



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Universidad de Málaga

Facultad de ciencias

Departamento de Biología celular, Genética y Fisiología

Tesis doctoral

**“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a
antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”**

María del Carmen Plaza Serón

Málaga, 2016



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: María del Carmen Plaza Serón

 <http://orcid.org/0000-0003-4695-5075>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





Doña MARÍA GABRIELA CANTO DÍEZ, doctora en Medicina y Cirugía, Jefa del servicio de Alergología del Hospital Regional Universitario Infanta Leonor,

CERTIFICA:

Que el trabajo que presenta MARÍA DEL CARMEN PLAZA SERÓN, con el título **“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”** ha sido realizado en el Hospital Universitario Infanta Leonor en colaboración con el laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), bajo mi dirección y considero que tiene el contenido y el rigor científico necesario para ser sometido a juicio del tribunal que ha nombrado la Universidad de Málaga para optar al grado de doctor.

Y para que así conste firmo el presente certificado en Málaga a de de 2016

Fdo. Dra. María Gabriela Canto Díez





Don MIGUEL BLANCA GÓMEZ, doctor en Medicina y Cirugía, Jefe del servicio de Alergología del Hospital Regional Universitario Carlos Haya de Málaga,

CERTIFICA:

Que el trabajo que presenta MARÍA DEL CARMEN PLAZA SERÓN, con el título **“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”** ha sido realizado en el Hospital Universitario Infanta Leonor en colaboración con el laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), bajo mi dirección y considero que tiene el contenido y el rigor científico necesario para ser sometido a juicio del tribunal que ha nombrado la Universidad de Málaga para optar al grado de doctor.

Y para que así conste firmo el presente certificado en Málaga a de de 2016





Don PEDRO AYUSO PAREJO, doctor en Biología, investigador postdoctoral del departamento de Nutrición y genética y la exposición a riesgos medioambientales de la universidad de Lorraine (Nancy, Francia) y del Hospital Universitario Infanta Leonor,

CERTIFICA:

Que el trabajo que presenta MARÍA DEL CARMEN PLAZA SERÓN, con el título **“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”** ha sido realizado en el Hospital Universitario Infanta Leonor en colaboración con el laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), bajo mi dirección y considero que tiene el contenido y el rigor científico necesario para ser sometido a juicio del tribunal que ha nombrado la Universidad de Málaga para optar al grado de doctor.

Y para que así conste firmo el presente certificado en Málaga a de de 2016

Fdo. Dr. Pedro Ayuso Parejo





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Don ENRIQUE VIGUERA MÍNGUEZ, doctor Biología molecular y bioquímica, profesor titular del área de genética del Departamento de Biología celular, Genética y Fisiología de la Universidad de Málaga,

CERTIFICA:

Que el trabajo que presenta MARÍA DEL CARMEN PLAZA SERÓN, con el título **“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”** ha sido realizado en el Hospital Universitario Infanta Leonor en colaboración con el laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), bajo mi tutela.

Y para que así conste firmo el presente certificado en Málaga a de de 201....

Fdo. Dr. Enrique Viguera Mínguez





Yo, MARÍA DEL CARMEN PLAZA SERÓN, declaro que soy autora del presente trabajo de investigación cuyo título es **“Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: relación fenotipo-genotipo”** y que ha sido realizado en el Hospital Universitario Infanta Leonor en colaboración con el laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), bajo la dirección de la Dra. María Gabriela Canto Díez, el Dr. Miguel Blanca Gómez y el Dr. Pedro Ayuso Parejo y bajo la tutela del Dr. Enrique Viguera Mínguez.

Y para que así conste firmo el presente certificado en Málaga a de de 201....

