

Trabajo de Fin de Grado en Farmacia

FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS CON LA ENFERMEDAD DE CROHN

Autora

Raquel Hernández Afonso

Directores

Dr. Mario A. González Carracedo

Dra. María del Mar del Pino Yanes

Curso académico 2019/2020

ÍNDICE

ABSTRACT	3
RESUMEN	4
PALABRAS CLAVE	4
ABREVIATURAS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1 Enfermedad Inflamatoria Intestinal.	6
1.1.1 Patogénesis y estrategias terapéuticas.	6
1.1.2 Incidencia de la EII y evolución de la evidencia científica.	8
1.2 Implicaciones ambientales en la EII.	9
1.3 Implicaciones genéticas en la EII.	9
2. OBJETIVOS	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS	11
4. RESULTADOS	12
4.1 <i>NOD2</i> (Nucleotide binding Oligomerization Domain containing 2).	12
4.2 <i>ATG16L1</i> (Autophagy related 16 Like 1)	13
4.3 <i>IRGM</i> (Immunity Related GTPase M).	14
4.4 <i>LRRK2</i> (Leucine-Rich Repeat Kinase 2).	15
4.5 <i>ATG7</i> (Autophay Related 7).	16
5. DISCUSIÓN	18
6. CONCLUSIONES	19
7. REFERENCIAS	20

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Diseases (IBD) are mainly constituted by ulcerative colitis and Crohn's disease (CD), which represents chronic autoimmune conditions that affect the homeostasis of the intestinal mucosa. The causes related of IBD remain unclear. However, recent studies have shown that both genetic background and environmental factors are involved in the pathogenesis of IBDs. In this sense, in the past years genome-wide association studies have identified numerous alleles associated with the risk of CD.

In this work, a bibliography search has been carried out in order to identify the most important genes and genetic variants associated with CD, as well as the evidences that supports their relationship with the disease. Results showed that *NOD2*, *ATG16L1*, *IRGM*, *LRRK2* and *ATG7* genes represent the most important candidates to be involved in CD pathogenesis and development. Moreover, genetic variants in these genes associated with CD have been identified, and the molecular mechanisms in which these genes are involved have been studied.

KEYWORDS

Inflammatory Bowel Diseases, Crohn, genes, autophagy, microbiota.

RESUMEN

Las Enfermedades Inflammatorias Intestinales (EII) están constituidas principalmente por la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (EC), tratándose de enfermedades crónicas y autoinmunes, que causan una alteración de la homeostasis en la mucosa intestinal. Las causas de las EII continúan siendo desconocidas. Sin embargo, es sabido que tanto factores genéticos como medioambientales respaldan la patogénesis de la enfermedad. En este sentido, en los últimos años, gracias a los estudios de asociación del genoma completo se ha conseguido identificar numerosos alelos que suponen un incremento del riesgo de padecer la EC.

En este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica con el objetivo de identificar aquellos genes y variantes genéticas, asociados con la EC, así como de estudiar las evidencias científicas que respaldan su relación con la enfermedad. Los resultados indican que los genes *NOD2*, *ATG16L1*, *IRGM*, *LRRK2* y *ATG7* representan los candidatos más importantes involucrados en la patogénesis y el desarrollo de la EC. Además, se ha identificado las principales variantes de estos genes asociadas con la EC, y se ha estudiado los mecanismos moleculares en los que están implicados.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad Inflammatoria Intestinal, Crohn, genes, autofagia, microbiota.

ABREVIATURAS

AIEC	<i>Adherent-invasive E.coli</i>
ATG16L1	<i>Autophagy related 16 Like 1 Gene</i>
ATG7	<i>Autophagy related 7</i>
ATG7^{IEC-KO}	<i>ATG7 intestinal-epithelial cells knockout</i>
CASP3	Caspasa 3
CLI	Célula Linfoide Innata
CU	Colitis Ulcerosa
EC	Enfermedad de Crohn
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
EP	Enfermedad de Parkinson
GWAS	Estudio de asociación de genoma completo, del inglés <i>Genome-wide Association Study</i>
IFN-γ	Interferón gamma
IL-12	Interluquina – 12
IL-17	Interluquina – 17
IL-1β	Interluquina-1 beta
IL-23	Interluquina – 23
IRGM	<i>Immunity Related GTPase M</i>
LRRK2	<i>Leucine Rich Repeat Kinase 2</i>
MDP	Muramil dipéptido
MHC-II	Complejo mayor de histocompatibilidad 2
NFAT	Factor nuclear de células T activadas
NLR	<i>Nod Like Receptor</i>
NOD2	<i>Nucleotide binding Oligomerization Domain containing 2</i>
PRR	<i>Pattern Recogn</i>
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SNP	Polimorfismo de nucleótido único, del inglés <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> ()
TH17	T – Helper 17

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

Las Enfermedades Inflamatorias Intestinales (EII) son un grupo de enfermedades entre las que se incluyen principalmente la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU). Se trata de enfermedades autoinmunes, crónicas y debilitantes, que presentan episodios reiterados de inflamación gastrointestinal. La CU afecta a la mucosa intestinal superficial, empezando desde el recto hasta el colon, mientras que la EC puede afectar a cualquier parte del tracto gastrointestinal, desde la mucosa bucal hasta el recto, siendo más común en la zona del íleon terminal y la región perianal (1,2).

