

Rol de las uniones estrechas del epitelio intestinal en la patogenia de la enfermedad de Crohn

Dionisio Díaz¹ Rodrigo Dorelo¹, Diego Fleitas¹, Silvia Chifflet^{2*}

Resumen

La enfermedad de Crohn, un tipo de enfermedad inflamatoria intestinal, afecta la integridad estructural y funcional de la barrera intestinal. Esta barrera está constituida por una capa de células epiteliales que forman una monocapa continua y polarizada, estrechamente conectada por varios tipos de uniones celulares, entre las que se destacan las uniones estrechas. Las uniones estrechas forman una estructura continua entre los dominios apical y basolateral en las células epiteliales y endoteliales, creando una barrera paracelular selectiva fundamental para la homeostasis del organismo. La disfunción de la barrera epitelial juega un papel central en la fisiopatología de la enfermedad de Crohn. Los pacientes con enfermedad de Crohn presentan una pérdida de la función de barrera de las uniones estrechas y un aumento de la producción de citoquinas pro-inflamatorias, así como una desregulación del sistema inmune.

En esta revisión se describe brevemente la composición molecular, estructura, interacciones y función de las uniones estrechas, además de mostrar evidencia reciente acerca de la relación entre la disfunción de las mismas y la enfermedad de Crohn. También se detalla el rol de la microbiota en la regulación de las uniones estrechas, así como el papel de la desregulación de estas uniones en el desarrollo del cáncer asociado a la enfermedad de Crohn. Finalmente, se describen hallazgos de la literatura actual respecto a la posible utilidad de las uniones estrechas como blanco de nuevos medicamentos.

Palabras clave

Enfermedad de Crohn, uniones estrechas, claudina, ocludina, microbiota, epitelio intestinal.

Title

Role of intestinal epithelial tight junctions in the pathogenesis of Crohn's Disease.

Abstract

Crohn's disease is an inflammatory bowel disease that affects the intestinal wall. This wall consists of an epithelial cell layer that forms a continuous polarized monolayer, closely connected by various types of cellular junctions. Among these, tight junctions play a relevant role. They form a continuous structure delimiting the apical and basolateral domains in epithelial and endothelial cells, creating in this way a selective paracellular barrier, fundamental for the homeostasis of the organism. There is

1. Estudiante de Medicina, Ciclo de Metodología Científica II, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay. La contribución en la realización del trabajo fue equivalente a la de los demás estudiantes.

2. Docente supervisor. Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

* Contacto: Silvia Chifflet. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Gral Flores 2125, 11800 Montevideo, Uruguay. Tel: (5982) 924 3414 ext. 3403. E-mail: schiffle@mednet.org.uy

increasing evidence that the dysfunction of the epithelial barrier plays a central role in the pathophysiology of Crohn's disease. Crohn's disease patients exhibit a loss of the barrier function of the tight junctions, an increased production of pro-inflammatory cytokines and dysregulation of the immune system.

In his review the molecular composition, structure, interactions and function of the tight junctions are briefly described, and recent evidence on the relationship between the dysfunction of the tight junctions and Crohn's disease is commented. The role of microbiota in the regulation of tight junctions and the participation of tight junctions deregulation in the development of cancer associated to Crohn's disease are also detailed. Finally, recent findings about the employment of tight junctions as targets for the development of new drugs are described.

Key Words

Crohn's disease, tight junctions, claudin, occludin, microbiota, intestinal epithelium.

Introducción

La enfermedad de Crohn (EC) es una enfermedad inflamatoria del intestino que tiene un curso recurrente y una etiología todavía no del todo conocida. Esta enfermedad puede afectar a cualquier zona del tracto digestivo, aunque de forma predominante aparece sobre el segmento intestinal que circunda la válvula ileocecal. Suele afectar a varios segmentos del tracto gastrointestinal, entre los que se hallan zonas normales. Su carácter transmural y su tendencia a la fibrosis explica el desarrollo frecuente de fistulas y estenosis. En el curso natural de la enfermedad alternan brotes de actividad inflamatoria con periodos de remisión y existe una elevada tendencia a la recurrencia tras la resección quirúrgica de los tramos afectados [1].

La patogenia de la EC es consecuencia de una respuesta inmune exagerada a componentes de la luz intestinal en individuos genéticamente predispuestos. Uno de los principales factores que contribuye a la homeostasis intestinal y que se altera en la EC es la permeabilidad regulada de la barrera epitelial, tema que describiremos con detalle en esta monografía. En individuos sanos, la barrera intestinal está constituida por una capa intacta de células epiteliales que forma una monocapa continua y polarizada, estrechamente conectada por varios tipos de uniones celulares. Las uniones estrechas ("tight junctions", TJ) juegan una rol

primordial, ya que son las principales responsables de mantener esta barrera, y además regulan la permeabilidad a iones, nutrientes y agua. Las TJ están compuestas por varias proteínas incluyendo proteínas transmembranarias, tales como occludina, tricelulina, claudina y las moléculas de adhesión a la unión (JAM). Las porciones intracelulares de estas proteínas transmembranarias interactúan con proteínas citoplasmáticas periféricas de membrana, tales como zonula occludens (ZO) y cingulina. Las TJ, a través de sus proteínas citoplasmáticas, interactúan con F-actina y miosina II y de este modo ancoran el complejo de las uniones con el citoesqueleto [2].

