

Inmunidad innata gastrointestinal y enfermedad inflamatoria intestinal

ISMAEL CORREA

Unidad de Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Servicio de Gastroenterología. Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Barcelona. España.
Facultad de Medicina. Universidad de los Andes. Santiago de Chile. Chile.

El tracto gastrointestinal es un complejo sistema en el que conviven, por un lado, la mucosa intestinal, con una superficie aproximada de 300-400 m² en el adulto; y la flora del tubo digestivo, que fluctúa entre 10³ y 10¹² microorganismos por gramo de contenido intestinal, según el segmento analizado, la que excede en 10 veces la totalidad de las células somáticas y germinales de nuestro organismo¹.

La estructura que nos separa de la luz intestinal está compuesta por una monocapa celular, dispuesta en forma de criptas y vellosidades. Diversos tipos celulares conforman esta estructura, entre otras: células troncales, células de Pa-

neth, enterocromafines, enterocitos, células M, linfocitos intraepiteliales y células dendríticas. Todas ellas, y coordinadamente, se encargan de desempeñar las diversas funciones de la mucosa gastrointestinal: barrera, regeneración, absorción, secreción, defensa e inmunotolerancia.

La flora está compuesta por, al menos, 500-1.000 especies, aunque su número podría ser mayor a 7.000 especies si el análisis se realiza utilizando técnicas moleculares de ARN ribosomal bacteriano. No obstante, es probable que un número limitado de especies sean las biológicamente más activas, como ocurre en muchos nichos ecológicos. La flora intestinal se caracteriza por ser una población mayoritariamente anaerobia obligada a aumentar su densidad en los segmentos distales del tracto digestivo. Frente a la interpretación clásica, que abogaba por un predominio de una relación de comensalismo (una parte se beneficia y la otra es indiferente), numerosos datos indican que la relación real es de mutualismo¹. De hecho, la microbiota funciona como un órgano metabólico que provee de rutas enzimáticas no presentes en nuestro organismo^{2,3}, contribuye al desarrollo y mantenimiento de órganos linfoides locales y sistémicos^{4,5} y a la homeostasis de la barrera epitelial intestinal⁶.

Puntos clave

- La flora gastrointestinal establece con el organismo una relación de mutualismo. Provee de rutas metabólicas inexistentes, contribuye al desarrollo y el mantenimiento del sistema inmunitario y a la homeostasis de la barrera epitelial intestinal.
- La inmunidad innata gastrointestinal a través de un conjunto de receptores en diversos tipos celulares mantiene la capacidad de generar una respuesta inflamatoria frente a los patógenos y de generar una respuesta de inmunotolerancia frente a la flora gastrointestinal.
- En la etiopatogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal son de vital importancia, entre otras, la interacción de la flora gastrointestinal y un sistema inmunitario innato alterado que genera una respuesta inflamatoria defectuosa frente a la flora.
- Los polimorfismos del gen *NOD2* confieren a los individuos portadores una mayor susceptibilidad para desarrollar enfermedad de Crohn y un fenotipo ileal y estenosante. Funcionalmente, estos polimorfismos producen un defecto en la inmunidad innata intestinal que impide controlar localmente la flora, y se genera así un proceso inflamatorio crónico.
- Los receptores *toll-like* tienen un papel importante en la homeostasis de la mucosa intestinal. Existe una evidencia menor entre los polimorfismos de éstos y la etiopatogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal.

Inmunidad innata y sistema digestivo

La mucosa intestinal tiene la difícil tarea de limitar la respuesta inflamatoria contra la flora y de mantener la habilidad de generar una respuesta inmunitaria contra los microorganismos patógenos. Esto crea una relación de equilibrio dinámico y frágil, entre el sistema inmunitario, la flora y la mucosa intestinal. Por este motivo, al alterarse cualquiera de ellos, puede generarse un proceso inflamatorio agudo o crónico.

El sistema inmunitario innato de la mucosa intestinal, a través de un conjunto de receptores, células y mediadores, es capaz de censar, procesar y generar una respuesta inflamatoria o de inmunotolerancia^{7,8}. Para esto cuenta con un componente celular, en el que destacan, entre otras, las células dendríticas, los macrófagos, los enterocitos, las células M y las células B, que constantemente censan el medio utilizando receptores de inmunidad innata; y ante una señal de peligro generarán una respuesta inflamatoria; o si el microambiente no presenta alteración significativa, crearán señales de inmunotolerancia⁹⁻¹⁴.

Los receptores de la inmunidad innata pertenecen a varias familias proteínicas (receptores *toll-like* (TLR), receptores *nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD), proteínas reconocedoras de peptidoglucano, lectinas-C y otros), que, en conjunto, se conocen como receptores de reconocimiento de patrones, ya que reconocen estructuras conservadas de los microorganismos (liposacáridos, peptidoglucano, etc.). Se caracterizan por estar codificados por genes de la línea germinal (es decir, no son clonales como el receptor de un linfocito), localización ubicua, generar una respuesta inmunitaria rápida, coordinar la respuesta inmunitaria adaptativa y, algunos de ellos, por mediar funciones homeostásicas no inmunitarias de la mucosa intestinal.