La sintomatología más importante incluye fundamentalmente diarrea, pero puede causar además rectorragia, fístulas, abscesos y úlceras anales, dolor abdominal y pérdida de peso (**Fig. 1A**).

1.1.1 Patogénesis y estrategias terapéuticas.

La patogénesis de la enfermedad se relaciona con una alteración de la homeostasis intestinal, originando un daño en el propio intestino producido por una respuesta autoinmune desproporcionada. Las causas de la enfermedad siguen siendo parcialmente desconocidas, aunque se piensa que el conjunto de factores genéticos, medioambientales y el conjunto de microorganismos que habitan el intestino (microbiota intestinal) dañan el sistema inmune del hospedador, dando lugar a la enfermedad (3).

La región afectada abarca principalmente la mucosa intestinal, debido a una sobreactivación de la respuesta inmunológica vía linfocitos Th-1 (Th-1), lo que se asocia con un aumento de los niveles de interleucina 12 (IL-12) e interferón gamma (IFN- γ), como mecanismo de defensa frente a dicha alteración de la microbiota intestinal (3). Por ello, se ha propuesto que una inhibición de las rutas de señalización celular que desencadenan esta sobreexcitación puede ser una estrategia útil para tratar la EII (4). Dicho tratamiento está basado en una estrategia escalonada, de manera que para los casos más leves se prescribe un tratamiento antibiótico, corticosteroides o

aminosalicilatos (5-ASA) y para casos más graves se recurre a la cirugía o a terapia biológica (**Fig. 1B**).

