfermedad de Crohn que en la colitis ulcerosa. La concordancia de la enfermedad y el curso a largo plazo es más similar en los gemelos con la enfermedad de Crohn que en aquéllos que padecen colitis ulcerosa^(6,7).

Los estudios en familias de múltiples pacientes con estas enfermedades y en gemelos permiten concluir que, por el momento, el riesgo mayor de padecer estas enfermedades es poseer un familiar con la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. El riesgo es alrededor del 10% en parientes de primer grado⁽¹¹⁾. Es interesante también que si uno de los padres padece la enfermedad de Crohn, hay un riesgo mayor de tener una hija con EICI (12,6 %) en comparación con el 7,9% de tener un hijo con EICI⁽¹²⁾. Ello apunta a que un factor de predisposición puede encontrarse en el cromosoma X como se ha comunicado en estudios con técnicas de rastreo del genoma humano⁽¹³⁾.

El riesgo es mayor cuando uno de los padres tiene Crohn que cuando padece colitis ulcerosa, lo cual concuerda con la mayor prevalencia de la concordancia de los gemelos con la enfermedad de Crohn.

Otras observaciones que soportan factores genéticos son el riesgo mayor de tener un hijo con EICI cuando ambos

padres padecen la enfermedad^(14,15). Existe una diferente prevalencia en unas razas en comparación con otras; así, los judíos Askenazi, por ejemplo, no sólo tienen mayor riesgo de sufrir la enfermedad, sino de transmitirla⁽¹¹⁾.

De todos los estudios epidemiológicos en gemelos, en familias con varios miembros afectados con EICI y la prevalencia de la enfermedad en diferentes razas, se puede concluir que existe una predisposición genética que no sigue las leyes de Mendel. Los factores ambientales juegan un papel importante en el desarrollo de la EICI. Por tanto, los estudios epidemiológicos sugieren que la EICI es una enfermedad multifactorial y poligénica.

¿Qué nos han enseñado los estudios de genética en la EICI?

En la década de los 90 del siglo anterior el progreso de la genética fue lento y poco reproducible. El estudio de polimorfismos en genes candidatos, en estudios de casos y controles tuvo poco alcance porque las técnicas necesitaban bastante ADN, los grupos de pacientes eran relativamente pequeños y los grupos control, a menudo, eran inadecuados. Estos años sirvieron para aprender el valor del seguimiento de los pacientes para tener una idea del curso natural de la enfermedad. Los conceptos de heterogeneidad clínica en la selección de los pacientes que tanto han servido en la mejora de los ensayos clínicos de tratamiento, adquirieron también importancia en el campo de la genética. Con el descubrimiento del genoma humano, aunque hoy en día es todavía incompleto, aparecieron técnicas nuevas. Los esfuerzos por estudiar grupos grandes de pacientes para obtener significados estadísticos y reproducibilidad se han hecho realidad.

Las técnicas de rastreo del genoma aplicado a casos y controles y a hermanos(as) concordantes para la enfermedad, confirmaron pronto la naturaleza poligénica de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

En el más reciente esfuerzo de análisis de 2.000 pacientes con la enfermedad de Crohn y 3.000 controles en la población Británica, se han identificado 9 genes que contribuyen a definir el riesgo genético de padecer esta enfermedad, confirmando la importancia del *NOD2* y del gen envuelto en procesos autofágicos, como el *ATLG16*. Se descubrió además un nuevo gen envuelto también en autofagia: *IRGM* (*immunity related guanosine triphosphatase*)⁽¹⁹⁾.

La combinación de tres estudios de rastreo del genoma humano en los Estados Unidos, Bélgica y el consorcio Británico anterior, en la enfermedad de Crohn, sumaron un total de 3.230 casos y 4.829 controles. De esta forma se confirmaron 11 genes ya antes comunicados y 21 genes adicionales⁽²⁰⁾ (Tabla I).

Tabla I. Genes específicos para la enfermedad de Crohn, genes compartidos con la colitis ulcerosa y otras enfermedades autoinmunes.

Gen	SNP rs	Localización	Enfermedad	Procesos implicados
<i>NOD2</i>	(8)17860491 (12)17860492 (13)17860493	16q12	CD	Define respuesta a muramildipéptido – flora intestinal
<i>ATG16L1</i>	2241880 10210302	2q37.1	CD	Autofagia
<i>IRGM</i>	13361189 4958847	5q33	CD	Autofagia
<i>LRRK2, MUC19</i>	11175593	12q12	CD	Autofagia. Moco intestinal
<i>IL23R</i>	rs11209026	1p31	CD, psoriasis	Inducción Th17
<i>IL12B</i>	6887695 6556416	5q33	CD, psoriasis, celíaca Espondilitis anquilosante Diabetes <i>mellitus</i> tipo I Tiroiditis autoinmune	Inducción IL-12 e IL23
<i>CCR6</i>	2301436	6q27	CD	Inducción Th17
<i>JAK2</i>	10758669	9p24	CD, policitemia rubra vera	Señalización de IL-23
No se ha aislado ningún gen específico	1002922 9292777 17234657	5p13.1	CD	Se desconoce
<i>STAT3</i>	744166	17q2	UC	Diferenciación Th17
<i>MST1</i>	9858542 3197999	3p21	CD, UC CD	Estimulación macrófagos. Disminuye producción de IL-12
<i>C10ORF67</i>	1398024	10p12.2	CD, sarcoidosis	No se conoce
<i>NKX2-3</i>	10883365	10q24	CD, UC	
<i>ICOSLG</i>	762421	21q22	CD	Expresado en células dendríticas e implicado en la regulación de IL-10
<i>PTPN2</i>	2542151	18p11	CD, diabetes tipo I	Modula señales inflamatorias
<i>PTPN22</i>	2476601	1p13	CD, diabetes tipo I Artritis reumatoide, SLE Tiroiditis de Hashimoto	Modula señales inflamatorias
<i>SLC22A4</i>	3792876/1050152/ 2631367 274559	5q31	CD, SLE, artritis reumatoide Deficiencia de carnitina	<i>OCTN1</i> : transporte de cationes orgánicos
<i>SLC22A5</i>		5q31.1		<i>OCTN2</i>
<i>HLA-DRA, DRB1*0103</i>	3129872	6p21	CD colon, UC	Modulación de inflamación
<i>DLG5</i>	2165047	10q23	CD	Barrera intestinal

La lista no es completa pero describe la importancia de la genética en la inmunidad innata y en la regulación de la inflamación crónica intestinal en la enfermedad de Crohn y enfermedades asociadas. Referencias bibliográficas se describen en el texto. Los descubrimientos en la genética han contribuido al cambio de rumbo de la investigación en esta enfermedad.