Receptores *toll-like*

Se conocen 11 receptores glucoproteínicos transmembrana que pertenecen a la superfamilia de los receptores de la interleucina-1 (IL-1) y que presentan 3 particularidades estructurales: poseer un extremo extracelular rico en leucinas que cumple la función de receptor, un pequeño dominio transmembrana y un segmento citoplasmático homólogo *toll* y receptor de IL-1 (TIR) esencial para activar la cascada de señales intracelular que, interactuando con una serie de adaptadores (MyD88, TRIF, TICAM, TIRAP) y cofactores (IRAK, TRAF, TAB, TAK), activa distintos factores de transcripción nuclear (NF- κ B, factor regulador del interferón 3 [IRF3]) y *mitogen activated protein* (MAP) cinasas, lo que, finalmente, determina la modulación de la transcripción de genes de la respuesta inflamatoria^{15,16} (fig. 1).

Estos receptores son capaces de reconocer diversas estructuras conservadas de los microorganismos (patrones moleculares) e incluso estructuras del huésped (tabla 1). Su localización subcelular puede ser tanto extracelular (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 y TLR6) como intracelular (TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9), lo que permite optimizar la captura de los ligandos.

En la mucosa intestinal, su expresión puede ser constitutiva o inducible. En el epitelio, en forma constitutiva, los receptores TLR2 y TLR4 se expresan en la superficie apical, TLR5 en la basolateral y TLR3 intracelularmente, lo que permite reconocer una amplia gama de productos derivados de patógenos e iniciar así una respuesta inmunitaria a través de la secreción de péptidos antimicrobianos (betadefensinas) y de citocinas proinflamatorias. Las células de Paneth vía TLR9 degranulan su contenido en las criptas, ricas en péptidos antimicrobianos, que, además de su función lítica, son quimiotácticas para cé-