Fdo. María del Carmen Plaza Serón



Los resultados obtenidos en este trabajo han dado lugar a los siguientes artículos científicos y comunicaciones a congresos:

Artículos científicos

- Ayuso P*, **Plaza-Serón MC***, Blanca-López N, Doña I, Campo P, Canto MG, Laguna JJ, Bartra J, Soriano-Gomis V, Blanca M, Cornejo-García JA, Perkins JR. *“Genetic variants in arachidonic acid pathway genes associated with NSAID-exacerbated respiratory disease”*. Pharmacogenomics. 16 - 8, pp. 825 - 839. 07/2015. *Igual contribución.
- **Plaza-Serón MC***, Ayuso P*, Doña I, Blanca-López N, Flores C, Galindo L, Molina A, Perkins JR, Cornejo-García JA, Agúndez JA, García-Martín E, Campo P, Canto MG, Blanca M. *“A copy number variation in ALOX5 and PTGER1 is associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced urticaria and/or angioedema”*. Pharmacogenetics and genomics. *Igual contribución. (En revisión)
- Ayuso P*, **Plaza-Serón MC***, Doña I, Blanca-López N, Campo P, Cornejo-García JA, Perkins JR, Torres MJ, Blanca M, Canto MG. *“Association study of genetic variants in PLA2G4A, PLCG1, LAT, SYK and TNFRS11A genes in NSAIDs-induced urticaria and/or angioedema (NIUA) patients”*. Pharmacogenetics and genomics, 2015. *Igual contribución.
- **Plaza-Serón MC**, Blanca-López N, Doña I, Acosta-Herrera M, Pino-Yanes M, Flores C, Cornejo-García JA, Perkins JR, Molina A, Torres MJ, Blanca M, Canto MG, Ayuso P. *“Genetic variants of thymic stromal lymphopoietin in nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced urticaria/angioedema”*. International archives of Allergy and Immunology. (En revisión)

- Cornejo-García JA, Flores C, **Plaza-Serón MC**, Acosta-Herrera M, Blanca-López N, Doña I, Torres MJ, Mayorga C, Guéant-Rodríguez RM, Ayuso P, Fernández J, Laguna JJ, Agúndez JA, García-Martín E, Canto MG, Blanca M. "*Variants of CEP68 gene are associated with acute urticaria/angioedema induced by multiple non-steroidal anti-inflammatory drugs*". PlosOne. 2014.
- Cornejo-García JA, Liou LB, Blanca-López N, Doña I, Chen CH, Chen YC, Chuang HP, Wu JY, **Plaza-Serón MC**, Mayorga C, Guéant-Rodríguez RM, Lin SC, Torres MJ, Campo P, Rondón C, Laguna JJ, Fernández J, Guéant JL, Canto MG, Blanca M, Lee MT. "*Genome-wide association study in NSAIDs-induced acute urticaria/angioedema in Spanish and Han Chinese populations*". Pharmacogenomics. 2013.

Comunicaciones a congresos

- Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Blanca-López N, Doña I, Campo P, Canto MG, Laguna JL, Bartra J, Soriano-Gomis V, Blanca M, Cornejo-García JA, Perkins JR. "*Genetic variants in arachidonic acid pathway genes associated with NSAIDs-exacerbated respiratory disease*". Annual meeting of American Academy of Allergy and Asthma Immunology, EEUU, 2015.
- Cornejo-García JA, Lee MT, Blanca-López N, Doña I, Godineau V, Laguna JJ, Fernández J, Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Mayorga C, Canto MG, Torres MJ, Blanca M. "*A genome wide association study (GWAS) in patients with urticaria/angioedema induced by hypersensitivity to multiple non-steroidal anti-inflammatory drugs (NIUA)*". Annual meeting of European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Copenhagen, Dinamarca, 2014.
- Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Doña I, Blanca-López N, Salas M, Torres MJ, Osorio M, Godineau V, Galindo L, Mayorga C, Canto MG, Blanca M, Sanak M, Campo P. "*Urinary eicosanoids excretion profile in NIUA and NERD patients after NSAIDs*".

challenge". Annual meeting of European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Copenhagen, Dinamarca, 2014.