Estos genes nuevos y hasta ahora insospechados, son importantes en la regulación de la inflamación y algunos son relevantes tanto para la enfermedad de Crohn como para la colitis ulcerosa^(20,21). Hasta ahora la mayor parte de genes encontrados están más relacionados con la susceptibilidad de la enfermedad de Crohn que de la colitis ulcerosa. Se han encontrado muchos más genes, con estas

nuevas tecnologías, en la enfermedad de Crohn que en la colitis ulcerosa, reflejando lo que se sabía por los estudios en familias con múltiples miembros afectados y en gemelos univitelinos antes reseñados. La concordancia en gemelos homocigóticos con Crohn es alrededor del 50%, en cambio en gemelos homocigóticos con colitis ulcerosa lo es únicamente del 10%.

Tabla II. Genes específicos para la colitis ulcerosa y no para la enfermedad de Crohn. Algunos son compartidos con otras enfermedades autoinmunes.

Gen	SNP	Cromosoma	Enfermedad	Procesos implicados
ECM1	rs3737240	1q21.2	UC	Activa señalización de NFκB.
	rs13294		Espondilitis anquilosante	Interacción epitelio estroma
IL10	rs3024505	1q32.1	UC	Regulación de IL-10
400-kb HLA	rs6927022	6p21	UC, sarcoidosis	Regulación de la inflamación
HLA-BTNL2	rs9268480	6p21		

El número de genes contrasta con los genes específicos hasta ahora encontrados en la enfermedad de Crohn (ver texto y Tabla I).

No es completamente seguro que el gen ECM1 sea el gen específico ya que dentro del haplotipo hay otros genes. Sin embargo es plausible, ya que codifica una glicoproteína presente en el intestino que inhibe la metaloproteínasa 9 e interacciona con la membrana basal intestinal.

La interleucina 10 es probablemente uno de los genes de susceptibilidad, aunque el SNP utilizado reconoce un área fuera de la región reguladora de la IL-10.

La asociación con HLA no es con un gen específico sino con muchos genes dentro del cromosoma 6 y es probable que la combinación de genes sea más importante como marcador de la susceptibilidad que un gen específico. En el texto se describen que estos genes HLA determinan algunas complicaciones como las artralgias y artritis, la espondilitis anquilosante (HLA-B27) y la asociación a otras enfermedades autoinmunes.

Poco se sabía de los genes específicos para la colitis ulcerosa. El consorcio británico ha encontrado cinco genes en los pacientes con colitis ulcerosa y los pacientes con enfermedad de Crohn: *IL23R*, *IL12B*, *HLA*, *NKX2-3* y el *MST1*, un gen específico para los pacientes con colitis ulcerosa en el locus ECM1⁽²²⁾.

Otro estudio reciente del genoma humano utilizando 440.794 SNPs en 1.167 pacientes con colitis ulcerosa y 777 controles sanos y replicados en tres poblaciones europeas de casos y controles encontró otro gen de susceptibilidad de la colitis ulcerosa. Éste corresponde al SNP rs3024505 que está relacionado con el gen IL10 en el cromosoma 1q32.1. En este estudio se detectó que otros marcadores de susceptibilidad de la colitis ulcerosa están en la región *ARPC2* y *HLA-BTNL2*⁽²³⁾ (Tabla II).

De esta manera la genética contribuye a afianzar el concepto que se tenía en la clínica de antaño, de que la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn son dos enfermedades diferentes. Si consideramos que hace escasamente siete años se descubrió el primer gen relacionado con la susceptibilidad de padecer la enfermedad de Crohn, el *CARD15* (NOD2 en la nomenclatura actual⁽²⁴⁾) podemos apreciar el avance vertiginoso de la genética con 30 genes implicados en la susceptibilidad de la enfermedad de Crohn⁽²⁵⁻²⁷⁾.

La genética ha contribuido al cambio de rumbo de la investigación

Antes de los descubrimientos del rastreo del genoma humano se pensaba que la EICI era el resultado de un desbalance entre la respuesta Th1 y Th2. Los estudios de genética descubrieron que la respuesta innata es crucial en cuanto a la susceptibilidad de padecer estas enfermedades. Los genes que son importantes en esta respuesta tienen una relación directa con la microflora intestinal.

Aunque la función de las moléculas NOD2 (parte de la familia NOD-NLRR) no están del todo aclaradas, no cabe duda de que la relación con la flora intestinal y los mecanismos de defensa, junto con los receptores "Toll" ("de peaje"), sugiere que estos pacientes tienen un trastorno en la respuesta inmune, concretamente en la inmunidad innata^(28, 29). NOD2, la molécula intra-citoplasmática, se expresa preferentemente en las células epiteliales y de Paneth en la región ileocecal, explicando hasta cierto punto la fuerte asociación de las mutaciones de este gen con la localización en dicha región⁽³⁰⁻³³⁾. NOD2 y los receptores Toll 2 y 4 son importantes en el reconocimiento de las bacterias de la luz gastrointestinal. Un estudio de rastreo del genoma humano ha confirmado que el gen TLR4 y el gen que regula la molécula de transcripción "TIRAP" juegan un papel en la enfermedad de Crohn⁽³⁴⁾.

Otro hallazgo importante de la genética ha sido el descubrimiento de la asociación de la EICI al gen que regula el receptor IL23R⁽³⁵⁻³⁷⁾, de gran importancia en la producción de IL-17 como se describe más adelante.

Las citocinas específicas de la respuesta inmune intestinal innata son la IL-12 y la IL-23 implicadas en la diferenciación de células T-CD4. El gen *IL12B* está significativamente asociado a la enfermedad de Crohn^(38,39).

La investigación genética ha encontrado que genes reguladores de la autofagia están involucrados en la enfermedad de Crohn; así, se han encontrado y han podido replicarse mutaciones en el gen *ATG16L1*^(40,41) y en el gen *IRGM*^(40,42) en la enfermedad de Crohn.

En principio la autofagia es un proceso fisiológico normal que contribuye a eliminar elementos infecciosos intracelulares y células apoptóticas. Sin embargo, las mutaciones encontradas en los genes que regulan estos procesos alteran el funcionamiento normal y podrían explicar un posible papel de *Mycobacterium paratuberculosis* o *E. coli*

agresivos en la patogenia de la inflamación crónica intestinal. Es posible que estos genes contribuyan a definir grupos con distinta patogenia; de hecho, en Escocia no han encontrado mutaciones del gen *ATG16L* en niños con enfermedad de Crohn⁽⁴³⁾.

Papel de las defensinas y su relación con la genética

El íleon es una región rica en la presencia de alfa-defensinas, antibióticos naturales que contribuyen a regular la respuesta inmune innata y ayudan a constituir una barrera intestinal impermeable contra bacterias patógenas. Ahora se sabe que pacientes con mutaciones del NOD2 expresan menos alfa-defensinas que controles sanos⁴⁴. También los ratones transgénicos con NOD2 mutado expresan menos defensinas alfa y tienen un número anormal de bacterias en la luz intestinal⁽⁴⁵⁾. Sin embargo, el defecto de producción de las defensinas alfa no es exclusivo en pacientes con mutaciones del gen NOD2. Hay evidencias de que se trata de un defecto primario en un factor de transcripción Tcf-4 de la vía Wnt de señalización celular. Este factor es un conocido regulador de la diferenciación de las células de Paneth y de la producción de defensinas alfa. El factor Tcf-4 está disminuido en el íleon terminal de pacientes con Crohn ileal, pero es normal en los pacientes de Crohn con afección colónica solamente⁽⁴⁶⁾.