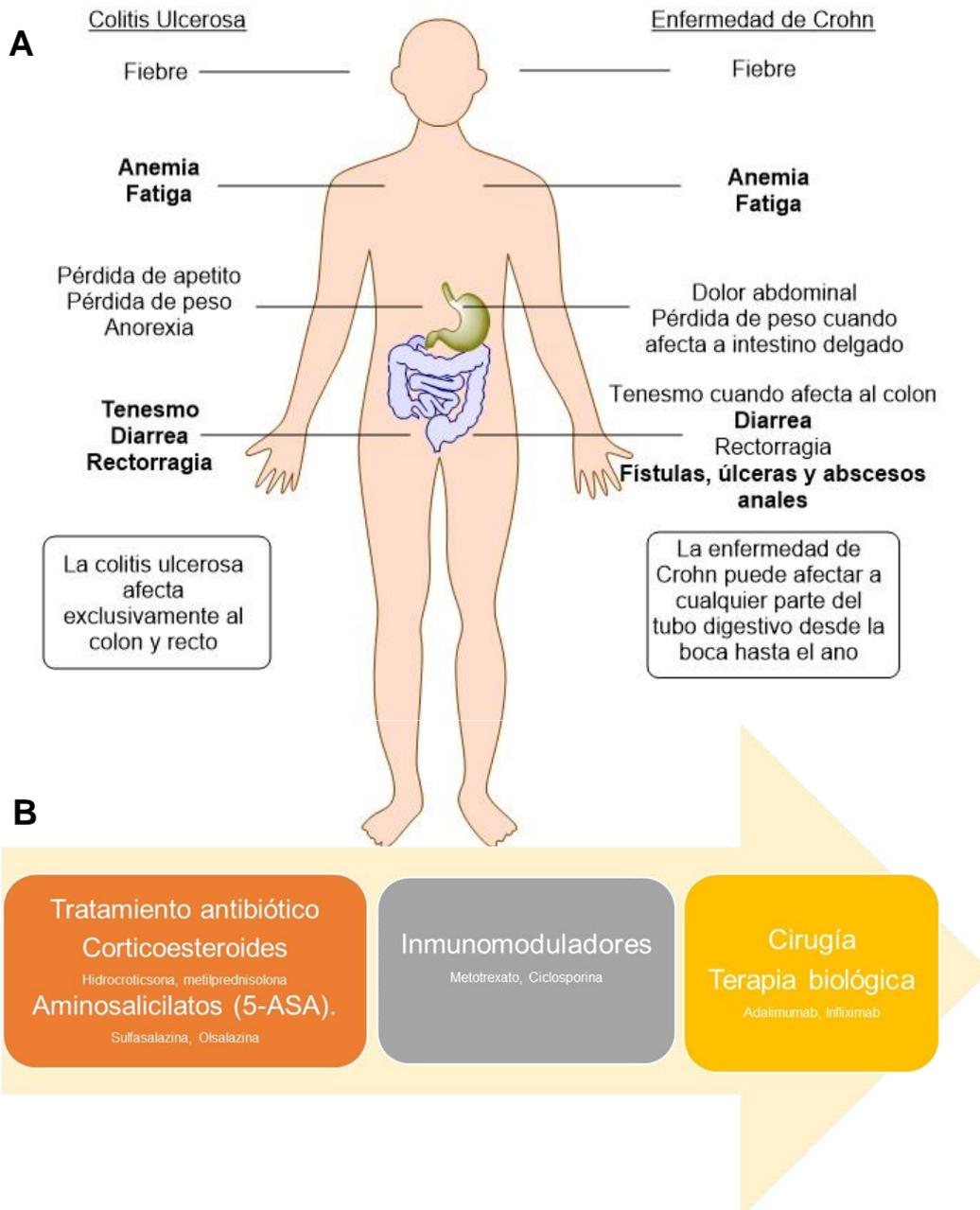


Figura 1. Sintomatología y tratamiento de las EII. A) Sintomatología asociada a las principales EII. La diferencia fundamental entre ambas es la aparición de fistulas, úlceras y abscesos anales en la EC, así como las zonas afectadas por la enfermedad, pudiendo esta dañar cualquier parte del tubo digestivo (5). B) Principales estrategias terapéuticas para el tratamiento de las EII. En los casos más leves de la enfermedad se prescribe un tratamiento antibiótico, corticosteroides o aminosalicilatos (5-ASA), mientras que para los casos de mayor gravedad, se hace uso de terapia biológica y cirugía (6).

1.1.2 Incidencia de la EI y evolución de la evidencia científica.

Las EI son consideradas enfermedades presentes a nivel mundial, cuya prevalencia se encuentra por encima del 0.3% en América del Norte, Oceanía y muchos países de Europa. Aunque numerosos estudios han informado de una cierta disminución en la incidencia de la EI en América del Norte y Europa desde 1990, su incidencia ha ido en aumento en países recientemente industrializados de África, Asia y América del Sur, incluidos Brasil y Taiwán (7).

Sin embargo, en los últimos 20 años el estudio de la enfermedad ha evolucionado de manera considerable, tal como se indica en la **Figura 2**. La consulta en bases de datos especializadas como *PubMed* indica que han sido publicados un total de 38.455 trabajos, de los cuales 13.223 han sido publicados en los últimos 5 años (**Fig. 2A**). Por otra parte, respecto a la bibliografía general disponible en bases de datos como *Google Scholar* se ha observado un incremento del 362% entre los años 1999 y 2013 (**Fig. 2B**).

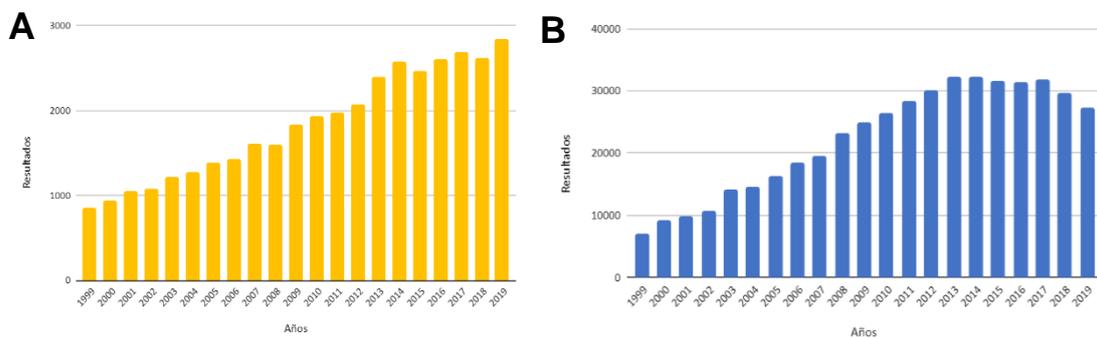


Figura 2. Evolución del estudio de la enfermedad de Crohn en los últimos 20 años. A) Según la base de datos *PubMed*, el número de trabajos científicos publicados ha ido en aumento desde el año 1999, alcanzando un total de 38.455 publicaciones acumuladas hasta 2019. B) Según la base de datos *Google Scholar* se puede observar un crecimiento a lo largo de estos años que termina estabilizándose entre los años 2012 y 2019.

Por lo tanto, gracias al elevado esfuerzo científico llevado a cabo en las últimas décadas, ha sido posible desentrañar parcialmente las principales causas de la EI, estando estas relacionadas con factores ambientales y genéticos, las cuales se discutirán a continuación.

1.2 Factores ambientales implicados en la EII.

A pesar de que en las últimas décadas se han identificado numerosas variantes genéticas de riesgo asociados con la EII, también es cierto que los factores ambientales afectan en gran medida al desarrollo de la enfermedad, especialmente en aquellos pacientes que presentan esta predisposición genética (8). Como se ha mencionado, las alteraciones en la composición de la microbiota intestinal, principalmente cuando dichas modificaciones conllevan una disminución de la diversidad bacteriana, suponen la base principal para el desarrollo de la EII (9). De hecho, la evidencia científica permite afirmar que el entorno influye de manera decisiva a lo largo de toda la vida del paciente, pudiendo provocar esta alteración en la composición la microbiota intestinal, así como la desregulación de sus funciones inmunitarias (10).