Los cambios encontrados en la EC en las proteínas que conforman las TJ causan una disfunción de la barrera epitelial que incrementa la permeabilidad paracelular. La disfunción de las TJ puede deberse a varios mecanismos resultantes del complejo balance entre factores genéticos y disparadores ambientales. Las citoquinas, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y el interferón gamma (IFN- γ), cumplen un rol importante en incrementar la permeabilidad de las TJ, pero también actúan induciendo la apoptosis y aumentando la translocación bacteriana. Las citoquinas pueden afectar las TJ por dos caminos, el primero regulando la expresión de proteínas y en segundo lugar afectando la redistribución de estas proteínas [3].

La barrera intestinal está expuesta a los componentes de la dieta y a muchas bacterias comensales. Diversos estudios han mostrado que las bacterias intestinales tienen como blanco varias vías intracelulares, cambiando la expresión y distribución de las proteínas de las TJ y así regulando la barrera intestinal. Se ha demostrado que algunos probióticos reducen la permeabilidad intestinal en humanos con EC [4].

La predisposición genética todavía está lejos de ser totalmente comprendida, pero parece jugar un rol importante en el desarrollo de la EC, ya que el factor de riesgo más importante para padecer EC es tener un familiar con la enfermedad. Hasta el momento se identificaron 99 loci susceptibles para la EC, incluyendo 28 que son compartidos entre la EC y la colitis ulcerosa [5]. Las mutaciones en el gen de dominio de reclutamiento activador de caspasa (CARD15) son un factor de riesgo para el desarrollo de la EC. Las mutaciones en este gen están asociadas con una alteración de las TJ y, como consecuencia, con un aumento de la permeabilidad intestinal [6].

Si bien todavía no existe cura para la EC, las TJ se han estudiado como posibles blancos terapéuticos para tratar la enfermedad. Es así que los antagonistas de las citoquinas inflamatorias, tales como el infliximab, un anticuerpo monoclonal quimérico, y el adalimumab, un anticuerpo monoclonal humano, que actúan contra el TNF- α ; han demostrado inducir y mantener la remisión en pacientes con EC moderada/severa [7, 8]. Asimismo, el péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) ha mostrado en ratas disminuir la permeabilidad intestinal, tanto paracelular como la transcelular, lo que mejora la integridad de las uniones estrechas [9]. Existen estudios del efecto de diversos compuestos en la función de barrera del epitelio intestinal, tales como el zinc, el que parece disminuir la permeabilidad de la mucosa en pacientes con EC [10], y otros como la berberina (del grupo de la isoquinolona alcaloide) y el flavonoide quercetina, los que parecen regular la expresión de claudina de las uniones estrechas y tener efectos antiinflamatorios sobre la barrera intestinal

[11, 12]. Los probióticos también actúan regulando el nivel de citoquinas inflamatorias y la expresión de las proteínas que conforman las uniones estrechas [13]. El mejor entendimiento de cómo están reguladas las uniones estrechas está ayudando a desarrollar regímenes terapéuticos específicos para tratar el daño en estas uniones.

Estructura de las uniones estrechas

Las TJ constituyen microdominios de la membrana plasmática. Estas estructuras separan el dominio apical del basolateral de las células epiteliales, generando compartimentos extracelulares con diferentes composiciones. Como consecuencia, los epitelios y las TJ actúan como barrera a la difusión de fluidos entre dos compartimentos, con permeabilidad selectiva a los iones, factores de crecimiento, agentes patógenos y otros solutos [14].

Cuando las TJ son procesadas por criofractura y estudiadas mediante microscopía electrónica (Figura 1), se observa que están constituidas por una red de cordones selladores que rodean por completo la zona apical de cada célula epitelial [15]. Las principales proteínas de transmembrana de la TJ son las ocludinas y las claudinas, esenciales para la formación y función de la unión estrecha. Estas dos proteínas se asocian con las proteínas periféricas de membrana denominadas ZO, las cuales anclan los complejos transmembrana al citoesqueleto de actina (Figura 2) [16].

A continuación describiremos la estructura y función de aquellas proteínas de la TJ que se han encontrado que participan en la patogenia de la EC.

Ocludina

Fue la primera molécula de las TJ identificada como proteína integral de membrana. Es una proteína con dos dominios extracelulares (EC1 y EC2) y dos dominios citoplasmáticos (N-terminal y C-terminal). El dominio C-terminal se une directamente a la proteína ZO-1 y es susceptible de fosforilación, siendo la ocludina fosforilada la que se localiza en las TJ [17].