Por el contrario, las defensinas beta se expresan preferentemente en el colon y hay diferencias entre la enfermedad de Crohn del colon y la colitis ulcerosa. También en este área, los avances en la genética han podido demostrar una gran variabilidad de expresión del número de copias de ciertos genes en el genoma humano. Se ha detectado que variaciones en el número de copias de un gen polimórfico del cromosoma 8, región p23.1 que codifica la beta defensinas, es menor en pacientes con enfermedad de Crohn del colon que en sujetos normales o con colitis ulcerosa⁽⁴⁷⁾.

Genes candidatos con implicaciones funcionales importantes en la EICI

El significado de las mutaciones NOD2 ha sido ampliamente revisado en la Revista Española del Aparato Digestivo⁽⁴⁸⁾. De importancia para el clínico es que en la raza blanca se han hallado al menos 30 mutaciones en el gen NOD2 que producen cambios no conservadores de la proteína^(49,50), pero las más frecuentes, localizadas en el tercio distal del gen, son dos mutaciones de cambio de sentido: una, la SNP8 (2104C>T; rs17860491), codifica una sustitución de arginina por triptófano (R702W); la otra, la

SNP12 (2722G>C; rs17860492), codifica una sustitución de glicina por arginina (G908R). La tercera, la mutación SNP13 (3020insC; rs17860493) que debido a la inserción de citosina, (L1007finsC) da por resultado una proteína NOD2 truncada y más corta.

Estas tres mutaciones representan más del 82% de los cromosomas mutados⁽⁵⁰⁾ y son las responsables de los alelos más comunes que marcan la susceptibilidad para padecer de la enfermedad de Crohn. Ello significa que los portadores de estos alelos tienen riesgo de sufrir la enfermedad de Crohn. Sin embargo, el riesgo no es igual para los tres alelos de susceptibilidad. En la mayoría de los estudios, los portadores de la mutación SNP8 tienen un riesgo dos veces mayor, los portadores de la mutación SNP12 lo tienen tres veces mayor y los mutantes con la inserción 1007fs, SNP13 tienen un riesgo cuatro veces mayor. Los pacientes que tienen mutaciones dobles, es decir son homocigóticos (generalmente afecta a la mutación SNP13), o los heterocigotos compuestos, es decir portadores de más de una mutación, tienen un riesgo de 17,1 veces más (IC 95% 10,7-27,2)⁽⁵¹⁾.

En algunas poblaciones, como la de Toledo en España y de Rennes en Francia, la mutación R702W fue la mutación de NOD2 que se asoció de manera más significativa a la enfermedad de Crohn. Es más, esta variante de susceptibilidad presentó una asociación independiente al comportamiento estenosante de la enfermedad^(52,53). En un grupo de pacientes en Kentucky, Estados Unidos, se encontró que el SNP12 va asociado a una forma más generalizada de la enfermedad de Crohn, confirmando también la asociación con la forma ileal e ileocolónica⁽⁵⁴⁾.

Estas mutaciones determinan una respuesta anormal al muramildipéptido (MDP), presente en algunas bacterias de la flora intestinal y contribuyen a producir una inflamación crónica en el íleon^(51,55). Sin embargo, incluso en este subgrupo de pacientes resulta obvio que, para que se exprese la enfermedad, son necesarios otros factores genéticos y ambientales. Como se ha reseñado anteriormente, los pacientes con afectación ileal y los portadores de mutaciones de NOD2 presentan también un descenso específico de las alfa-defensinas que repercute sobre los microorganismos lumbinales⁽⁵⁶⁾. Además, los pacientes con anticuerpos frente a *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA+) tienen una frecuencia mayor de alelos mutantes de NOD2, aunque los títulos más elevados de ASCA se asocian a mayores probabilidades de enfermedad de Crohn ileal y de conducta estenosante/penetrante con independencia del estado de NOD2⁽⁵⁷⁾.

En un estudio poblacional de Canadá se ha confirmado que el NOD2 y el consumo de tabaco son factores de riesgo independientes entre sí. El riesgo atribuible a los

portadores de NOD2 fue del 26,7% y el achacado a ser fumador activo fue del 46,8%⁽⁵⁸⁾. De Diego y cols. analizaron la frecuencia del hábito tabáquico en pacientes con mutaciones de NOD2 y observaron una asociación inversamente significativa con el tabaquismo, tanto en los pacientes heterocigotos u homocigotos para la mutación SNP13 (1007fs), como en los heterocigotos compuestos; el 72% de los fumadores no tenían ninguna de estas tres mutaciones⁽⁵⁹⁾.

Al igual que en la periodontitis, otra enfermedad compleja frecuente, la máxima frecuencia de portadores de mutaciones de NOD2 se encontró entre los pacientes no fumadores que no portaban las bacterias más frecuentes de la periodontitis: ni *Porphyromonas gingivalis* ni *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (29,4% frente a 17,4% en los controles)^(60,61). La diferencia no fue significativa pero confirma la falta de interacción entre estas mutaciones, el tabaquismo y las bacterias que intervienen en la regulación de la inflamación⁽⁶²⁻⁶⁴⁾.

Un metanálisis de las mutaciones de NOD2 en la enfermedad de Crohn de diversas poblaciones⁽⁵¹⁾ ha puesto de manifiesto las diferencias geográficas de las mutaciones. Se estudiaron las frecuencias de alelos y genotipos de las tres mutaciones más habituales en 3.575 controles sanos de raza blanca reclutados por 15 grupos distribuidos en tres continentes. Las frecuencias alélicas de las mutaciones R702W son del 4,3% (3,6-4,9), de las mutaciones G908R del 1,2% (0,8-1,6) y de la SNP13 (1007fs) del 2,3% (1,8-2,8). Hay grandes fluctuaciones geográficas de las mutaciones G908R, 1007fs y del NOD2 de tipo silvestre o salvaje ($P < 0,0001$). A nivel poblacional, no se observó ninguna relación sencilla entre las frecuencias de las mutaciones y las incidencias de la enfermedad en las poblaciones estudiadas. A nivel individual no se halló ningún déficit significativo de portadores de mutación doble entre los controles sanos, lo que demuestra que la expresión de la mayoría de los genotipos de riesgo es baja y confirma que el NOD2 opera interactuando con otros co-factores de riesgo aún desconocidos⁽⁶⁵⁾.