A raíz de estas conclusiones se ha desarrollado la “hipótesis de la higiene”, que propone que una exposición limitada a patógenos durante la infancia perjudica al desarrollo del sistema inmunitario. Asimismo, dichos estudios afirman una relación entre la excesiva higiene infantil y el riesgo a desarrollar la enfermedad (11).

Entre los factores ambientales que contribuyen al progreso de la enfermedad, el hábito de fumar sigue siendo el factor más estudiado. Los fumadores tienen el doble de probabilidades de desarrollar EC que los no fumadores. Esto se debe, una vez más, a las alteraciones inducidas por el tabaquismo en la microbiota intestinal (10).

1.3 Factores genéticos involucrados en la EII.

En los últimos años, la introducción de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS, del inglés *genome-wide association study*) ha dado lugar a un gran avance en la identificación de las bases genéticas asociadas a la EII, identificando numerosos polimorfismos de nucleótido único (SNPs, del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) relacionados con la enfermedad (2). En ellos, se compara la frecuencia de aparición de los nucleótidos alternativos de un SNP en individuos que presentan (casos) o no una enfermedad (controles). Gracias a los GWAS se han asociado más de 70 *loci* (posición de

un determinado gen o secuencia de ADN dentro del cromosoma) con la EC (12).

Los GWAS han puesto de manifiesto el posible papel de ciertas rutas de señalización celular en la patogénesis de la EC, como la autofagia, la vía de las interleucinas 17/23 (IL-17/IL-23) y las vías de señalización asociadas a las células linfoides innatas (CLIs) (3). Estudios recientes sugieren que la autofagia podría jugar un papel clave en el desarrollo de la enfermedad (12), dado que se ha observado que existen variantes de genes relacionados con la autofagia que podrían aumentar la susceptibilidad de padecer la enfermedad (4). Sin embargo, dado este elevado número de genes asociados con la EII, es necesario identificar aquellos que presenten una mayor evidencia científica que apoye su papel en el desarrollo de la EC.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo ha consistido en llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre las bases genéticas asociadas con la EC para identificar aquellos genes y variantes genéticas que pudieran presentar una mayor relevancia en la aparición y el desarrollo de dicha enfermedad.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar, se realizó una búsqueda en la base de datos PubMed (13) que se encuentra alojada dentro del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (14). Dicha búsqueda se llevó a cabo en el mes de febrero de 2020, utilizando las palabras “*Crohn AND genes*”. Además, se limitó a revisiones bibliográficas que hubieran sido publicadas en el año 2019. Se realizó la lectura del resumen de cada revisión y se seleccionaron aquellas que se centraran en el estudio de los genes relacionados con la EC.

Seguidamente, se llevó a cabo otra búsqueda en la base de datos PubMed, introduciendo los términos “*Crohn AND GWAS*”. Se limitó a revisiones bibliográficas publicadas desde 2018.

Finalmente, se realizó una última búsqueda de revisiones bibliográficas en PubMed, introduciendo los términos “*IRGM AND Crohn*”. Esta vez, se amplió la búsqueda hasta el año 2016.

En todos los casos, se revisaron además aquellas referencias citadas en las publicaciones consultadas, que fueran de interés.

4. RESULTADOS

Mediante una búsqueda en PubMed se han identificado un total de 17 revisiones científicas sobre genes relacionados con la EC, cuyos resultados más relevantes indican que los genes *NOD2*, *ATG16L1*, *IRGM*, *LRRK2* y *ATG7* son los candidatos que presentan una mayor probabilidad de estar implicados en el desarrollo de dicha enfermedad. Por otra parte, en una segunda búsqueda, esta vez ampliada a revisiones sobre GWAS relacionados con la EC, se identificaron un total de 19 publicaciones, que sugieren la relación de más de 70 *loci* en el desarrollo de la EC, incluyendo la identificación de numerosos SNPs (3).

A continuación, se discuten los aspectos más relevantes de cada uno de los genes identificados en estas búsquedas bibliográficas, mientras que la información más importante se resume en la **Tabla 1**.

4.1 *NOD2*

El marcador genético más estudiado en relación con la EII, y específicamente con la EC, es el gen *NOD2* (de sus siglas en inglés *Nucleotide binding Oligomerization Domain containing 2*). Este gen forma parte de la familia Nod1/Apaf-1 y es considerado actualmente como el *locus* de riesgo más importante para el desarrollo de la EII (9). *NOD2* codifica una proteína originalmente descrita como un receptor intracelular de tipo PRR (*Pattern Recognition Receptor*), perteneciente a la familia de los receptores tipo NOD (*Nod Like Receptors*, NLRs), cuya función es el reconocimiento del muramil dipéptido (MDP), un componente proteico contenido en la pared celular de las bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (15). *NOD2* se expresa tanto en células hematopoyéticas, como por ejemplo linfocitos, macrófagos, células dendríticas o mastocitos, como en células no hematopoyéticas, donde se incluye a eritrocitos, células de Paneth, células caliciformes y células madre (9).