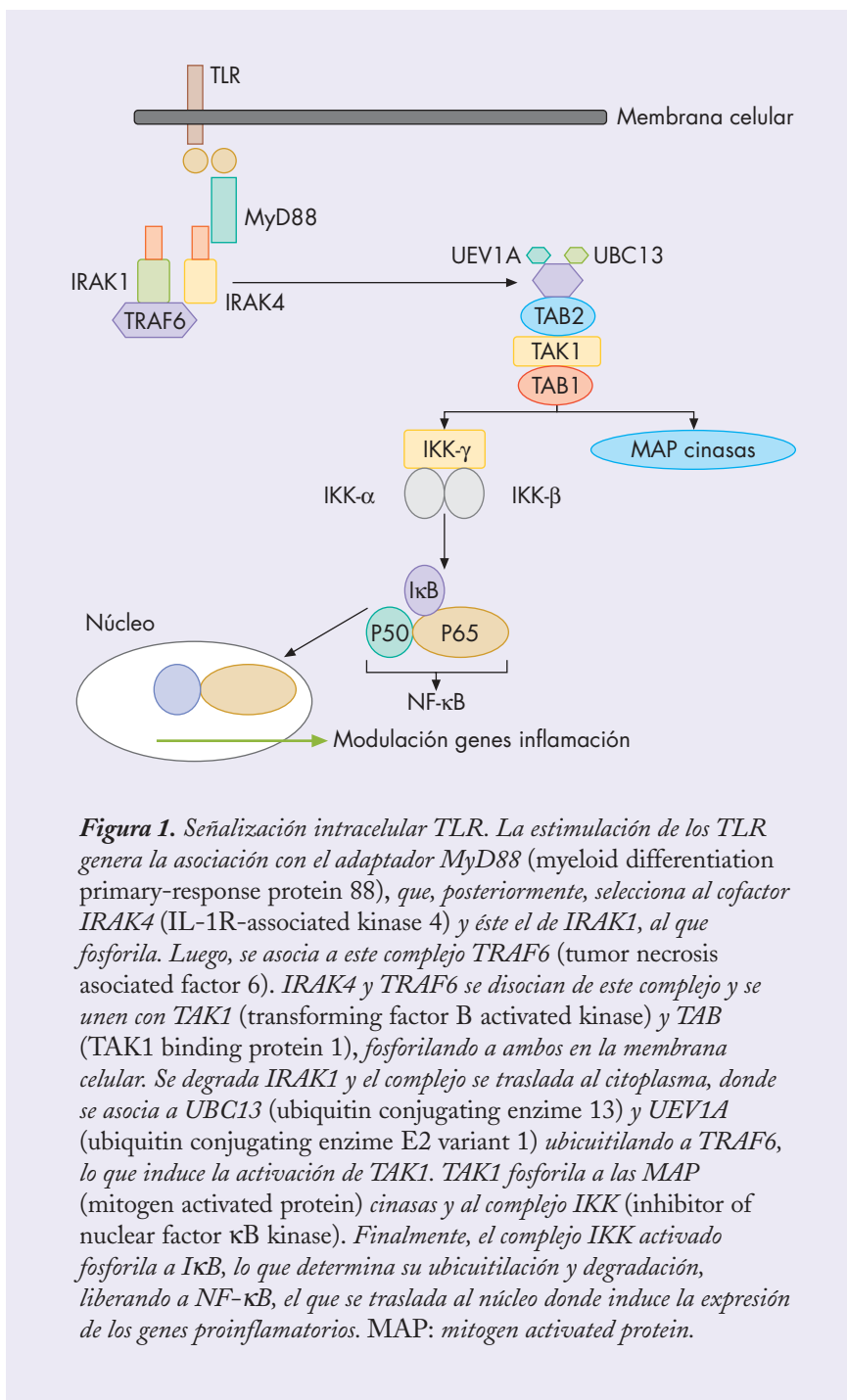


Figura 1. Señalización intracelular TLR. La estimulación de los TLR genera la asociación con el adaptador MyD88 (myeloid differentiation primary-response protein 88), que, posteriormente, selecciona al cofactor IRAK4 (IL-1R-associated kinase 4) y éste el de IRAK1, al que fosforila. Luego, se asocia a este complejo TRAF6 (tumor necrosis associated factor 6). IRAK4 y TRAF6 se disocian de este complejo y se unen con TAK1 (transforming factor B activated kinase) y TAB (TAK1 binding protein 1), fosforilando a ambos en la membrana celular. Se degrada IRAK1 y el complejo se traslada al citoplasma, donde se asocia a UBC13 (ubiquitin conjugating enzyme 13) y UEV1A (ubiquitin conjugating enzyme E2 variant 1) ubiquitinilando a TRAF6, lo que induce la activación de TAK1. TAK1 fosforila a las MAP (mitogen activated protein) cinasas y al complejo IKK (inhibitor of nuclear factor κ B kinase). Finalmente, el complejo IKK activado fosforila a I κ B, lo que determina su ubiquitinilación y degradación, liberando a NF- κ B, el que se traslada al núcleo donde induce la expresión de los genes proinflamatorios. MAP: mitogen activated protein.

lulas dendríticas, monocitos y células T. Las células dendríticas expresan todos los receptores *toll*, lo que produce en éstas, al ser estimuladas, un cambio morfofuncional que las transforma en células presentadoras de antígenos, modulando así la respuesta inmunitaria hacia un patrón predominantemente Th-1, Th-2 o Th-3 (linfocitos T reguladores).

Estos receptores, al interactuar con la flora, tienen un importante papel no inmunitario en la homeostasis de la mucosa intestinal y regulan las uniones intercelulares de la barrera epitelial¹⁷, el equilibrio entre proliferación y diferenciación celular de los enterocitos y la producción de factores protectores para la mucosa, como son la IL-6 y la *heat shock protein 25* y 72, y previenen así el daño de ésta^{6,18}.

Receptores NOD

Los receptores NOD1 o CARD4 (*caspase-recruitment domain*) y NOD2 o CARD15, pertenecen a la familia CATERPILLER (*CARD, transcription enhancer, R [purine]binding, pyrin, lots of leucine repeats*) y se caracterizan, estructuralmente, por presentar 3 dominios: uno aminoterminal efector, que interactúa con una serie de adaptadores (RICK), activando distintos factores de transcripción nuclear (NF- κ B, AP-1 y Elk 1), lo que, finalmente, determina la modulación de genes de la respuesta inflamatoria y de la apoptosis, otro central (NOD) regulador y el carboxiterminal rico en leucinas (LRR), implicado en el reconocimiento del ligando^{19,20} (fig. 2). Ambos receptores son intracelulares: NOD1 tiene una distribución ubicua, en cambio, NOD2 se expresa constitucionalmente en la serie

mielomonocítica, células dendríticas y células de Paneth y en forma inducible en el epitelio intestinal²¹⁻²³. Ambos reconocen pequeños derivados del peptidoglucano, muramildipéptido en el caso de NOD2 y mesoácido diaminopimérico por NOD1. Su estimulación induce la secreción de múltiples mediadores inflamatorios como citocinas, quimiocinas, factores hematopoyéticos y moléculas de adhesión, las que en conjunto modulan la respuesta inflamatoria (fig. 3). En las células de Paneth, el receptor NOD2 está implicado en la secreción de péptidos antibióticos (defensinas).

Los distintos receptores de inmunidad innata interactúan entre sí, lo que genera, en algunas ocasiones, una respuesta sinérgica, o en otras, una respuesta antagónica para secreción de una determinada IL. También la coestimulación permite modular la respuesta y actividad de determinadas células del sistema inmunitario²⁴⁻²⁷. Del resultado de la coestimulación y la interacción con el microambiente (otras citocinas o productos derivados de los mastocitos, enterocitos o fibroblastos) se generará una determinada respuesta inflamatoria^{13,14,28}.