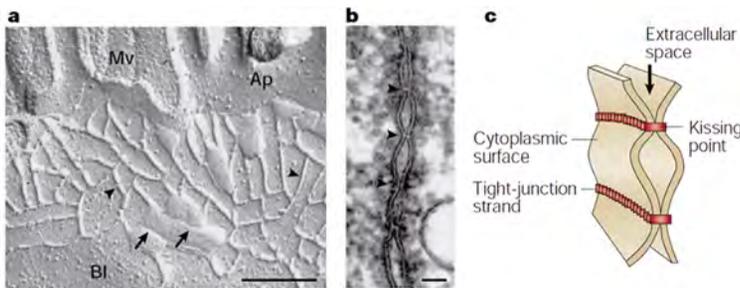


Figura 1. Estructura de las uniones estrechas (TJ) de células epiteliales del intestino delgado. Imágenes de criofractura (a), de microscopía electrónica de transmisión (b), y representación esquemática de su estructura tridimensional (c). En (a), el plano de la microfografía es paralelo al plano de la membrana lateral, y la TJ aparece como una banda de hebras de sellado anastomosadas que rodean cada célula (puntas de flecha). Las hebras de sellado se observan como crestas formadas por partículas intramembrana, situadas en la cara citoplasmática de la fractura (cara P), o sus depresiones complementarias en la cara externa de la fractura (cara E) (flechas). Mv, microvellosidades; Ap, membrana apical; Bl, membrana basolateral. Barra de escala, 200 nm. En (b) se muestra un corte transversal de la unión, se observa que existen puntos de contacto íntimo (“besos”) entre las hemimembranas externas de las dos membranas plasmáticas que interactúan, correspondiendo cada conexión a una hebra de sellado (puntas de flecha). Barra de escala, 50 nm. [44]. Reproducido con permiso de Macmillan Publishers Ltd, ©2001DOI 10.1038/35067088

Claudinas

Son los principales componentes de las TJ. Se han identificado 24 miembros en mamíferos. El patrón de expresión de las claudinas es específico de cada tejido, lo que contribuye, junto con el perfil de interacciones homo o heterotípicas entre dichas proteínas, a las funciones especializadas en los tejidos epiteliales y endoteliales [18, 19].

Fue demostrado que en la EC existe una sobreexpresión de la claudina 2, en tanto que la expresión de las claudinas 5 y 8 está disminuida [20].

JAM

Las moléculas de adhesión a la unión estrecha (JAM) son proteínas que restringen la libre difusión de otras proteínas hacia el espacio intermembrana. Se encontró que la expresión de las JAM se encuentra disminuida en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal [21].

Proteínas ZO

Forman parte de la zona ocludens, donde cumplen un rol importante en la formación y mantención de los dominios de membrana de varios tipos celulares. Están constituidas por tres variantes, ZO-1, ZO-2 y ZO-3 [22].

Desregulación de las TJ en la enfermedad de Crohn

Mediante procedimientos de criofractura y microscopía electrónica se encontró que la arquitectura de las TJ se ve muy alterada en la EC activa (Figura 3), dicha alteración consiste principalmente en una reducción del número de hebras de

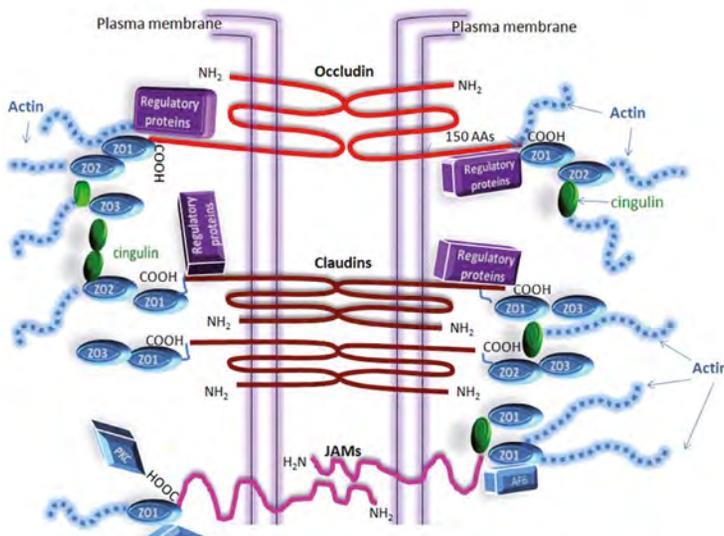


Figura 2. Representación esquemática de las uniones estrechas (TJ) entre dos células adyacentes. Se indican las proteínas de transmembrana, como las claudinas, ocludina y las moléculas de adhesión (Junctional Adhesion Molecule, JAMs) (nivel 1); las proteínas citosólicas, como las zonula ocludens-1 (ZO-1), ZO-2, ZO-3, cingulina, proteína-1 con múltiples dominios PDZ (MUPP1) (nivel 2), y el citoesqueleto de actina (nivel 3). Tomado de Redzic Z. et al. [45] DOI: 10.1186/2045-8118-8-3