A nivel de la mucosa intestinal, se considera esencial para el mantenimiento de la homeostasis de la barrera intestinal. Cuando la proteína *NOD2*, también conocida como *NLRC2*, reconoce el MDP, provoca la

activación del factor nuclear κ B (NF- κ B) y la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) que estimula la producción de citoquinas y péptidos antimicrobianos (AMPs) por las células de Paneth, activando la respuesta inmune (3,12). Por lo tanto, un defecto en el reconocimiento de patógenos causado por mutaciones en el gen *NOD2*, provocaría una inadecuada eliminación de patógenos, seguida de una estimulación constante del sistema inmune y la consiguiente elevación de niveles de citoquinas, aumentando la susceptibilidad a padecer la enfermedad.

Las mutaciones más comunes en el gen *NOD2* que han sido asociadas con la EC (Arg702Trp [rs2066844], Gly908Arg [rs2066845] y Leu1007fsinsC [rs41450053]) (17,18) alteran principalmente la región C-terminal de la proteína, que consiste en un dominio de repetición rico en leucina, el cual se requiere para la detección microbiana (19). Estos polimorfismos, sin embargo, se asocian a un aumento del riesgo de EC únicamente en la población caucásica, dado que en otros grupos poblacionales no han podido reproducir estos resultados (8).

4.2 ATG16L1

Otro de los genes relacionados con un incremento en la susceptibilidad de padecer EC es el gen *ATG16L1* (*Autophagy related 16 Like 1*), que parece tener un importante papel en el proceso de autofagia. La autofagia es un proceso de reciclado celular, mediante el que componentes citoplasmáticos, principalmente agregados de proteínas y orgánulos dañados, son fagocitados por autofagosomas para su posterior degradación, manteniendo la homeostasis intracelular (3,12). La función de *ATG16L1* consiste en interaccionar con el conjugado *ATG5-ATG12*, para orientar el lugar de formación del autofagosoma hacia la membrana plasmática (20).

Además, la autofagia también desempeña una importante función en la degradación de patógenos, proceso conocido como xenofagia. De manera que una autofagia desregulada puede conducir a diversos trastornos inflamatorios, inmunológicos y metabólicos (3). De hecho, Cadwell y colaboradores demostraron que, en ratones con baja expresión del gen *ATG16L1* en las

células de Paneth, se presentan defectos en la vía de exocitosis de los gránulos producidos por estas células, influyendo, por tanto, en la liberación de AMPs hacia la luz intestinal (21).

La variación genética en *ATG16L1* también está asociada con el riesgo de EII en poblaciones étnicamente diversas (10). Varios estudios afirman que los pacientes portadores del alelo de riesgo rs2241880 presentan características patológicas, como gránulos desorganizados o tinción difusa de la lisozima citoplasmática en las células de Paneth (21). Esta variante produce una disminución en la cantidad de proteína dentro de las células, debido a una mayor susceptibilidad frente a los procesos de degradación mediados por caspasa-3 (CASP3) (22). Este hecho se traduce en una deficiencia en el proceso inflamatorio, llevando a cabo una eliminación defectuosa de patógenos y un aumento en la producción de citoquinas (22).

Además, se ha establecido una posible relación entre los genes *ATG16L1* y *NOD2*, ya que el producto del gen *NOD2* interactúa con *ATG16L1* durante la formación del autofagosoma (20). El polimorfismo rs41450053 del gen *NOD2*, mencionado anteriormente, provoca un fallo en la eliminación de bacterias intracelulares por un defecto en el reclutamiento de *ATG16L1* hacia la membrana plasmática, causando una deficiencia en la presentación del antígeno mediado por el complejo mayor de histocompatibilidad II (MHCII) (23). Por último, cabe destacar que, al igual que en el caso del *NOD2*, no se ha podido evidenciar que aumente la susceptibilidad en pacientes asiáticos (12).

4.3 IRGM

El gen *IRGM* (*Immunity Related GTPase M*) y sus variantes también se han asociado con un incremento en la susceptibilidad de padecer EC. La proteína *IRGM* es un de la familia GTPasa inducible por interferón, que se expresa en el intestino delgado, intestino grueso y linfocitos. Desempeña un importante papel en la autofagia de patógenos intracelulares, concretamente *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella typhimurium* y AIEC (*Adherent-invasive E. coli*), patógenos que se han asociado a la EC (24).

Mediante un estudio reciente se puso de manifiesto que la IRGM1 murina, de entre los 20 tipos de IRG que existen en ratones, juega un papel importante en la autofagia de *M. tuberculosis* (12). Por tanto, en base a esta similitud, se piensa que la función del gen *IRGM* consiste en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, pues se pudo observar que los ratones con una baja expresión del gen presentaban células de Paneth anormales, así como inflamación de íleon y colon tras exponerse a sustancias químicas (25).