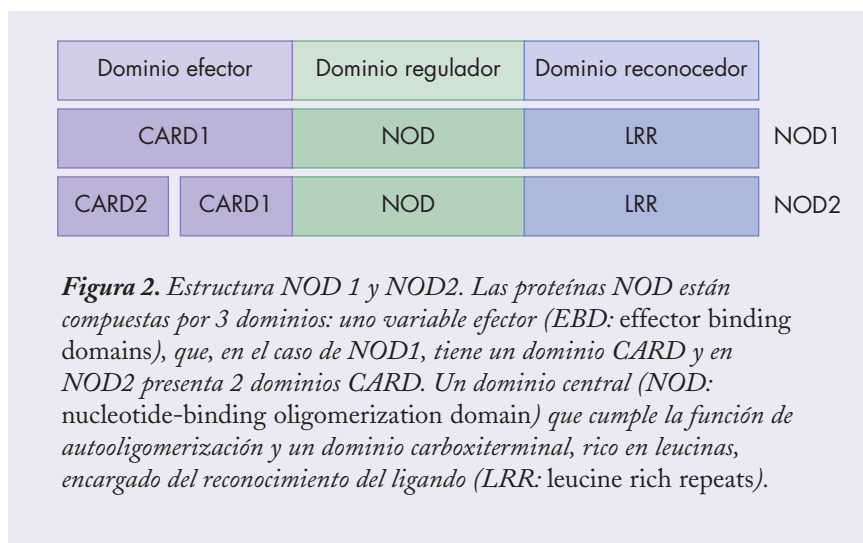


Tabla 1. Receptores toll-like y sus ligandos

Receptor	Ligando	Origen ligando
TLR1	Triacil lipopéptidos	Bacterias y micobacterias
TLR2	Peptidoglucano Ácido lipoteicoico Zymosan Proteína golpe de calor 70	Bacterias grampositivas Bacterias grampositivas Hongos Huésped
TLR3	ARN doble hebra	Virus
TLR4	Lipopolisacáridos Fibrinógeno	Bacterias gramnegativas Huésped
TLR5	Flagelina	Bacteria
TLR6	Diacil lipopéptidos Zymosan	Micoplasma Hongos
TLR7	ARN monocatenario	Virus
TLR8	ARN monocatenario	Virus
TLR9	ADN	Bacterias y virus
TLR10	Sin describir	Sin describir
TLR11	Sin describir	Bacterias uropatógenas

Receptores de inmunidad innata y su implicación clínica en la enfermedad inflamatoria intestinal

Papel de la flora y de los receptores de inmunidad innata en la etiopatogenia y tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal

En la etiopatogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) un elemento esencial en los modelos experimentales para el desarrollo de inflamación es la presencia de la flora en el tracto gastrointestinal, como lo demuestran los experimentos en animales criados en condiciones libres de gérmenes (*germ free*) y en pacientes con enfermedad de Crohn a los que se les realizan cirugías derivativas²⁹⁻³² (fig. 4).

Los modelos murinos deficientes (*knockout*) en algunos TLR o de un adaptador intracelular (MyD88) presentan colitis más graves y una mayor tasa de mortalidad, debido a una deficiente respuesta inflamatoria y a la homeostasis de la mucosa intestinal^{16,18}. Los individuos con determinados polimorfismos para el gen *NOD2* presentan un mayor riesgo de presentar una enfermedad de Crohn, y cuando ésta aparece, de tener una enfermedad ileal, estenosante y de requerir cirugía precozmente³³.

Por último, el tratamiento con antibióticos y probióticos, al menos en un subgrupo de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, desempeña algún papel en la terapia^{34,35}.