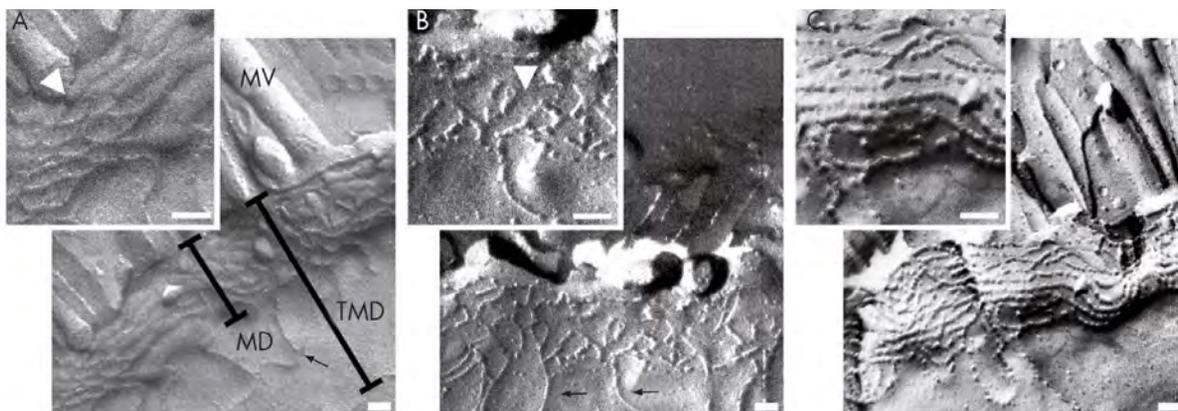


Figura 3. Imágenes de criofractura de las uniones estrechas (TJ) en la enfermedad de Crohn (EC). (A) Control, (B y C) EC leve (B) y con inflamación moderada (C). El control presenta uniones continuas (recuadro), con casi ninguna rotura de cadena. Por el contrario, las muestras con EC mostraron un número reducido de hebras y un aumento de roturas (punta de flecha en B), o una red compleja pero discontinuada (C). Las puntas de flecha en A y en B señalan hebras aberrantes. MD: profundidad de la malla principal de TJ; TMD: profundidad total de la malla de TJ incluyendo hebras aberrantes. MV: microvellosidades. Barra de escala, 100 nm. Reproducido de Zeissig S et al [20], con permiso de BMJ Publishing Group Ltd. DOI 10.1136/gut.2006.094375

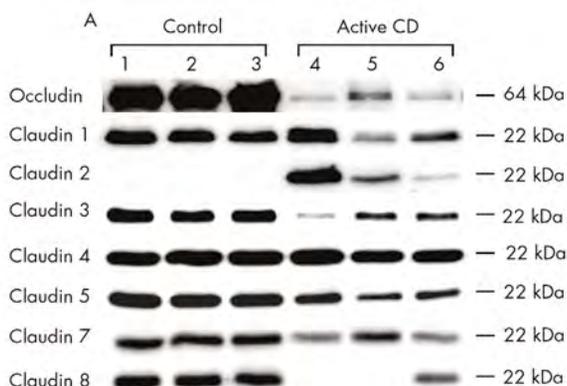


Figura 4A. Expresión de las proteínas de uniones estrechas (TJ) en la enfermedad de Crohn (EC). Western blot para proteínas de TJ del epitelio intestinal de tres individuos controles y tres pacientes con EC activa. La claudina 2 no pudo ser detectada en los controles, y la claudina 8 no pudo detectarse en los pacientes 4 y 5 con EC activa.

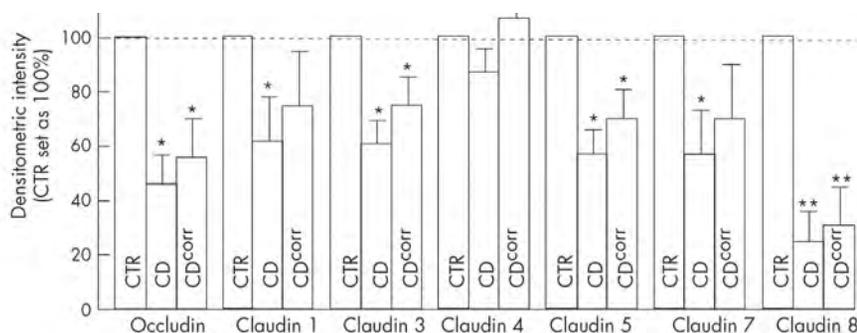


Figura 4B. Expresión de las proteínas de uniones estrechas (TJ) en la enfermedad de Crohn (EC). Evaluación estadística mediante densitometría de las bandas obtenidas en (A). Los valores representan las medias de la expresión de proteína analizada en comparación con los valores de control del mismo blot, los que se establecen como 100%. CTR: controles; CD: pacientes con EC activa, CDcorr: los pacientes con enfermedad de Crohn activa. Los valores fueron corregidos para la cantidad de proteína y para el cambio en el área de superficie de la mucosa. * p, 0,05, ** p, 0,001 versus control.

Figura 4A y 4B. Reproducido de Zeissig S et al [20], con permiso de BMJ Publishing Group Ltd. DOI 10.1136/gut.2006.094375

unión y una disminución de la profundidad del entramado principal de las TJ. El aumento de la claudina 2 formadora de poros y la disminución de las claudinas 3, 5 y 8 de sellado (Figura 4), representan la base molecular de los filamentos discontinuos en la EC activa, lo que puede conducir a que las TJ presenten fugas (“leaks”). Por otra parte, no se han encontrado alteraciones en la estructura de la ocludina [20].