Tras los estudios GWAS, se ha logrado identificar al gen *IRGM* como un locus de riesgo en el desarrollo de la EC, no solo por un incremento en las probabilidades de padecerla, sino también por un aumento de la gravedad de la misma, produciendo afectaciones ileales y fístulas llegando a la necesidad de someter al paciente a cirugía (26). Mediante un meta-análisis se puso de manifiesto que la variante rs13361189, se encuentra relacionada tanto con la CU como con la EC (25). Se trata de un polimorfismo de eliminación de 20,1 kb, localizado corriente arriba del gen *IRGM* que produce una disminución del nivel de expresión de este gen, lo que podría dar lugar a un deterioro en la autofagia y la eliminación de los patógenos mencionados (27).

Sin embargo, todavía existe un debate sobre si estas variantes del gen afectan verdaderamente a la autofagia, puesto que se ha observado activación normal de la autofagia en las células Paneth en pacientes con EC, aun presentando las variantes de *IRGM* asociadas con la susceptibilidad a la EC (12). Además, tal y como ocurre con los genes anteriores, estas asociaciones han sido estadísticamente muy significativas en población europea, mientras que la asociación no está tan clara en la población asiática (26).

4.4 LRRK2

El gen *LRRK2* (*Leucine-Rich Repeat Kinase 2*) es un miembro de la familia de las kinasas con repeticiones ricas en leucina (LRR) y codifica una proteína que se expresa en los monocitos CD14+, inducidos por IFN- γ , que se encargan de suprimir la reacción mediante la inhibición de la transcripción del factor nuclear de células T activadas (NFAT) que activa la expresión de genes inflamatorios (28).

Se trata del principal gen causante de la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, precisamente por esto, la mayoría de los estudios se han centrado en sistema nervioso (12). Más adelante, mediante los GWAS se averiguó que podía tener relación con la enfermedad. No obstante, el mecanismo por el cual aumenta la susceptibilidad del paciente de padecer la enfermedad no se conoce en profundidad (10). Se pudo observar que en tejidos intestinales inflamados de pacientes con EC los niveles de *LRRK2* eran elevados, especialmente en macrófagos de la lámina propia, células dendríticas y linfocitos B.

En base a los resultados de un estudio reciente, se ha puesto de manifiesto que los portadores de dos copias del alelo de riesgo N1081D tuvieron una edad de inicio de la enfermedad 6 años más temprana en comparación con los no portadores, así como un predominio de afectación ileal. (29,30).

4.5 ATG7

El gen *ATG7* (*Autophagy Related 7*) codifica una enzima esencial en el proceso de autofagia, ya que facilita la formación del autofagosoma a través de dos sistemas de conjugación similares a la ubiquitina. Asimismo, la enzima *ATG7* interviene activado a la *ATG12* para su conjugación con *ATG5* para el proceso de autofagia (12). En este punto es necesario aclarar el papel de la ubiquitina, siendo esta una proteína con diversas funciones entre las que destaca la degradación de proteínas en el proteasoma. El sistema de ubiquitinación está formado por tres enzimas la E1, de activación, la E2, de conjugación y, por último, la E3, de ligación.

La función de *ATG7* se ha conseguido comprender gracias al uso de ratones *knockout* para este gen (*ATG7^{EC-KO}*), en células epiteliales intestinales. En estos ratones se produce una patología similar a la EC en el íleon, con células de Paneth que presentan una excreción anormal de los gránulos, siendo estos de menor tamaño y con menor cantidad de lisozimas. Además, también se observó un aumento en la expresión de TNF- α e IL-1 β en respuesta al

lipopolisacárido de bacterias Gram negativas, en comparación a los ratones del grupo control (21).

Tabla 1. Principales genes relacionados con la enfermedad de Crohn.

Gen	Función	Variantes	Riesgo aumentado	Refs.
<i>NOD2</i>	Reconocimiento de muramil dipéptido (MDP) presente en pared celular de bacterias.	rs2066844 rs2066845 rs41450053	Error en el reconocimiento de patógenos.	3, 8, 9, 12, 15, 17, 18, 19.
<i>ATG16L1</i>	Interacción con <i>ATG5-ATG12</i> en la formación del autofagosoma	rs2241880	Desregulación de la autofagia, eliminación defectuosa de patógenos y aumento de la producción de citoquinas	3, 10, 12, 20, 21, 22, 23.
<i>IRGM</i>	Mantenimiento de la homeostasis intestinal	rs13361189	Autofagia defectuosa y eliminación de patógenos intracelulares.	12, 24, 25, 26, 27.
<i>LRRK2</i>	Suprimir la respuesta inflamatoria	N/D	Enfermedad más temprana	10, 12 29, 30.
<i>ATG7</i>	Formación del autofagosoma	N/D	Susceptibilidad de padecer EC en ratones con colitis inducida	12, 21.