- **Plaza-Serón MC**, Ayuso P, Doña I, Blanca-López N, Cornejo-García JA, Torres MJ, Fernández J, Laguna JJ, Osorio M, Godineau V, Galindo L, Mayorga C, Blanca M, Canto MG. "*Variability in mast cell activation genes SYK, LAT1, PLCG1, PLA2G4A and TNFRS11A in patients with NIUA*". Annual meeting of European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Copenhagen, Dinamarca, 2014.
- Cornejo-García JA, Lee MT, Blanca-López N, Liou LB, Chen CH, Doña I, Godineau V, Laguna JJ, Fernández J, Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Canto MG, Blanca M. "*Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs)-Induced Acute Urticaria: A Genome-Wide Association Study In The Spanish Population*". Annual meeting of American Academy of Allergy and Asthma Immunology, San Diego, CA, EEUU, 2014.
- Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Doña I, Blanca-López N, Cornejo-García JA, Torres MJ, Fernández J, Laguna JJ, Osorio M, Godineau V, Galindo L, Mayorga C, Blanca M, Canto MG. "*Association study of genes involved in mast cell activation and MNSAID-UA*". Annual meeting of American Academy of Allergy and Asthma Immunology, San Diego, CA, EEUU, 2014.
- **Plaza-Serón MC**, Ayuso P, Blanca-López N, Doña I, Cornejo-García JA, Torres MJ, Fernández J, Laguna JJ, Godineau V, Osorio M, Galindo L, Canto MG, Blanca M. "*Copy number variations in ALOX5 and PTGER1 genes are associated with susceptibility to AERD and MNSAID-UA*". Annual meeting of American Academy of Allergy and Asthma Immunology, San Diego, CA, EEUU, 2014.
- Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Blanca-López N, Doña I, Cornejo-García JA, Torres MJ, Fernandez J, Laguna JJ, Godineau V, Osorio M, Galindo L, Herrera R, Canto MG, Blanca M. "*Copy number variations in PTGS1, PTGS2, LTC4S, ALOX5 and PTGER1-4 genes associated with AERD and MNSAID-UA*". European Academy of

Allergology and Clinical Immunology-world allergy and asthma congress, Milán, Italia, 2013.

- **Plaza-Serón MC**, Ayuso P, Blanca-López N, Doña I, Torres MJ, Fernández J, Laguna JJ, Godineau V, Galindo L, Herrera R, Canto MG, Mayorga C, Blanca M. *“Association between thymic stromal lymphopoietin polymorphisms and urticaria/angioedema induced by multiple NSAIDs”*. European Academy of Allergology and Clinical Immunology-world allergy and asthma congress, Milán, Italia, 2013.
- Cornejo-García JA, Chen YT, Chen CH, Blanca-López N, Doña I, Torres MJ, Rondón C, Laguna JJ, Fernández J, Ayuso P, **Plaza-Serón MC**, Gandolfo M, Rosado A, Canto MG. *“A genome-wide association study of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) induce acute urticaria in the Spanish population”*. Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, San Antonio, TX, EEUU,2013.
- **Plaza-Serón MC**, Ayuso P, Blanca-López N, Doña N, Torres MJ, Fernández J, Laguna JJ, Godineau V, Galindo L, Herrera R, Canto MG, Blanca M, Cornejo-García JA. *“Association of Thymic Stromal Lymphopoietin Genetic variants in Urticaria/angioedema induced by multiple NSAIDs”*. Annual meeting of American Academy of Allergy Asthma and Immunology, San Antonio, TX, EEUU,2013.
- Blanca M, Cornejo-García JA, **Plaza-Serón MC**, Flores C, Doña I, Blanca-López N, Jagemann LR, Laguna JJ, Fernández J, Canto MG. *“Genetic variants in CEP68 in patients with hypersensitivity reactions to NSAIDs”*. Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Orlando, EEUU, 2012.
- Cornejo-García JA, **Plaza-Serón MC**, Flores C, Doña I, Blanca-López N, Jagemann LR. *“Association of centrosomal protein 68 single nucleotide polymorphisms with hypersensitivity reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs”*. Annual

meeting of European academy of allergy and clinical immunology, Ginebra, Suiza, 2012.

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a las siguientes fuentes de financiación:

- Ayuda predoctoral de Formación en Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III (FI11/00117).
- Ayuda predoctoral de estancia de Formación en Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III para su desarrollo en el Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria bajo la supervisión del Dr. Carlos Flores Infantes.
- Proyecto de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III (PI10/01598). Reacciones de hipersensibilidad por intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos con afectación cutánea: Relación fenotipo-genotipo. Investigadora principal: Dra. María Gabriela Canto Díez.
- Proyecto de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III (FIS PS09/02419). Reacciones alérgicas a fármacos: estudios clínico-funcionales y de genes implicados. Investigador principal: Miguel Blanca Gómez.
- Proyecto de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III. Interacciones entre atopia e intolerancia cruzada a antiinflamatorios no esteroideos: estudios genéticos y funcionales. Investigadora principal: Dra. María Gabriela Canto Díez.
- Proyecto de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III (PI12/02247). Estudio de las bases funcionales y genéticas de las reacciones adversas a antiinflamatorios no esteroideos: urticaria aguda

inducida por intolerancia cruzada. Investigador principal: Dr. Miguel Blanca Gómez.