Aunque por el momento no se puede recomendar el genotipado del gen NOD2 en el planteamiento diagnóstico de los pacientes de enfermedad de Crohn, debido a que estas variantes genéticas sólo explican alrededor del 20% de la susceptibilidad de esta enfermedad, ya existen posibilidades de hacerlo. El tipaje puede pedirse incluso a través de Internet con el test de *PROMETHEUS*[®] *NOD2/CARD15*, de los Laboratorios Prometheus de San Diego, California, Estados Unidos. Tales pruebas identifican de manera específica a algunos individuos de alto riesgo de presentar enfermedad de Crohn es decir a los

portadores de 2 mutaciones frecuentes de *NOD2*⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾. El test no detecta las mutaciones raras y se ha calculado que éstas estarían presentes en el 25% de los portadores de mutaciones dobles⁽⁵⁰⁾, lo que posiblemente es una infraestimación causada por otras mutaciones de NOD2 causante de la enfermedad y aún no identificada, por ejemplo en las regiones reguladoras y promotoras del gen.

Hasta ahora estas mutaciones no parecen ser importantes para la susceptibilidad; si bien no se sabe si existen variantes en el número de copias de este gen. La manera más segura sería secuenciar el gen entero para buscar variantes raras, pero actualmente es muy costoso y laborioso⁽⁶⁹⁾.

Sin embargo, como concluyeron Seiderer y cols.⁽⁷⁰⁾ los genotipos de las mutaciones del gen NOD2 son una herramienta diagnóstica útil en los pacientes con síntomas clínicos sugerentes de estenosis intestinal. Ello permite detectar lo antes posible a los enfermos de alto riesgo y posiblemente prevenir las complicaciones que se asocian a este subgrupo de pacientes.

En algunas poblaciones se ha encontrado una interacción epistática entre las mutaciones del gen NOD2 y una región de 250 KB del cromosoma 5q31. En esta región se encuentran varios genes envueltos en la regulación de la inflamación como la IL13, que juega un papel en el predominio Th2 en la colitis ulcerosa. También la IL4, IL5, IL3 y CSF2 se encuentran en esta región⁽⁷¹⁾.

Los estudios de los genes que regulan los antígenos de histocompatibilidad (HLA) han sido muy extensos; sin embargo, su contribución a la clínica es todavía limitada. En la enfermedad de Crohn y en la colitis ulcerosa, el alelo *HLA-DRB1*0103* va asociado con la presencia de las artropatías tipo I de los pacientes con EICI, es decir, las artropatías que afectan las articulaciones grandes en períodos de actividad de la inflamación intestinal⁽⁷²⁻⁷⁵⁾.

La combinación de mutaciones en NOD2 y alelos *HLA-DRB1*0103* contribuyen a determinar la susceptibilidad y localización de la enfermedad de Crohn^(55,72,76,77). En un estudio reciente de Madrid se ha encontrado que los pacientes portadores del alelo *HLA-DRB1*0103* que son portadores del alelo -169 AG del gen *FCRL3* (relacionado con el Receptor FC) tienen un riesgo mayor de sufrir colitis ulcerosa. Esto sugiere una interacción epistática entre los genes *HLA-DRB1*0103* y *FCRL3-169AG*⁽⁷⁸⁾.

En varias poblaciones se han encontrado asociaciones con genes envueltos en la regulación de la permeabilidad y en la detoxificación. El gen SCL y el haplotipo *SLC22A4/SLC22A5* del cromosoma 5 codifica moléculas envueltas en el transporte de cationes y moléculas como carnitina (OCT-1 y OCT2)⁽⁷⁹⁻⁸²⁾.

Otro gen importante en la determinación de la estructura de las células epiteliales es el *DLG5* en el cromosoma 10, que también se asocia a la enfermedad de Crohn en algunas poblaciones⁽⁸¹⁻⁸⁴⁾.

El gen *MDR1*⁽⁸⁵⁻⁸⁸⁾ y el gen pregnane X receptor (*PXR*)⁽⁸⁹⁾ envueltos en la detoxificación han sido implicados en la patogenia de la colitis ulcerosa y de la enfermedad de Crohn en algunas poblaciones.

Una constelación de nuevos genes que regulan la respuesta innata, la permeabilidad defectuosa y la detoxificación de fármacos y tóxicos son los nuevos elementos que deben ser estudiados para llegar a entender de una forma más completa la susceptibilidad de padecer la EICI⁽²⁰⁾. Algunos de estos genes interactúan con la flora intestinal y otros contribuyen en el control de la regulación de la inflamación intestinal entre las células dendríticas, las interleucinas IL-12, IL-17, IL-23R y factores de transcripción^(90,91).

Importancia de la genética en determinar la base de la asociación de la EICI con otras enfermedades autoinmunes

La EICI se asocia a otras enfermedades autoinmunes, muchas de las cuales pueden considerarse como enfermedades que afectan la barrera epitelial, como es el caso del asma, el eczema atópico y la psoriasis. De hecho, se ha postulado que la enfermedad de Crohn es el ejemplo clásico de las enfermedades que afectan a las barreras del organismo, la mucosa intestinal, la mucosa del sistema respiratorio y la piel⁽⁹²⁾. Los hallazgos de la genética en este sentido han dado lugar a una nueva visión en la patogenia de la enfermedad de Crohn⁽⁹³⁾. Genes implicados en la barrera intestinal y genes que regulan el control de la inflamación son compartidos entre varias enfermedades.

Mutaciones en los genes *ILB12* y *IL23R* frecuentes en la enfermedad de Crohn, también aparecen en pacientes con psoriasis⁽⁹⁴⁾.

Otras enfermedades con formación de granulomas, como la sarcoidosis, que también tienen una etiología multifactorial y poligénica⁽⁹⁵⁾, y se asocian a la enfermedad de Crohn, comparten genes similares. En Japón niños con presentación precoz de sarcoidosis que afecta a la piel, las articulaciones y los ojos, conocido como síndrome de Blau, portan mutaciones del gen *NOD2*. En estos casos la mutación del *NOD2* (Arg334Trp) da lugar a un aumento de la producción de NFκB en vez de disminuirla, como es el caso en la enfermedad de Crohn en sujetos Caucásicos⁽⁹⁶⁾. En la sarcoidosis del adulto se ha encontrado una asociación con

el gen *TLR4*⁽⁹⁷⁾. También en este caso las mutaciones en este gen son diferentes de las encontradas en la enfermedad de Crohn.

Un estudio reciente en 382 pacientes con enfermedad de Crohn, 398 pacientes con sarcoidosis y 394 controles, utilizando una plataforma con 83.360 SNPs, encontraron 24 genes con asociación significativa. Estos 24 SNPs se volvieron a estudiar en 660 pacientes con la enfermedad de Crohn, 657 con sarcoidosis y 1.091 controles. Este estudio desembocó en el descubrimiento de un gen en el cromosoma 10 (10p12.2) (rs1398024) que es compartido por pacientes que padecen la enfermedad de Crohn y los que padecen sarcoidosis⁽⁹⁸⁾, explicando parte de la asociación frecuente entre ambas enfermedades.