La microbiota y su papel en la regulación de las TJ

El tracto gastrointestinal constituye la superficie principal de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno. En el individuo adulto la mucosa gastrointestinal está dotada de estructuras y funciones específicamente adaptadas al reconocimiento de las sustancias que transitan por el tubo digestivo [23]. Las diferentes especies de bacterias pueden afectar múltiples vías de señalización del epitelio intestinal que modulan la integridad de las TJ, y el mantenimiento y la restauración de la función de barrera, entre las que se encuentran las de la familia Rho GTPasas, PKC y MAPK [24]. Es importante tener en cuenta las diversas y complejas interacciones entre los diferentes componentes biológicos y bioquímicos de la barrera intestinal en el desarrollo de estrategias para mejorar la integralidad de la barrera [25].

Respuesta inflamatoria en la enfermedad de Crohn

Diversos estudios pusieron en evidencia alteraciones en las respuestas de la inmunidad innata en la EC. El reconocimiento y procesamiento de antígenos por parte de las células presentadoras de antígeno está alterado, de forma que no pueden realizar un reconocimiento correcto de la flora comensal, lo que induce una activación de la inmunidad adquirida en lugar de inducir tolerancia. Esta respuesta inmune adquirida está dominada por un fenotipo TH1- TH17 [26].

La citoquina que tiene más implicancias en la pérdida de la barrera epitelial es el factor de

necrosis tumoral, TNF- α . Estudios in vitro muestran que dosis relativamente altas de IFN- γ y TNF- α pueden inducir disfunción de la barrera en cultivos celulares de epitelio intestinal [27]. Asimismo, en modelos animales y humanos la incorporación de antagonistas a estas citoquinas ha mostrado restaurar la función. Estas citoquinas tienen un efecto directo sobre las TJ que implica una pérdida de las proteínas ZO-1, ocludina y claudina-1 [27].

Cáncer y enfermedad de Crohn

Existe un riesgo significativamente alto de desarrollo de cáncer en intestino delgado [28] y colorectal [30] en pacientes que padecen EC. En estudios poblacionales se ha encontrado un mayor riesgo de desarrollar carcinoma de intestino delgado en pacientes con EC, y un mayor riesgo de desarrollar linfoma entre los hombres con la enfermedad [29]. Esta evidencia ha motivado la creación de criterios que promueven el tamizaje de cáncer colorrectal en pacientes con determinadas características de la EC, como pueden ser los años de evolución o la extensión [30]. Algunos autores apoyan la teoría de que el cáncer se desarrolla siguiendo una secuencia característica, inflamación, displasia y por último carcinoma. Varios eventos moleculares implicados en el proceso de la inflamación crónica activa contribuyen a la progresión del desarrollo del carcinoma [31].

El rol de las TJ y de los cambios en la función de barrera en el mecanismo de metástasis cancerígena ha sido ampliamente estudiado. La modificación de la expresión de algunas proteínas críticas de las TJ produce alteración de las asociaciones intercelulares, que conduce a la pérdida de la polaridad celular y de la inhibición por contacto, crecimiento incontrolado, y el consecuente desprendimiento e invasión de células cancerosas [32]. El papel exacto de las proteínas que conforman las TJ en la génesis del tumor es aún objeto de estudio, aunque resulta evidente que dichas proteínas representan dianas prometedoras para la detección, el diagnóstico y la terapia del cáncer [33, 34].

Tratamiento de la enfermedad de Crohn: las uniones estrechas como blanco terapéutico

La EC es un trastorno inflamatorio crónico que no posee tratamiento curativo médico ni quirúrgico. Exige enfoques terapéuticos para inducir y mantener el control de los síntomas, mejorar la calidad de vida y minimizar la progresión lesional y las complicaciones. Los objetivos más recientes de la terapia incluyen la inducción y mantenimiento de la curación de la mucosa. Los logros en este sentido comienzan a manifestarse en el cambio de la “historia natural” de la enfermedad [35].

Existen varios estudios que plantean posibles mecanismos de acción de los diferentes medicamentos que actualmente se proponen para el tratamiento de la EC. En esta sección se presentará la evidencia acerca del efecto de estos tratamientos sobre las TJ y la respuesta inflamatoria.

Glucocorticoides y regulación de las TJ

Existe evidencia de que el cultivo con dexametasona en células epiteliales de ratón induce la formación de TJ, lo que sugiere un rol importante de esta droga en la función y mantenimiento

de la unión célula-célula [36]. Estudios recientes analizaron el efecto de la dexametasona sobre las TJ utilizando como modelo las células intestinales en cultivo Caco-2 [37]. Este estudio mostró que la droga produce una reducción del flujo paracelular de cationes, así como la disminución de la proteína de formación de poros claudina-2, y el aumento de la proteína de sellado claudina-4, sin determinar otros cambios estructurales (Figura 5). También se pudo comprobar que el uso de dexametasona disminuye el efecto en la resistencia transepitelial que provoca la respuesta inflamatoria a través de citoquinas como TNF- α e IFN- γ (ibid).