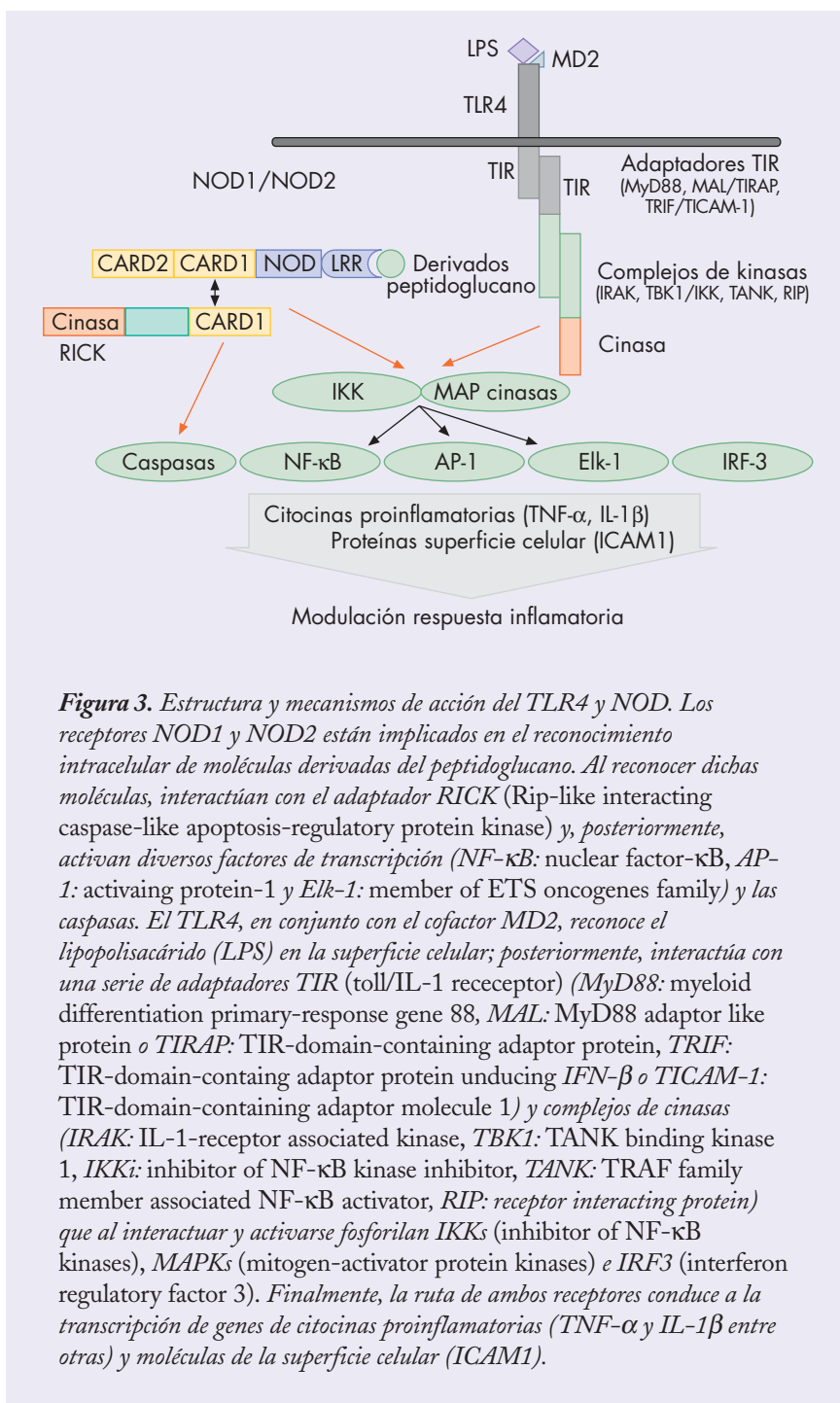
Evidencia epidemiológica del papel etiológico de los polimorfismos del receptor NOD y sus mecanismos etiopatogénicos en la EII

En la historia de la EII, los primeros polimorfismos para los que se tuvo evidencia de su asociación con la enfermedad de Crohn, fueron los del gen *NOD2/CARD15* (R702W, G908R y el 1007fs)^{36,37} que afectan preferentemente a la región LRR encargada en el reconocimiento del ligando y que, funcionalmente, reconoce defectuosamente el muramildipéptido y, por tanto, no activa el NF-κB (fig. 5)³⁸.

Desde el punto de vista clínico, estos polimorfismos confieren a los individuos portadores de un alelo un riesgo relativo para desarrollar la enfermedad de 2 a 4 veces mayor que la población general y, cuando son homocigotos o heterocigotos compuestos, un riesgo relativo de 15 a 40 veces; además, confieren una mayor probabilidad de afectación del íleon terminal y de un fenotipo estenosante^{33,39}. Estos polimorfismos no son del todo suficientes ni necesarios para desarrollar enfermedad de Crohn, dado que, del 60 al 70% de los enfermos no los poseen y, además, del 6 al 19% de la población general son portadores sanos. Por otro lado, hay diferencias poblacionales importantes, dado que los polimorfismos del gen *NOD2*, afectan, preferentemente, a la población caucásica. Es interesante observar una interacción en el patrón fenotípico entre *NOD2* y otros polimorfismos para enfermedad de Crohn. Así, se observa un mayor riesgo relativo en los pacientes portadores de ambos polimorfismos para *NOD2* y *SLC22A-TC* o *NOD2* y *TLR4*, para desarrollar enfermedad de Crohn y un fenotipo estenosante^{40,41}.

Desde el punto de vista de los mecanismos patogénicos por los que estas variantes genéticas determinan susceptibilidad o aspectos fenotípicos, existen diferencias entre los distintos modelos murinos y, como es de prever, con los pacientes afectados estudiados⁴²⁻⁴⁴.

Los pacientes afectados por los polimorfismos presentan una expresión disminuida de las alfadefensinas en las células de Paneth, especialmente en el íleon⁴⁵⁻⁴⁸. Dado que las defensinas son polipéptidos con una potente acción bactericida e inflamatoria⁴⁹, esto podría explicar una alteración en los mecanismos defensivos de la mucosa intestinal, lo



que perpetuaría el proceso inflamatorio localmente. Por su ubicación preferente en el íleon, podría explicar la alta predilección de la enfermedad de Crohn por dicha ubicación. Por otra parte, los pacientes portadores de los polimorfismos presentan una deficiente producción de IL (*TNF*, *IL-1β*, *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*) y quimiocinas (*MCP-1*) cuando sus células mononucleares de sangre periférica son estimuladas con agonistas para *NOD* o coestimuladas con agonistas para *NOD* y *TLR*. Más aún, en estos pacientes se observa una clara relación dosis-respuesta, y es progresivamente decreciente la producción de IL proinflamatorias entre los pacientes control, heterocigotos y homocigotos para las variantes *NOD2*, respectivamente⁵⁰⁻⁵⁴. Esto impediría generar una