Influencia de la genética en la investigación de la patogenia. Nuevas vías de regulación inmune intestinal

Además de los hallazgos descritos anteriormente con relación a la importancia de los genes *ILB12* e *IL23R*, la genética ha demostrado la enorme complejidad de las vías que controlan la respuesta inflamatoria. La redundancia de diferentes genes que controlan las tres vías de respuesta de células T (Th1, Th2 y Th17) y sus citoquinas específicas, influyen también en la variabilidad fenotípica de estas enfermedades.

En la encefalitis experimental las respuestas Th1 corresponden a grupos de pacientes con patogenia diferente a los que responden predominantemente con células Th17⁽⁹⁹⁾. En la artritis reumatoide el valor de las células Th17 en la patogenia de la inflamación articular sugiere un cambio en el paradigma clásico Th1/Th2 a Th17/Treg^(100, 101).

En la enfermedad de Crohn la IL-23 es el regulador "más-ter" de la inflamación intestinal por su papel importante en la producción de IL-17⁽¹⁰²⁾. Por tanto, también en la enfermedad de Crohn el paradigma clásico Th1/Th2 tendrá que ser modificado. La IL-17 sirve de puente en la regulación que existe entre la inmunidad innata y la inmunidad adquirida⁽¹⁰³⁾.

La contribución de la genética en este campo sugiere que el desarrollo de terapias moleculares dirigidas a la regulación del receptor de la IL-23 podría ser una diana terapéutica por intervenir en la regulación de Th17, de la misma forma que la terapia biológica con el anti-TNF en la regulación de Th1 ha contribuido de una manera espectacular en un subgrupo de pacientes con recidivas graves de enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (Figura 1).

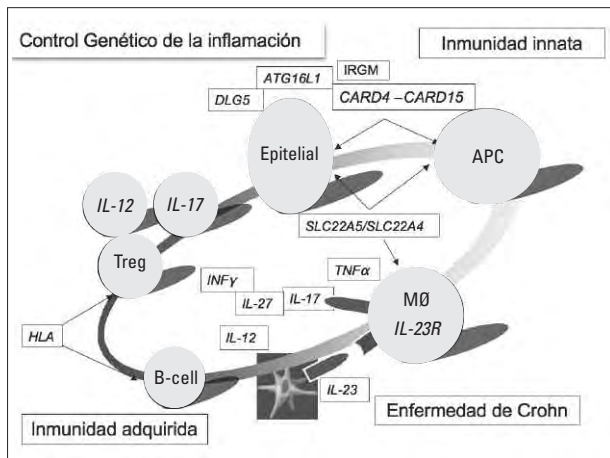


Figura 1. La importancia de la genética en la regulación de la inflamación en la enfermedad de Crohn demuestra la complejidad y redundancia del sistema inmunitario intestinal. Los defectos en los elementos que determinan la inmunidad innata sugieren que la flora intestinal, microorganismos y tóxicos ambientales son necesarios para estimular el sistema y defectos en la inmunidad adquirida dan lugar a la cronicidad de la inflamación. En la figura se distinguen los genes más importantes que están involucrados en este proceso.

Significado de las variaciones alélicas en el diagnóstico

El valor en el diagnóstico de pacientes con EICI de las variaciones alélicas es muy limitado, debiéndose al bajo riesgo que confieren de padecer la enfermedad. Esta es una característica de todas las enfermedades crónicas multifactoriales y poligénicas, en las que varios genes contribuyen a determinar el riesgo de susceptibilidad, siendo la interacción de estos genes con factores ambientales la que da lugar a la enfermedad.

El riesgo relativo de cada uno de los genes involucrados es significativo, pero únicamente reproducible cuando los grupos de pacientes y los controles sobrepasan el número de 1.000 individuos, como se ha visto en los estudios recientes de rastreo del genoma humano.

¿Cómo mejorar el valor de la genética en el diagnóstico?

Estudios recientes sugieren la posibilidad de utilizar una serie de marcadores genéticos seleccionados por medio de perfiles de expresión, en biopsias intestinales, facilitando el diagnóstico diferencial entre colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y el síndrome de colon irritable⁽¹⁰⁴⁾.

Un estudio sueco basado en una tecnología de Biología molecular complicada y novedosa consiste, brevemente, en aislar ARN de biopsias intestinales de áreas de infla-

mación y áreas normales. Por medio de hibridación con ADN complementario (cADN) entre los tejidos inflamados (marcados específicamente) y no inflamados con técnicas de supresión y sustracción, es posible aislar secuencias específicas del tejido inflamado. Estas secuencias de ADN se amplían por medio de PCR, pudiendo determinarse qué genes están aumentados y cuáles están disminuidos en el tejido inflamado. Con técnicas de alto rendimiento de rastreo de 10.000 clones se pudieron identificar 357 genes individuales que mostraron diferencias entre colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. De estos, se aislaron 60 genes de mayor expresión y finalmente se redujeron a 7 los genes que fueron capaces de discriminar entre la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa: *SLC6A14*, *SLC26A2*, *GRO-α*, *MMP-7*, *SPAP*, *Reg IV* y *Vanin-1*. En un estudio prospectivo de validación, estos 7 genes han servido de biomarcadores y permitieron clasificar a los pacientes en enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o síndrome de colon irritable.

Estos resultados necesitan confirmación en otras poblaciones, pero es posible que este acercamiento novedoso, además de darnos un mejor conocimiento de los genes que regulan la inflamación, permitirá la clasificación de estas enfermedades.

Todavía falta mucho por esclarecer, de momento cada enfermedad (la enfermedad de Crohn del colon, la colitis ulcerosa, la colitis colágena, la diverticulitis, la colitis infecciosa y la úlcera solitaria rectal) tiene una firma específica de expresión.

Nuevas técnicas de genómica, transcriptoma y metagenómica de la flora intestinal nos darán nuevos biomarcadores que nos permitirán mejorar el diagnóstico diferencial en casos de gran heterogeneidad clínica utilizando técnicas menos invasivas como muestras de heces o de suero. Estos biomarcadores tendrán mayor sensibilidad y especificidad que los actuales, ya que estarán basados en las señales de los mecanismos básicos específicos de inflamación intestinal.

¿Cómo mejorar el valor de la genética en el pronóstico?

La complejidad de las bases genéticas de la enfermedad inflamatoria intestinal hace que las pruebas genéticas convencionales sean demasiado costosas y resulten poco prácticas.

Nuevos instrumentos como El IBDchip® (Progenika) permiten un cribado rápido y rentable de un gran número de mutaciones de una forma simultánea. En estudios preliminares el IBDchip® genotipó 102 mutaciones en 63 genes polimórficos asociados a la EICI. Esta tecnología ha

demostrado unos coeficientes de especificidad y sensibilidad por encima del 99,7% respecto a las mutaciones comprobadas.