El objetivo del tratamiento con glucocorticoides es, principalmente, atenuar la respuesta inflamatoria. Un estudio plantea que es posible que exista un efecto directo sobre la barrera epitelial y como consecuencia en el transporte paracelular, que influiría en la respuesta al tratamiento con estos fármacos en la EC [37].

Inmunomoduladores tiopurínicos: azatioprina y 6-mercaptopurina

La 6-mercaptopurina (usado predominantemente como un agente quimioterapéutico) y su profármaco

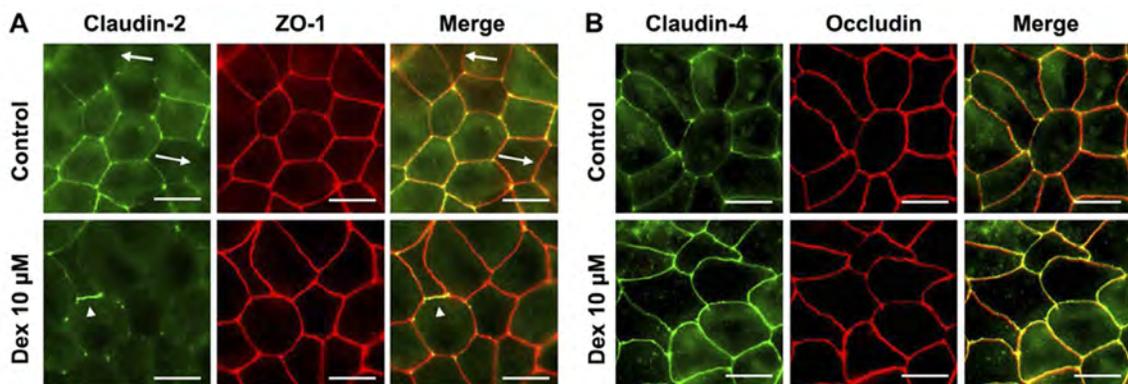


Figura 5. Cambios en la inmunofluorescencia de proteínas de las uniones estrechas (TJ) en células Caco-2 tratadas con dexametasona. Las células fueron cultivadas durante 35 días con el vehículo (Control) o con dexametasona 10 μ M (Dex 10 μ M). (A) Las flechas señalan ausencia de claudina-2 en células control. Las puntas de flecha señalan la unión con preservación de Claudina-2 en células tratadas. Se evidencia una clara disminución global de la tinción para la proteína mencionada, con una conservación de la ZO-1. (B) Se encontró un aumento de tinción de la claudina-4 en células tratadas con dexametasona y una conservación global de la ocludina. Reproducido con permiso de American Physiological Society [Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2014 Feb;306(3):G218-28. DOI: 10.1152/ajpgi.00095.2013]

azatioprina (un agente modificador de la respuesta inmune) son análogos de las purinas que interfieren competitivamente con el metabolismo de los ácidos nucleicos. Si bien no existen estudios que hayan abordado específicamente el mecanismo por el cual estas drogas regulan la permeabilidad epitelial, hay evidencia que la azatioprina reduce el número de leucocitos en la mucosa de los pacientes con EII hasta la normalidad [38]. Asimismo, también se encontró que la 6-mercaptopurina disminuye la activación de macrófagos y la expresión de citoquinas inflamatorias inducidas por TNF- α en células epiteliales intestinales, características de la patogenia de las EII [39].

Metrotexato:

¿resultados contradictorios?

Si bien para el tratamiento de determinadas presentaciones clínicas de la EC el metrotexato resulta de utilidad, diversos estudios han demostrado que el tratamiento con esta droga aumenta la permeabilidad de la barrera epitelial intestinal. En ratas tratadas con metrotexato se observaron alteraciones en la distribución celular y la expresión de claudina, ocludina y ZO-1 [39]. In vitro, el tratamiento con metrotexato condujo a un aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias tales como IL-1 β y la IL-8, sin producir apoptosis ni necrosis [40]. En este estudio se analizaron las vías intracelulares involucradas, y se encontró que estas alteraciones fueron prevenidas por inhibidores de MEK 1 y 2, de JNK, y los de NF- κ B. Otro estudio encontró alteraciones en las TJ caracterizadas por una disminución de ZO-1, que contribuiría al aumento de la permeabilidad paracelular [41]. Los hallazgos aquí descriptos para el metrotexato resultan, por lo tanto, contradictorios. Los mecanismos de acción de la droga que promueven la remisión de la EC aún no se entienden completamente, con lo cual la oportunidad y el modo de empleo de la misma tampoco resultan claros [42].

Adalimumab y la prevención de la disfunción de la barrera intestinal

El adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano anti-TNF- α . Se utiliza como terapia biológica para las enfermedades inflamatorias intestinales. Su empleo logra una restitución de la barrera intestinal. Este tratamiento previene la disminución de la resistencia transepitelial inducida por TNF- α , impide la internalización de la ocludina, y contrarresta la disminución de la expresión de proteínas que constituyen las TJ, tales como claudina-1, claudina-2, claudina-4, y ocludina [43]. Se encontró además que el adalimumab interrumpe la activación de las vías de señalización p38 MAPK y NF- κ B, implicadas en la disfunción de la barrera epitelial provocada por la citoquina mencionada. (ibid). En conjunto, estos datos muestran que el adalimumab impide la desregulación funcional y estructural de la barrera inducida por el TNF- α (ibid).