- Proyecto de investigación de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía. Definición de fenotipos intermedios en las reacciones de hipersensibilidad a AINE y su relación con genes implicados en la respuesta atópica. Investigador principal: Dra. Inmaculada Doña Díaz.

Agradecimientos



En esta vida no sabemos la importancia que realmente tienen nuestros consejos sobre las personas. Uno de ellos ha estado resonando en mi cabeza durante casi 5 años y gracias a ello, he conseguido llegar hasta el final de este camino. Por esto, a quien primero quiero agradecer el hecho de haber conseguido esta meta es a Ana Belén Blázquez.

Este camino no hubiese sido posible si Miguel, Lina, Pepa y Gabriela no me hubiesen dado la oportunidad de trabajar con ellos. Este hecho me ha permitido también conocer a gente realmente fantástica. Gente que no sólo son mis compañeros, sino que, muchos de ellos son mis amigos.

A mis compañeros Adri, M^a José Sánchez, Carlos, Miriam, Luisa, Raquel, M^a José Rodríguez, Miguelito, Ana Aranda, Ana Molina, Rosa, Curro, Lourdes, Caro, Ele, Lucas, etc, quiero agradecer tantos buenos momentos. Muchos de ellos, los hemos pasado en la "tetería". Así que esos batidos de chocolate, también tienen un hueco en este punto. Me gustaría hacerlos una dedicatoria personalizada a cada uno de vosotros, pero sois muchos y tendría que dividir la tesis en dos volúmenes para poder hacerlo.

A las compañeras del servicio de Alergia; Paloma, Luisa, Inma, María, Carmen, Natalia y todas las demás... Muchas gracias por vuestro trabajo y dedicación. Sin vuestra ayuda esto no habría sido posible.

Pedro, para ti tengo un agradecimiento especial. Si realmente alguien me ha ayudado a llegar hasta aquí con todas sus fuerzas, ese has sido tú. Sin tu enorme, grandísima, gigantesca y desinteresada ayuda, no habría sido posible. Desde que llegaste, mi viaje por este camino se volvió menos tortuoso y más llevadero. Me has enseñado muchísimo y hemos llegado a ser el mejor equipo que nadie pueda imaginar. Me has hecho ver la luz cuando más lo he necesitado y contigo he pasado los mejores momentos durante todos estos años. Esto ha sido como estar en el Tivoli (actuaciones incluidas). Lo único que no has conseguido es que escuche Radio 3. Ese programa de los elefantes en el sótano, por la tarde, era un tostón (¡y lo sabes!).

Hablando de radio, quiero agradecer a Juanmi que me guardase la radio durante la mudanza. Ella y yo hemos pasado muchos momentos juntas. La vida en pre-PCR, sin esa radio no habría sido igual.

Por supuesto quiero agradecer a los componentes del grupo del Dr. Carlos Flores. A todos ellos, sin excepción, les debo una de las mejores experiencias que he tenido. La estancia allí, me ha aportado mucho tanto profesional como personalmente. Con ellos me he sentido mejor que en casa.

Por último, pero no por ello menos importante, quiero agradecer a mi familia y a Enrique todo el apoyo que me han dado durante todos estos años. Ellos constituyen el pilar más importante de mi vida y hacen que esto merezca la pena. Sin ellos no sería quien soy.

Muchas gracias a todos por todo lo que me habéis aportado.