Un nuevo IBDchip® con un número mayor de mutaciones validadas en múltiples estudios está siendo analizado en varias poblaciones de pacientes europeos que han sido seleccionados con criterios estrictos, inclu-

yendo un seguimiento de por lo menos 10 años de evolución, tanto de Crohn como de colitis ulcerosa; los resultados se conocerán a mediados del 2009.

Uno de los objetivos es poder predecir el curso de la enfermedad, de forma que el clínico podrá seleccionar a los pacientes para terapias biológicas u otras, de una manera más racional que la actual.

Bibliografía

- Scheuner MT, Sieverding P, Shekelle PG. Delivery of genomic medicine for common chronic adult diseases: a systematic review. *JAMA* 2008;299:1320-34.
- Ginsburg GS. Genomic Medicine: 'Grand challenges' in the translation of genomics to human health. *Eur J Hum Genet* 2008;16:873-4.
- Rosenberg JL, Kraft SC, Kirsner JB. Inflammatory bowel disease in all three members of one family. *Gastroenterology* 1976;70:759-60.
- Weterman IT, Pena AS. Familial incidence of Crohn's disease in The Netherlands and a review of the literature. *Gastroenterology* 1984;86:449-52.
- Lashner BA, Evans AA, Kirsner JB, Hanauer SB. Prevalence and incidence of inflammatory bowel disease in family members. *Gastroenterology* 1986;91:1396-400.
- Spehlmann ME, Begun AZ, Burghardt J, Lepage P, Raedler A, Schreiber S. Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:968-76.
- * Halfvarson J, Jess T, Bodin L, Jarnerot G, Munkholm P, Binder V, et al. Longitudinal concordance for clinical characteristics in a Swedish-Danish twin population with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:1536-44.
Observaciones en gemelos univitelinos y dicigóticos con EICI
- Orholm M, Binder V, Sorensen TI, Rasmussen LP, Kyvik KO. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1075-81.
- Thompson NP, Driscoll R, Pounder RE, Wakefield AJ. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *Bmj* 1996;312:95-6.
- Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988;29:990-6.
- Russell RK, Satsangi J. IBD: a family affair. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18:525-39.
- Peeters M, Nevens H, Baert F, Hiele M, de Meyer AM, Vlietinck R, et al. Familial aggregation in Crohn's disease: increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics. *Gastroenterology* 1996;111:597-603.
- * Vermeire S, Satsangi J, Peeters M, Parkes M, Jewell DP, Vlietinck R, Rutgeerts P. Evidence for inflammatory bowel disease of a susceptibility locus on the X chromosome. *Gastroenterology* 2001;120:834-40.
Estudio que puede ser la base del predominio de hijas con EICI cuando uno de los padres sufre la enfermedad.
- Bennett RA, Rubin PH, Present DH. Frequency of inflammatory bowel disease in offspring of couples both presenting with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991;100:1638-43.
- Laharie D, Debeugny S, Peeters M, Van Gossum A, Gower-Rousseau C, Belaiche J, et al. Inflammatory bowel disease in spouses and their offspring. *Gastroenterology* 2001;120:816-9.
- Habeeb MA, Rajalingam R, Dhar A, Kumar A, Sharma MP, Mehra NK. HLA association and occurrence of autoantibodies in Asian-Indian patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1997;92:772-6.
- * Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugier L. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379:821-3.
Estudio clásico del descubrimiento del cromosoma 16 como portador de gen de susceptibilidad en la enfermedad de Crohn.
- Satsangi J, Parkes M, Louis E, Hashimoto L, Kato N, Welsh K, et al. Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet* 1996;14:199-202.
- * Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007;447:661-78.
Estudio que se convertirá en clásico del valor de rastreo del genoma humano en enfermedades comunes con tecnología de alto rendimiento y valor de colaboración de diversos grupos.
- * Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008.
Estudio que demuestra el carácter multigénico de la enfermedad de Crohn y abre nuevas rutas de investigación.
- Evans DM, Barrett JC, Cardon LR. To what extent do scans of non-synonymous SNPs complement denser genome-wide association studies? *Eur J Hum Genet* 2008;16:718-23.
- * Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, Gwilliam R, Bumpstead S, Prescott NJ, et al. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nat Genet* 2008;40:710-2.
Primeros genes específicos para la colitis ulcerosa son encontrados y otros genes comunes entre la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn.
- * Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, et al. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet* 2008;40:1319-23.
Segundo estudio de rastreo del genoma humano demostrando genes específicos para la colitis ulcerosa y el valor de la interleucina 10 en la colitis ulcerosa.
- Ting JP, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, et al. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity* 2008;28:285-7.
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001;357:1925-8.
- * Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:599-603.
Estudio clásico del descubrimiento del primer gen de susceptibilidad en la enfermedad de Crohn
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:603-6.
- Viala J, Sansonetti P, Philpott DJ. Nods and 'intracellular' innate immunity. *C R Biol* 2004;327:551-5.