5. DISCUSIÓN

Las EII son enfermedades autoinmunes que afectan a la mucosa intestinal, causando episodios recurrentes de inflamación y diarreas. Su tratamiento es costoso y se basa en una estrategia escalonada que puede culminar en cirugía (**Fig. 1**), afectando a 3 de cada 1000 personas a nivel mundial. Actualmente, se está llevando a cabo un gran esfuerzo científico para determinar las causas de dichas patologías (**Fig. 2**), que parecen estar relacionadas con la regulación de la homeostasis de la microbiota intestinal, presentando un componente genético importante. Por ello, las EII podrían considerarse enfermedades cuyas causas genéticas son multigénicas y multifactoriales.

Estudios recientes han asociado más de 70 *loci* con la EC (12), sin embargo, el estudio funcional de estos genes y sus variantes a nivel molecular es del todo inviable, lo que requiere identificar aquellos genes que presentan mayor probabilidad de estar relacionados con esta patología, para así centrar los esfuerzos en su caracterización funcional a nivel molecular. El presente trabajo ha permitido priorizar aquellos genes que parecen tener un papel importante en el desarrollo de la EC (**Tabla 1**). De esta manera se ha podido corroborar, en distintas revisiones de una gran variedad de autores, una similitud en cuanto a los genes más importantes asociados con el desarrollo de esta enfermedad.

Los dos genes para los que existe una mayor evidencia científica que apoya su relación con la EC son *NOD2* y *ATG16L1*, existiendo coincidencias en cuanto al riesgo que suscitan determinadas variantes de estos genes respecto a la población estudiada. Asimismo, se han identificado otros genes investigados en menor profundidad, y que no todos los autores incluyen en sus revisiones. Este es el caso de *IRGM*, *LRRK2* y *ATG7*, para los que se requiere profundizar en el papel que llevan a cabo en la enfermedad, lo que podría ayudar a comprender mejor las causas de la EC a nivel molecular.

6. CONCLUSIONES

1. Los genes *NOD2*, *ATG16L1*, *IRGM*, *LRRK2* y *ATG7*, en este orden, son los que poseen una mayor evidencia científica que apoya su relación con la enfermedad.
2. El gen *NOD2*, implicado en el reconcomiendo del muramil dipéptido bacteriano, es el que presenta mayor evidencia de llevar a cabo un papel clave en el desarrollo de la EC, presentando al menos tres variantes de riesgo (rs2066844, rs2066845 y rs41450053).
3. El gen *ATG16L1* representa el segundo gen más estudiado, debido a su papel en la autofagia, y se ha identificado una única variante de riesgo asociada con el desarrollo de EC (rs2241880).
4. Los genes *IRGM*, *LRRK2* y *ATG7* parecen estar implicados en la patogénesis de la EC, aunque la evidencia científica que respalda esta asociación es limitada.

7. REFERENCIAS

1. Shapiro JM, Subedi S, LeLeiko NS. Inflammatory bowel disease [Internet]. Vol. 37, Pediatrics in Review. American Academy of Pediatrics; 2016 [citado 30 de abril de 2020]. p. 337-47. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27482063/>
2. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. World J Gastroenterol [Internet]. 7 de enero de 2014 [citado 14 de mayo de 2020];20(1):91-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3886036/>
3. Verstockt B, Smith KG, Lee JC. Genome-wide association studies in Crohn's disease: Past, present and future: Past [Internet]. Vol. 7, Clinical and Translational Immunology. Wiley-Blackwell; 2018 [citado 15 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5822399/>
4. Ke P, Shao BZ, Xu ZQ, Chen XW, Liu C. Intestinal autophagy and its pharmacological control in inflammatory bowel disease [Internet]. Vol. 7, Frontiers in Immunology. Frontiers Media S.A.; 2017 [citado 1 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5220102/>
5. La enfermedad de Crohn [Internet]. [citado 24 de junio de 2020]. Disponible en: <https://accuesp.com/crohn-y-colitis/la-enfermedad/crohn>
6. Tratamiento para la enfermedad de crohn | NIDDK [Internet]. [citado 20 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-digestivas/enfermedad-crohn/tratamiento>
7. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies - The Lancet [Internet]. [citado 5 de mayo de 2020]. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32448-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32448-0/fulltext)
8. Zhao M, Burisch J. Impact of Genes and the Environment on the Pathogenesis and Disease Course of Inflammatory Bowel Disease. Dig Dis Sci [Internet]. 2019;64(7):1759-69. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05648-w>
9. Schoultz I, Keita Å. Cellular and Molecular Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease—Focusing on Intestinal Barrier Function. Cells [Internet]. 22 de febrero de 2019 [citado 16 de abril de 2020];8(2):193. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30813280>
10. Imhann F, Vich Vila A, Bonder MJ, Fu J, Gevers Di, Visschedijk MC, et al. Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and

clinical presentation of inflammatory bowel disease. Gut [Internet]. 1 de enero de 2018 [citado 6 de mayo de 2020];67(1):108-19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5699972/>