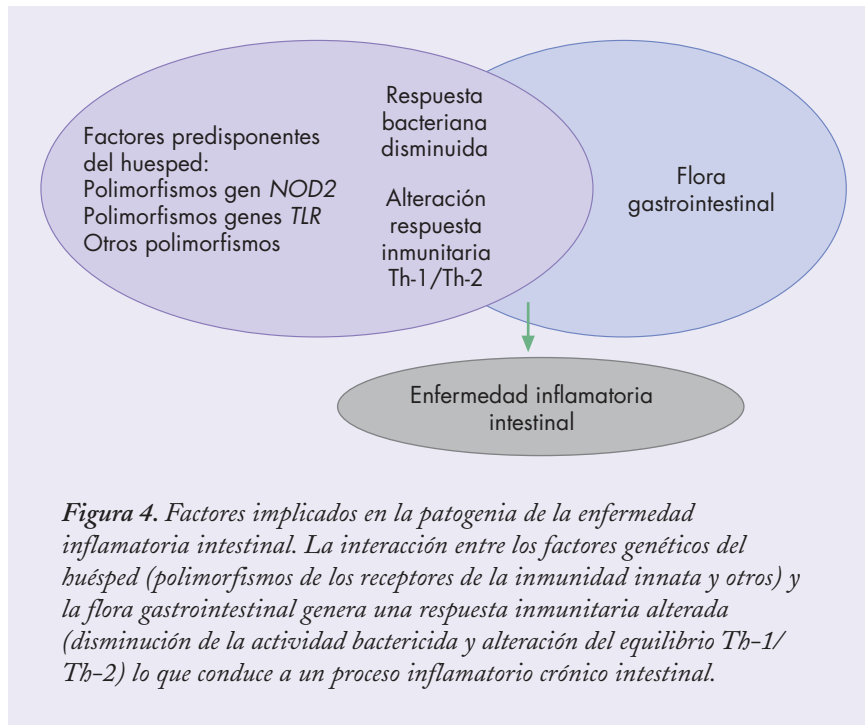


Figura 4. Factores implicados en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal. La interacción entre los factores genéticos del huésped (polimorfismos de los receptores de la inmunidad innata y otros) y la flora gastrointestinal genera una respuesta inmunitaria alterada (disminución de la actividad bactericida y alteración del equilibrio Th-1/Th-2) lo que conduce a un proceso inflamatorio crónico intestinal.

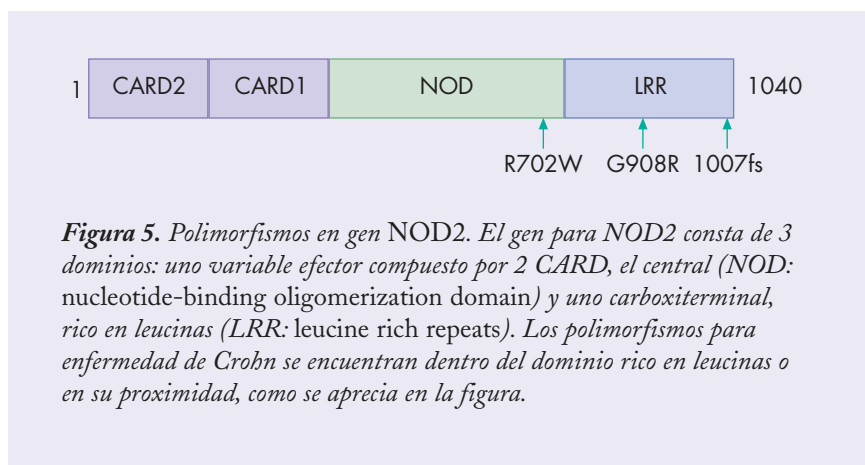


Figura 5. Polimorfismos en gen NOD2. El gen para NOD2 consta de 3 dominios: uno variable efector compuesto por 2 CARD, el central (NOD: nucleotide-binding oligomerization domain) y uno carboxiterminal, rico en leucinas (LRR: leucine rich repeats). Los polimorfismos para enfermedad de Crohn se encuentran dentro del dominio rico en leucinas o en su proximidad, como se aprecia en la figura.

respuesta inflamatoria adecuada para controlar localmente la flora bacteriana, perpetuándose así localmente la inflamación^{6,18}.

Los pacientes con polimorfismos para NOD2 presentan una alteración en la producción de las IL tipo Th-1 y tipo Th-2. En los pacientes homocigotos o heterocigotos compuestos para los polimorfismos de NOD2 sus células mononucleares de sangre periférica, al ser coestimulados con agonistas para TLR2 y muramildipéptido, producen menos IL-10, IL Th-2 antiinflamatoria⁵³. En cambio, sus células dendríticas producen más IL-12 y menos IL-10 al ser coestimulados con agonistas para TLR2 y muramildipéptido, generándose así un desequilibrio a favor de un patrón Th-1 o típicamente inflamatorio^{55,56}.