29. Inohara N, Chamailard M, McDonald C, Nunez G. NOD-LRR Proteins: Role in Host-Microbial Interactions and Inflammatory Disease. *Annu Rev Biochem* 2004.
30. Aldhous MC, Nimmo ER, Satsangi J. NOD2/CARD15 and the Paneth cell: another piece in the genetic jigsaw of inflammatory bowel disease. *Gut* 2003;52:1533-5.
31. Grimm MC, Pavli P. NOD2 mutations and Crohn's disease: are Paneth cells and their antimicrobial peptides the link? *Gut* 2004;53:1558-60.
- 32.*Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, et al. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 2003;125:47-57.
- 33.*Ogura Y, Lala S, Xin W, Smith E, Dowds TA, Chen FF, et al. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. *Gut* 2003;52:1591-7.
Implicación de las células de Paneth en la expresión de NOD2.
34. De Jager PL, Franchimont D, Waliszewska A, Bitton A, Cohen A, Langelier D, et al. The role of the Toll receptor pathway in susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Genes Immun* 2007;8:387-97.
- 35.*Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006;314:1461-3.
Primera identificación del gen IL23R en la EICI.
36. Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, et al. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 2006;203:2473-83.
37. Kullberg MC, Jankovic D, Feng CG, Hue S, Gorelick PL, McKenzie BS, et al. IL-23 plays a key role in Helicobacter hepaticus-induced T cell-dependent colitis. *J Exp Med* 2006;203:2485-94.
38. Tremelling M, Cummings F, Fisher SA, Mansfield J, Gwilliam R, Keniry A, et al. IL23R variation determines susceptibility but not disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007;132:1657-64.
39. Tremelling M, Parkes M. Genome-wide association scans identify multiple confirmed susceptibility loci for Crohn's disease: lessons for study design. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:1554-60.
- 40.*Massey DC, Parkes M. Genome-wide association scanning highlights two autophagy genes, ATG16L1 and IRGM, as being significantly associated with Crohn's disease. *Autophagy* 2007;3:649-51.
Estudio de confirmación de genes involucrados en autofagia en la enfermedad de Crohn.
41. Prescott NJ, Fisher SA, Franke A, Hampe J, Onnie CM, Soars D, et al. A nonsynonymous SNP in ATG16L1 predisposes to ileal Crohn's disease and is independent of CARD15 and IBD5. *Gastroenterology* 2007;132:1665-71.
- 42.*Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, et al. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007;39:830-2.
Primera identificación del gen IRGM en la enfermedad de Crohn. Segundo gene implicado en autofagia.
43. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Drummond HE, Smith L, Anderson NH, et al. Autophagy gene ATG16L1 influences susceptibility and disease location but not childhood-onset in Crohn's disease in Northern Europe. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:338-46.
44. Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schaffeler E, Schlee M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004;53:1658-64.
- 45.*Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:18129-34.
Se describe el papel de la defensinas como determinación de localización en la enfermedad de Crohn.
- 46.*Wehkamp J, Wang G, Kubler I, Nuding S, Gregorieff A, Schnabel A, et al. The Paneth Cell (alpha)-Defensin Deficiency of Ileal Crohn's Disease Is Linked to Wnt/Tcf-4. *J Immunol* 2007;179:3109-18.
Se determina un gen primario específico de predisposición para Crohn ileal en la vía Wnt y Tcf-4 importante para la diferenciación de células de Paneth
- 47.*Fellermann K, Stange DE, Schaeffeler E, Schmalz H, Wehkamp J, Bevins CL, et al. A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. *Am J Hum Genet* 2006;79:439-48.
Primer ejemplo de alteraciones en el número de copias de un gen como predisposición de enfermedad.
48. Pena AS. [The significance of CARD15 mutations in Crohn's disease. The Spanish contribution] El Significado de las mutaciones de CARD15 en la enfermedad de Crohn. La contribución Española. *Rev Esp Enferm Dig* 2007;99:563-9.
49. King K, Bagnall R, Fisher SA, Sheikh F, Cuthbert A, Tan S, et al. Identification, evolution, and association study of a novel promoter and first exon of the human NOD2 (CARD15) gene. *Genomics* 2007.
50. Lesage S, Zouali H, Cezard JP, Colombel JF, Belaiche J, Almer S, et al. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002;70:845-57.
- 51.*Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JP. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol* 2004;99:2393-404.
Estudio que define la frecuencia geográfica de las mutaciones del NOD2.
52. De Diego C, Alcantara M, Valle J, Perez-Grueso MJ, Munoz-Rosas C, Carroles JM, et al. Frequency of CARD15 polymorphisms in patients with Crohn's disease from Toledo, Spain: genotype-phenotype correlation. *Genet Test* 2006;10:178-85.
53. Heresbach D, Gicquel-Douabin V, Birebent B, D'Halluin P N, Heresbach-Le Berre N, Dreano S, et al. NOD2/CARD15 gene polymorphisms in Crohn's disease: a genotype-phenotype analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:55-62.
54. Crawford NP, Colliver DW, Eichenberger MR, Funke AA, Kolodko V, Cobbs GA, et al. CARD15 genotype-phenotype relationships in a small inflammatory bowel disease population with severe disease affection status. *Dig Dis Sci* 2007;52:2716-24.
- 55.*Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, Marshall SE, Orchard TR, et al. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;122:854-66.
Estudio pionero de clasificación molecular de la enfermedad de Crohn basado en marcadores genéticos.
56. Wehkamp J, Schmid M, Fellermann K, Stange EF. Defensin deficiency, intestinal microbes, and the clinical phenotypes of Crohn's disease. *J Leukoc Biol* 2005;77:460-5.
57. Dassopoulos T, Frangakis C, Cruz-Correa M, Talor MV, Burek CL, Datta L, et al. Antibodies to saccharomyces cerevisiae in Crohn's disease: higher titers are associated with a greater frequency of mutant NOD2/CARD15 alleles and with a higher probability of complicated disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:143-51.
58. Brant SR, Wang MH, Rawsthorne P, Sargent M, Datta LW, Nouvet F, et al. A population-based case-control study of CARD15 and other risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2007;102:313-23.
59. de Diego C, Alcantara M, Valle J, Repiso A, Carroles JM, Martinez-Castro P. Influence of smoking habits and CARD15 mutations on the onset of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:1209-11.
60. Laine ML, Farre MA, Garcia-Gonzalez MA, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, et al. [Risk factors in adult periodontitis: polymorphism in the interleukin-1 gene family]. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2002;109:303-6.
61. Laine ML, Murillo LS, Morre SA, Winkel EG, Pena AS, van Winkelhoff AJ. CARD15 gene mutations in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004;31:890-3.
62. Birrenbach T, Bocker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:848-59.