Conclusiones y perspectivas

En la presente revisión hemos realizado una descripción de los componentes de las TJ así como también de su función y rol en la patogenia de la EC. La comprensión de la regulación de las TJ proporciona una visión más clara de los mecanismos que subyacen a la enfermedad y permite ampliar los horizontes diagnósticos y terapéuticos de la EC.

La patogenia de la EC es de naturaleza multifactorial, donde la disfunción de la barrera epitelial juega un papel crítico. Asimismo, las alteraciones encontradas en las TJ en pacientes con esta enfermedad pueden explicar el aumento de la permeabilidad y la pérdida de la homeostasis del epitelio intestinal observados en esta afección. Entre las principales alteraciones en las TJ destacamos los cambios en la distribución y expresión de las proteínas que la componen, siendo un desencadenante clave de dichos cambios la respuesta inmune descontrolada del epitelio, caracterizada por un predominio de las citoquinas proinflamatorias TNF- α e IFN- γ . Existe una

gran diversidad de alternativas terapéuticas que tienen como objetivo estabilizar las TJ y, de este modo, restablecer la función de la barrera intestinal. Muchas de estas alternativas tienen la finalidad de atenuar o modular la respuesta inmune. Actualmente, existen tratamientos prometedores con anticuerpos monoclonales que podrían reemplazar a los clásicamente utilizados, tales como el empleo del metrotexato.

Diversos autores plantean que los pacientes con EC tienen un riesgo aumentado de padecer cáncer, principalmente colorrectal. Estudios recientes indican que el desarrollo del cáncer estaría relacionado con las alteraciones mencionadas de las TJ, lo que sitúa a dichas uniones como un objeto de estudio prometedor.

Como conclusión, resulta de gran importancia potenciar la investigación orientada a conocer aún más la biología celular de los procesos fisiológicos y patológicos subyacentes de la EC. Asimismo, optimizar las aplicaciones de los conocimientos emergentes de estas investigaciones en el campo clínico permitiría una mejor atención de las personas afectadas por la enfermedad.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Beatriz Iade por sus comentarios y consejos acerca de esta monografía.

Referencias

1. Rozman C, director. Farreras-Rozman. Medicina interna. 17a ed. Barcelona: Elsevier; 2012.
2. Edelblum KL, Turner JR. The tight junction in inflammatory disease: communication breakdown. *Curr Opin Pharmacol*. 2009 Dec;9(6):715-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2009.06.022>
3. Hering NA, Fromm M, Schulzke JD. Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics. *J Physiol*. 2012 Mar;590(Pt 5):1035-44. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224568>
4. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Gandalini S. Is lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000 Oct;31(4):453-7.
5. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*. 2011 Mar;43(3):246-52. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.764>
6. Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, et al. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut*. 2006 Mar;55(3):342-7. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2005.065557>
7. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med*. 1997 Oct 9;337(15):1029-35. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199710093371502>
8. Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, et al. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology*. 2007 Jan;132(1):52-65. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2006.11.041>
9. Benjamin MA, McKay DM, Yang PC, Cameron H, Perdue MH. Glucagon-like peptide-2 enhances intestinal epithelial barrier function of both transcellular and paracellular pathways in the mouse. *Gut*. 2000 Jul;47(1):112-9. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.47.1.112>
10. El-Tawil AM. Zinc supplementation tightens leaky gut in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Feb;18(2):E399. <http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21926>
11. Amasheh M, Fromm A, Krug SM, Amasheh S, Andres S, Zeitz M, et al. TNFalpha-induced and berberine-antagonized tight junction barrier impairment via tyrosine kinase, Akt and NFkappaB signaling. *J Cell Sci*.