11. Cholapranee A, Ananthakrishnan AN. Environmental Hygiene and Risk of Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-analysis. Inflamm Bowel Dis [Internet]. 10 de agosto de 2016 [citado 6 de mayo de 2020];22(9):2191-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4992453/>
12. Kim S, Eun HS, Jo E-K. Roles of Autophagy-Related Genes in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. Cells [Internet]. 21 de enero de 2019 [citado 16 de abril de 2020];8(1):77. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30669622>
13. PubMed [Internet]. [citado 22 de junio de 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
14. National Center for Biotechnology Information [Internet]. [citado 22 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
15. Zhang Y-Z. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. World J Gastroenterol [Internet]. 7 de enero de 2014 [citado 14 de mayo de 2020];20(1):91. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v20/i1/91.htm>
16. Al Nabhani Z, Dietrich G, Hugot J-P, Barreau F. Nod2: The intestinal gate keeper. 2017;
17. 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 [Internet]. 31 de mayo de 2001 [citado 26 de mayo de 2020];411(6837):603-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11385577/>
18. Association of NOD2 Leucine-Rich Repeat Variants With Susceptibility to Crohn's Disease - PubMed [Internet]. [citado 26 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11385576/>
19. Cho JH, Brant SR. Recent insights into the genetics of inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2011;140(6):1704-1712.e2.
20. Sorbara MT, Ellison LK, Ramjeet M, Travassos LH, Jones NL, Girardin SE, et al. The Protein ATG16L1 Suppresses Inflammatory Cytokines Induced by the Intracellular Sensors Nod1 and Nod2 in an Autophagy-Independent Manner. 2013 [citado 17 de junio de 2020]; Disponible en: <http://dx>.
21. Cadwell K, Patel KK, Komatsu M, Virgin IV HW, Stappenbeck TS. A common role for Atg16L1, Atg5 and Atg7 in small intestinal Paneth cells and Crohn disease. Autophagy [Internet]. 16 de febrero de 2009 [citado 15 de mayo de 2020];5(2):250-2. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2940227/>

22. Murthy A, Li Y, Peng I, Reichelt M, Katakam AK, Noubade R, et al. A Crohn's disease variant in Atg1611 enhances its degradation by caspase 3. *Nature*. 2014;506(7489):456-62.
23. Nguyen HTT, Lapaquette P, Bringer MA, Darfeuille-Michaud A. Autophagy and crohn's disease [Internet]. Vol. 5, *Journal of Innate Immunity*. Karger Publishers; 2013 [citado 24 de junio de 2020]. p. 434-43. Disponible en: </pmc/articles/PMC6741541/?report=abstract>
24. Uniken Venema WT, Voskuil MD, Dijkstra G, Weersma RK, Festen EA. The genetic background of inflammatory bowel disease: from correlation to causality. *J Pathol* [Internet]. 1 de enero de 2017 [citado 19 de junio de 2020];241(2):146-58. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/path.4817>
25. Liu B, Gulati AS, Cantillana V, Henry SC, Schmidt EA, Daniell X, et al. Irgm1-deficient mice exhibit Paneth cell abnormalities and increased susceptibility to acute intestinal inflammation. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 15 de octubre de 2013 [citado 18 de junio de 2020];305(8):G573-84. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00071.2013>
26. Pilla-Moffett D, Barber MF, Taylor GA, Coers J. Interferon-Inducible GTPases in Host Resistance, Inflammation and Disease. Vol. 428, *Journal of Molecular Biology*. Academic Press; 2016. p. 3495-513.
27. McCarroll SA, Huett A, Kuballa P, Chilewski SD, Landry A, Goyette P, et al. Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet*. 2008;40(9):1107-12.
28. Ikezu T, Koro L, Wolozin B, Farraye FA, Strongosky AJ, Wszolek ZK. Crohn's and Parkinson's Disease-Associated LRRK2 Mutations Alter Type II Interferon Responses in Human CD14+ Blood Monocytes Ex Vivo. *J Neuroimmune Pharmacol* [Internet]. 16 de marzo de 2020 [citado 24 de junio de 2020];1-7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11481-020-09909-8>
29. Hui KY, Fernandez-Hernandez H, Hu J, Schaffner A, Pankratz N, Hsu NY, et al. Functional variants in the LRRK2 gene confer shared effects on risk for Crohn's disease and Parkinson's disease. *Sci Transl Med* [Internet]. 10 de enero de 2018 [citado 25 de junio de 2020];10(423). Disponible en: </pmc/articles/PMC6028002/?report=abstract>
30. Gardet A, Benita Y, Li C, Sands BE, Ballester I, Stevens C, et al. LRRK2 Is Involved in the IFN- γ Response and Host Response to Pathogens. *J Immunol* [Internet]. 1 de noviembre de 2010 [citado 21 de junio de 2020];185(9):5577-85. Disponible en: <https://www.jimmunol.org/content/185/9/5577>