63. McGilligan VE, Wallace JM, Heavey PM, Ridley DL, Rowland IR. The effect of nicotine in vitro on the integrity of tight junctions in Caco-2 cell monolayers. *Food Chem Toxicol* 2007;45:1593-8.
64. McGilligan VE, Wallace JM, Heavey PM, Ridley DL, Rowland IR. Hypothesis about mechanisms through which nicotine might exert its effect on the interdependence of inflammation and gut barrier function in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:108-15.
65. Hugot JP, Zaccaria I, Cavanaugh J, Yang H, Vermeire S, Lappalainen M, et al. Prevalence of CARD15/NOD2 mutations in Caucasian healthy people. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1259-67.
66. Chamaillard M, Jacob R, Desreumaux P, Colombel JF. Advances and perspectives in the genetics of inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:143-51.
67. Silverberg MS. The time has come for NOD2/CARD15 testing for families with Crohn's disease: pro. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:504-6.
68. van Heel DA, Hunt KA, King K, Ghosh S, Gabe SM, Mathew CG, et al. Detection of muramyl dipeptide-sensing pathway defects in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:598-605.
69. Odes S, Friger M, Vardi H, Claessens G, Bossuyt X, Riis L, et al. Role of ASCA and the NOD2/CARD15 mutation Gly908Arg in predicting increased surgical costs in Crohn's disease patients: a project of the European Collaborative Study Group on Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:874-81.
- 70.* Seiderer J, Brand S, Herrmann KA, Schnitzler F, Hatz R, Crispin A, et al. Predictive value of the CARD15 variant 1007fs for the diagnosis of intestinal stenoses and the need for surgery in Crohn's disease in clinical practice: results of a prospective study. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:1114-21.
Estudio que define el valor clínico de las mutaciones del NOD2.
71. van Heel DA, Dechairo BM, Dawson G, McGovern DP, Negro G, Carey AH, et al. The IBD6 Crohn's disease locus demonstrates complex interactions with CARD15 and IBD5 disease-associated variants. *Hum Mol Genet* 2003;12:2569-75.
72. Orchard TR, Chua CN, Ahmad T, Cheng H, Welsh KI, Jewell DP. Uveitis and erythema nodosum in inflammatory bowel disease: clinical features and the role of HLA genes. *Gastroenterology* 2002;123:714-8.
73. Orchard TR, Dhar A, Simmons JD, Vaughan R, Welsh KI, Jewell DP. MHC class I chain-like gene A (MICA) and its associations with inflammatory bowel disease and peripheral arthropathy. *Clin Exp Immunol* 2001;126:437-40.
- 74.* Orchard TR, Thiyagaraja S, Welsh KI, Wordsworth BP, Hill Gaston JS, Jewell DP. Clinical phenotype is related to HLA genotype in the peripheral arthropathies of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000;118:274-8.
Estudio que define la región HLA como marcador de artropatías en enfermos con EICI.
75. Orchard TR, Wordsworth BP, Jewell DP. Peripheral arthropathies in inflammatory bowel disease: their articular distribution and natural history. *Gut* 1998;42:387-91.
76. Fernández L, Mendoza JL, Martínez A, Urcelay E, Fernández-Arquero M, García-Paredes J, et al. IBD1 and IBD3 determine location of Crohn's disease in the Spanish population. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:715-22.
77. Newman B, Silverberg MS, Gu X, Zhang Q, Lazaro A, Steinhart AH, et al. CARD15 and HLA DRB1 alleles influence susceptibility and disease localization in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2004;99:306-15.
78. Martínez A, Nunez C, Martín MC, Mendoza JL, Taxonera C, Diaz-Rubio M, et al. Epistatic interaction between FCRL3 and MHC in Spanish patients with IBD. *Tissue Antigens* 2007;69:313-7.
- 79.* Newman B, Gu X, Wintle R, Cescon D, Yazdanpanah M, Liu X, et al. A risk haplotype in the Solute Carrier Family 22A4/22A5 gene cluster influences phenotypic expression of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005;128:260-9.
Estudio que implica marcadores genéticos como susceptibilidad de EICI y expresión fenotípica.
80. Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, Amos CI, Huang Q, Gu X, et al. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet* 2004;36:471-5.
81. Torok HP, Glas J, Tonenchi L, Lohse P, Muller-Myhsok B, Limbersky O, et al. Polymorphisms in the DLG5 and OCTN cation transporter genes in Crohn's disease. *Gut* 2005;54:1421-7.
82. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T, Ichimori T, Saito S, Lida A, et al. Association analysis of SLC22A4, SLC22A5 and DLG5 in Japanese patients with Crohn disease. *J Hum Genet* 2004;49:664-8.
- 83.* Stoll M, Corneliusen B, Costello CM, Waetzig GH, Mellgard B, Koch WA, et al. Genetic variation in DLG5 is associated with inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2004;36:476-80.
Primer estudio que implica un gen del epitelio en la EICI.
84. Browning BL, Annesse V, Barclay ML, Bingham SA, Brand S, Buning C, et al. Gender-stratified analysis of DLG5 R30Q in 4707 patients with Crohn disease and 4973 controls from 12 Caucasian cohorts. *J Med Genet* 2008;45:36-42.
85. Ho GT, Nimmo ER, Tenesa A, Fennell J, Drummond H, Mowat C, et al. Allelic variations of the multidrug resistance gene determine susceptibility and disease behavior in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2005;128:288-96.
86. Potocnik U, Ferkolj I, Glavac D, Dean M. Polymorphisms in multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with refractory Crohn disease and ulcerative colitis. *Genes Immun* 2004;5:530-9.
- 87.* Glas J, Torok HP, Schiemann U, Folwaczny C. MDR1 gene polymorphism in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2004;126:367.
Define la importancia del gen MDR1 en la colitis ulcerosa.
88. Gazouli M, Zacharatos P, Gorgoulis V, Mantzaris G, Papalambros E, Ikonomopoulos J. The C3435T MDR1 gene polymorphism is not associated with susceptibility for ulcerative colitis in Greek population. *Gastroenterology* 2004;126:367-9.
89. Dring MM, Goulding CA, Trimble VI, Keegan D, Ryan AW, Brophy KM, et al. The pregnane X receptor locus is associated with susceptibility to inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2006;130:341-8; quiz 592.
90. Annunziato F, Cosmi L, Santarasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007;204:1849-61.
91. Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science* 2007;317:256-60.
- 92.* Schreiber S, Rosenstiel P, Albrecht M, Hampe J, Krawczak M. Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease. *Nat Rev Genet* 2005;6:376-88.
Excelente revisión con una nueva visión sobre enfermedades de las barreras del organismo
93. Pena AS. Contribution of genetics to a new vision in the understanding of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006;12:4784-7.
- 94.* Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, Garcia VE, Brandon R, Callis KP, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007;80:273-90.
Otro ejemplo de genes idénticos en enfermedades asociadas a la EICI.
95. Muller-Quernheim J, Schurmann M, Hofmann S, Gaede KI, Fischer A, Prasse A, et al. Genetics of sarcoidosis. *Clin Chest Med* 2008;29:391-414, viii.
96. Kanazawa N. [Clinical features of Blau syndrome and early-onset sarcoidosis and associating CARD15/NOD2 gene mutations]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2007;30:123-32.
97. Schurmann M, Kwiatkowski R, Albrecht M, Fischer A, Hampe J, Muller-Quernheim J, et al. Study of Toll-like receptor gene loci in sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 2008;152:423-31.
- 98.* Franke A, Fischer A, Nothnagel M, Becker C, Grabe N, Till A, et al. Genome-wide association analysis in sarcoidosis and Crohn's disease unravels a common susceptibility locus on 10p12.2. *Gastroenterology* 2008;135:1207-15.
Otro ejemplo de genes idénticos en enfermedades asociadas a la EICI.

99. Kroenke MA, Carlson TJ, Andjelkovic AV, Segal BM. IL-12- and IL-23-modulated T cells induce distinct types of EAE based on histology, CNS chemokine profile, and response to cytokine inhibition. *J Exp Med* 2008;205:1535-41.
100. Lubberts E. IL-17/Th17 targeting: on the road to prevent chronic destructive arthritis? *Cytokine* 2008;41:84-91.
101. Boissier MC, Assier E, Falgarone G, Bessis N. Shifting the imbalance from Th1/Th2 to Th17/treg: the changing rheumatoid arthritis paradigm. *Joint Bone Spine* 2008;75:373-5.
102. *Neurath MF. IL-23: a master regulator in Crohn disease. *Nat Med* 2007;13:26-8.
- Editorial que señala el valor de la vía de la interleucina IL-23 en la enfermedad de Crohn.*
103. Yu JJ, Gaffen SL. Interleukin-17: a novel inflammatory cytokine that bridges innate and adaptive immunity. *Front Biosci* 2008;13:170-7.
104. *von Stein P, Lofberg R, Kuznetsov NV, Gielen AW, Persson JO, Sundberg R, et al. Multigene analysis can discriminate between ulcerative colitis, Crohn's disease, and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2008;134:1869-81; quiz 2153-4.
- Estudio pionero con nueva tecnología del valor de la expresión de múltiples genes marcadores de inflamación intestinal como biomarcadores para el diagnóstico diferencial de enfermedades inflamatorias del aparato digestivo.*