- 2010 Dec 1;123(Pt 23):4145-55. <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.070896>
12. Amasheh M, Schlichter S, Amasheh S, Mankertz J, Zeitz M, Fromm M, et al. Quercetin enhances epithelial barrier function and increases claudin-4 expression in Caco-2 cells. *J Nutr.* 2008 Jun;138(6):1067-73.
 13. Roselli M, Finamore A, Britti MS, Mengheri E. Probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* MB5 and *Lactobacillus rhamnosus* GG protect intestinal Caco-2 cells from the inflammation-associated response induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Br J Nutr.* 2006 Jun;95(6):1177-84. <http://dx.doi.org/10.1079/BJN20051681>
 14. Balda MS, Matter K. Tight junctions. *J Cell Sci.* 1998 Mar;111(Pt 5):541-7.
 15. Madara JL. Regulation of the movement of solutes across tight junctions. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:143-59. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.60.1.143>
 16. Tsukita S, Furuse M. Occludin and claudins in tight-junction strands: leading or supporting players? *Trends Cell Biol.* 1999 Jul;9(7):268-73. [http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924\(99\)01578-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924(99)01578-0)
 17. Itoh M, Furuse M, Morita K, Kubota K, Saitou M, Tsukita S. Direct binding of three tight junction-associated Maguks, ZO-1, ZO-2, and ZO-3, with the COOH termini of claudins. *J Cell Biol.* 1999 Dec 13;147(6):1351-63.
 18. Swisshelm K, Macek R, Kubbies M. Role of claudins in tumorigenesis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005 Apr 25;57(6):919-28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.006>
 19. Furuse M, Sasaki H, Tsukita S. Manner of interaction of heterogeneous claudin species within and between tight junction strands. *J Cell Biol.* 1999 Nov 15;147(4):891-903. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.147.4.891>
 20. Zeissig S, Burgel N, Gunzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut.* 2007 Jan;56(1):61-72. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.094375>
 21. Vetrano S, Danese S. The role of JAM-A in inflammatory bowel disease: unrevealing the ties that bind. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 May;1165:308-13. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04045.x>.
 22. Schneeberger EE, Lynch RD. The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004 Jun;286(6):C1213-28. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.00558.2003>
 23. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host. Report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine"; Paris; 2002 June 14. *Am J Clin Nutr.* 2003 Oct;78(4):675-83.
 24. Zyrek AA, Cichon C, Helms S, Enders C, Sonnenborn U, Schmidt MA, et al. Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKCzeta redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cell Microbiol.* 2007 Mar;9(3):804-16. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00836.x>
 25. Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clin Nutr Suppl.* 2004;1(2):25-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.005>
 26. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: Etiology and pathogenesis. *Gastroenterology.* 1998;115(1):182-205.
 27. Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon- γ and tumor necrosis factor- α synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol.* 2005 Feb;166(2):409-19. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62264-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62264-X)
 28. Mellemejkær L, Johansen C, Gridley G, Linet M, Kjær S, Olsen J. Crohn's disease and cancer risk (Denmark). *Cancer Causes Control.* 2000 Feb;11(2):145-50.
 29. Bernstein CN, Blanchard JF, Kliwer E,

- Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease. *Cancer*. 2001;91(4):854-62.
30. Itzkowitz SH, Present DH. Consensus conference: Colorectal cancer screening and surveillance in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2005;11(3):314-21.
 31. Bressenot A, Cahn V, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Microscopic features of colorectal neoplasia in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2014 Mar 28;20(12):3164-72.
 32. Martin TA, Jiang WG. Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Apr;1788(4):872-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.11.005>
 33. Morin PJ. Claudin proteins in human cancer: promising new targets for diagnosis and therapy. *Cancer Res*. 2005 Nov 1;65(21):9603-6. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2782>
 34. Tokunaga Y, Tobioka H, Isomura H, Kokai Y, Sawada N. Expression of occludin in human rectal carcinoid tumours as a possible marker for glandular differentiation. *Histopathology*. 2004 Mar;44(3):247-50. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0309-0167.2003.01807.x>
 35. Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ; Practice Parameters Committee of American College of Gastroenterology. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol*. 2009 Feb;104(2):465-83. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2008.168>
 36. Zettl KS, Sjaastad MD, Riskin PM, Parry G, Machen TE, Firestone GL. Glucocorticoid-induced formation of tight junctions in mouse mammary epithelial cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Oct 1;89(19):9069-73.
 37. Fischer A, Gluth M, Weege F, Pape UF, Wiedenmann B, Baumgart DC, et al. Glucocorticoids regulate barrier function and claudin expression in intestinal epithelial cells via MKP-1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014 Feb;306(3):G218-28. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00095.2013>
 38. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Bengmark S, Lochs H, Dorffel Y. Azathioprine and mesalazine-induced effects on the mucosal flora in patients with IBD colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007 Jan;13(1):51-6.
 39. Marinkovic G, Hamers AAJ, de Vries CJM, de Waard V. 6-Mercaptopurine Reduces Macrophage Activation and Gut Epithelium Proliferation Through Inhibition of GTPase Rac1. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(9):1487-95.
 40. Beutheu Youmba S, Belmonte L, Galas L, Boukhattala N, Bôle-Feysot C, Déchelotte P, et al. Methotrexate Modulates tight junctions through NF-κB, MEK, and JNK pathways. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Apr;54(4):463-70. <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318247240d>
 41. Hamada K, Shitara Y, Sekine S, Horie T. Zonula Occludens-1 alterations and enhanced intestinal permeability in methotrexate-treated rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010 Nov;66(6):1031-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-010-1253-9>
 42. Rampton DS. Methotrexate in Crohn's disease. *Gut*. 2001 Jun;48(6):790-1. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.48.6.790>
 43. Fischer A, Gluth M, Pape UF, Wiedenmann B, Theuring F, Baumgart DC. Adalimumab prevents barrier dysfunction and antagonizes distinct effects of TNF-alpha on tight junction proteins and signaling pathways in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013 Jun 1;304(11):G970-9. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00183.2012>
 44. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001 Apr;2(4):285-93. <http://dx.doi.org/10.1038/35067088>
 45. Redzic Z. Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences. *Fluids Barriers CNS*. 2011;8(1):3. <http://dx.doi.org/10.1186/2045-8118-8-3>