En definitiva, los polimorfismos para el gen NOD2 producen funcionalmente un defecto en la inmunidad innata que impide generar una respuesta inflamatoria adecuada para controlar localmente la flora o patógenos y, a la vez, coordinar la respuesta inmunitaria adaptativa, favoreciéndose así un proceso inflamatorio crónico.

Evidencia epidemiológica del papel etiológico de los polimorfismos de los receptores toll-like y sus mecanismos etiopatogénicos en la enfermedad inflamatoria intestinal

La relación de los polimorfismos de los TLR con la EII es de más reciente descripción, por lo que se dispone de menor evidencia epidemiológica de su papel etiológico y de sus mecanismos etiopatogénicos.

Se han descrito polimorfismos para el receptor TLR4 (Asp299Gly y Thr399Lle), que confieren un mayor riesgo relativo para desarrollar enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, aunque no todos los estudios son concordantes^{41,57-59}. También se ha reportado asociación entre enfermedad de Crohn y el polimorfismo del receptor TLR9 (-1237C/T)⁶⁰. Al interactuar los polimorfismos del NOD2 con los del receptor TLR4, como ya se comentó, se produce un aumento en el riesgo relativo para desarrollar enfermedad de Crohn.

No se han descrito en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal los mecanismos patogénicos funcionales de los polimorfismos de los TLR. En infecciones bacterianas, estos polimorfismos confieren un mayor riesgo de sepsis grave, lo que apunta a un defecto de la inmunidad innata⁶¹. Por otro lado, se requiere indemnidad de los TLR para mantener la homeostasis de la mucosa intestinal, además, éstos son necesarios para limitar la respuesta inflamatoria en modelos murinos colíticos *knockout* para TLR2/4^{6,18-62}.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

- Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005;307:1915-20.
- Xu J, Gordon JI. Inaugural Article: honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10452-9.
- Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:15718-23.
- MacPherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:478-85.
- Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 2005;122:107-18.
- Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004;118:229-41.
- Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol Immunol*. 2004;40:845-59.
- Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate immunity. *N Engl J Med*. 2000;343:338-44.
- Kapsenberg ML. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:984-93.

10. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol.* 2004;4:953-64.
11. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:331-41.
12. Rescigno M, Chieppa M. Gut-level decisions in peace and war. *Nat Med.* 2005;11:254-5.
13. ● Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, et al. Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nat Immunol.* 2005;6:507-14.
14. ● Smythies LE, Sellers M, Clements RH, et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity. *J Clin Invest.* 2005;115:66-75.
15. ●● Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:335-76.
16. ● Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2004;4:499-511.
17. Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology.* 2004;127:224-38.
18. ●● Fukata M, Michelsen KS, Eri R, et al. Toll-like receptor-4 is required for intestinal response to epithelial injury and limiting bacterial translocation in a murine model of acute colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;288:G1055-G65.
19. Inohara N, Chamailard M, McDonald C, Núñez G. NOD-LRR Proteins: Role in Host-Microbial Interactions and Inflammatory Disease. *Annu Rev Biochem.* 2005;74:355-83.
20. ●● Ting JP, Davis BK. CATERPILLER: a novel gene family important in immunity, cell death, and diseases. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:387-414.
21. Gutiérrez O, Pipaon C, Inohara N, et al. Induction of NOD2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J Biol Chem.* 2002;277:41701-5.
22. Ogura Y, Lala S, Xin W, et al. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. *Gut.* 2003;52:1591-7.
23. Rosenstiel P, Fantini M, Brautigam K, et al. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology.* 2003;124:1001-9.
24. Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W. NOD2 is a negative regulator of toll like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol.* 2004;5:800-8.
25. Netea MG, Kullberg BJ, De Jong DJ, et al. NOD2 mediates anti-inflammatory signals induced by TLR2 ligands: implications for Crohn's disease. *Eur J Immunol.* 2004;34:2052-9.
26. Fritz JH, Girardin SE, Fitting C, et al. Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by toll-like receptor 4 and. *Eur J Immunol.* 2005;35:2459-70.
27. Geijtenbeek TB, Van Vliet SJ, Koppel EA, et al. Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cell function. *J Exp Med.* 2003;197:7-17.
28. Soumelis V, Liu YJ. Human thymic stromal lymphopoietin: a novel epithelial cell-derived cytokine and a potential key player in the induction of allergic inflammation. *Springer Semin Immunopathol.* 2004;25:325-33.
29. ● Sartor RB. The influence of normal microbial flora on the development of chronic mucosal inflammation. *Res Immunol.* 1997;148:567-76.
30. ● Harper PH, Lee EC, Kettlewell MG, Bennett MK, Jewell DP. Role of the faecal stream in the maintenance of Crohn's colitis. *Gut.* 1985;26:279-84.
31. ● D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology.* 1998;114:262-7.
32. Sartor RB. Targeting enteric bacteria in treatment of inflammatory bowel diseases: why, how, and when. *Curr Opin Gastroenterol.* 2003;19:358-65.
33. Álvarez-Lobos M, Arostegui J, Sans M, et al. Crohn's disease patients carrying NOD2/CARD15 gene variants have an increased and early need for surgery due to stricturing disease and higher rate of surgical recurrence. *Ann Surg.* 2005;242:693-700.
34. Rioux KP, Madsen KL, Fedorak RN. The role of enteric microflora in inflammatory bowel disease: human and animal studies with probiotics and prebiotics. *Gastroenterol Clin North Am.* 2005;34:465-82.
35. Isaacs KL, Sartor RB. Treatment of inflammatory bowel disease with antibiotics. *Gastroenterol Clin North Am.* 2004;33:335-45.
36. ●● Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411:603-6.
37. ●● Hugot JP, Chamailard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411:599-603.
38. Bonen DK, Ogura Y, Nicolae DL, et al. Crohn's disease-associated NOD2 variants share a signaling defect in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Gastroenterology.* 2003;124:140-6.
39. ● 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.
40. Newman B, Gu X, Wintle R, 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.
41. Franchimont D, Vermeire S, El HH, et al. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut.* 2004;53:987-92.
42. ●● Eckmann L, Karin M. NOD2 and Crohn's disease: loss or gain of function? *Immunity.* 2005;22:661-7.
43. ● Wehkamp J, Stange EF. NOD2 mutation and mice: no Crohn's disease but many lessons to learn. *Trends Mol Med.* 2005;11:307-9.
44. Abreu MT. NOD2 in normal and abnormal intestinal immune function. *Gastroenterology.* 2005;129:1302-4.
45. ● Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, et al. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology.* 2003;124:993-1000.
46. ● Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut.* 2004;53:1658-64.
47. ● Lala S, Ogura Y, Osborne C, et al. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology.* 2003;125:47-57.
48. Maeda S, Hsu LC, Liu H, et al. Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science.* 2005;307:734-8.
49. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:710-20.
50. ● Van Heel DA, Ghosh S, Butler M, et al. Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease. *Lancet.* 2005;365:1794-6.
51. ● Li J, Moran T, Swanson E, et al. Regulation of IL-8 and IL-1beta expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations. *Hum Mol Genet.* 2004;13:1715-25.
52. ● Netea MG, Ferwerda G, De Jong DJ, et al. Nucleotide-binding oligomerization domain-2 modulates specific TLR pathways for the induction of cytokine release. *J Immunol.* 2005;174:6518-23.
53. Netea MG, Kullberg BJ, De Jong DJ, et al. NOD2 mediates anti-inflammatory signals induced by TLR2 ligands: implications for Crohn's disease. *Eur J Immunol.* 2004;34:2052-9.
54. Netea MG, Ferwerda G, De Jong DJ, et al. NOD2 3020insC mutation and the pathogenesis of Crohn's disease: impaired IL-1&beta; production points to a loss-of-function phenotype. *Neth J Med.* 2005;63:305-8.
55. Zelinkova Z, De Port F, Pronk I, et al. Functional consequences of NOD2 deficiency in Crohn's disease patients: peripheral blood monocytes derived dendritic cell. *Gastroenterology.* 2005;128:685.
56. ● Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:521-33.
57. Oostenbrug LE, Drenth JP, De Jong DJ, et al. Association between Toll-like receptor 4 and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:567-75.
58. Lakatos PL, Lakatos L, Szalay F, et al. Toll-like receptor 4 and NOD2/CARD15 mutations in Hungarian patients with Crohn's disease: phenotype-genotype correlations. *World J Gastroenterol.* 2005;11:1489-95.
59. Gazouli M, Mantzaris G, Kotsinas A, et al. Association between polymorphisms in the Toll-like receptor 4, CD14, and CARD15/NOD2 and inflammatory bowel disease in the Greek population. *World J Gastroenterol.* 2005;11:681-5.
60. Torok HP, Glas J, Tonenchi L, et al. Crohn's disease is associated with a toll-like receptor-9 polymorphism. *Gastroenterology.* 2004;127:365-6.
61. Abreu MT, Arditi M. Innate immunity and toll-like receptors: clinical implications of basic science research. *J Pediatr.* 2004;144:421-9.
62. Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, et al. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology.* 2004;126:520-8.

Bibliografía recomendada

Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004;118:229-41.

Fukata M, Michelsen KS, Eri R, Thomas LS, Hu B, Lukasek K, et al. Toll-like receptor-4 is required for intestinal response to epithelial injury and limiting bacterial translocation in a murine model of acute colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;288:G1055-G65.

Interesantes artículos que describen y estudian el papel de los receptores toll en la homeostasis de la mucosa gastrointestinal.

Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2004;4:499-511.

Ting JP, Davis BK. CATERPILLER: a novel gene family important in immunity, cell death, and diseases. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:387-414.

Excelentes revisiones sobre los receptores de inmunidad innata toll y NOD.

Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, Avogadri F, Sonzogni A, Sampietro GM, et al. Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nat Immunol.* 2005;6:507-14.

Smythies LE, Sellers M, Clements RH, Mosteller-Barnum M, Meng G, Benjamin WH, et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity. *J Clin Invest.* 2005;115:66-75.

Excelentes artículos que muestran como el microambiente condiciona el fenotipo de células del sistema inmunitario.