Abreviaturas

12-LOX: 12-lipoxigenasa

15-LOX: 15-lipoxigenasa

5-LOX: 5-lipoxigenasa

AA: ácido araquidónico

ABI3BP: miembro 3 de la familia ABI de proteína de unión (del inglés ABI family, member 3 (NESH) binding protein)

AGBL1: proteína de unión ATP/GTP (del inglés ATP/GTP binding protein-like1)

AINE: antiinflamatorio no esteroideos

AKAP9: proteína-quinasa 9 de anclaje A (del inglés A kinase (PRKA) anchor protein 9)

ASA: ácido acetilsalicílico

ATA: asmáticos tolerantes a los AINE

Barhl1: regulador transcripcional de tipo BarH (del inglés BarH-like homeobox 1)

BAT: test de activación de basófilos (del inglés basophil activation test)

BICC1: gen de la proteína 1 de unión a RNA de la familia BicC (del inglés BicC family RNA binding protein 1)

CAP: test in vitro para determinar IgE

CCNT2: ciclina T2 (del inglés cyclin T2)

CD97: *cluster* de diferenciación 97 (del inglés ADGRE5; adhesion G protein-coupled receptor E5)

CEP68: proteína centrosómica de 68 KDa (del inglés centrosomal protein 68kDa)

CI: intervalo de confianza (del inglés confidence interval)

CNV: variación en el número de copias (del inglés Copy number variation)

COL24A1: colágeno alfa 1 tipo XXIV (del inglés collagen, type XXIV, alpha 1)

COPD: enfermedad de obstrucción pulmonar crónica (del inglés chronic obstructive pulmonary disease)

COX: ciclooxigenasa

cPLA₂: fosfolipasa citosólica A₂ de tipo IV

CR: tasa de completado (del inglés completion rate)

CSMD1: dominio múltiple de tipo CUB y Sushi (del inglés CUB and Sushi multiple domains 1)

CysLTR1: receptor 1 de cisteinil-leucotrienos

CysLTR2: receptor 2 de cisteinil-leucotrienos

DAG: diacilglicerol

DDX39A: proteína componente de una RNA helicasa (del inglés DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 39A)

DNA: ácido desoxirribonucleico (del inglés desoxyribonucleic acid)

DP1: receptor 1 de la prostaglandina D₂ = PTGDR1: receptor 1 de prostaglandina D₂

DP2: receptor 1 de la prostaglandina D₂= PTGDR2: receptor 2 de prostaglandina D₂

EAACI: Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (del inglés European Academy of Allergy and Clinical Immunology)

ECP: proteína catiónica de eosinófilos (del inglés eosinophil cationic protein)

EGF: dominio extracelular de tipo tirosín-quinasa

EGF: factor de crecimiento epidérmico (del inglés epidermal growth factor)

ELISA: enzimoimmunoensayo

EXC₄: eoxina C₄

FBXL7: proteína 7 F-box con repeticiones ricas en leucina (del inglés F-box and leucine-rich repeat protein 7)

FDR: tasa de falso descubrimiento (del inglés false discovery rate)

FEV: volumen espirado (del inglés forced expiratory volumen)

FILIP1: proteína 1 asociada con la filamina A (del inglés filamin A interacting protein 1)

FLAP: proteína activadora de 5-LOX (también conocida como ALOX5AP)

FP: receptor de PGF₂α

GalNAc-T13: UDP-N-acetil-alfa-D-galactosamina: polipéptido Nacetilgalactosaminiltransferasa 13 (del inglés polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 13)

GATA: proteína de unión a GATA (del inglés GATA binding protein)

GC/MS: cromatografía de gases/espectrometría de masas

GC-NICI-MS: cromatografía de gases y espectrometría de masas en modo de ionización química negativa (del inglés gas-chromatography and mass spectrometry in negative-ion chemical ionization mass-spectrometry)

GINA: Guía de la Iniciativa Global para el Asma

GIPC1: miembro 1 de GIPC de la familia con dominio PDZ (del inglés GIPC PDZ domain containing family, member 1)

GPCR: receptores acoplados a proteínas G (del inglés G-protein-coupled receptors)

GWAS: estudio de asociación génica a nivel de genoma completo (del inglés genome wide association study)

HDAC2: Forma 2 de la histona desacetilasa (del inglés histone deacetylase 2)

HETE: ácido hidroxieicosatetranoico

HLF: factor de leucemia hepática (del inglés hepatic leukemia factor)

HpETE: ácido hidroxiperoxieicosatetranoico

HPLC/MS: cromatografía líquida de alta resolución/tándem espectrometría de masas

IC: intolerancia cruzada

ICAM-1: inductor de la expresión de moléculas de adhesión endotelial

IFT43: homólogo de transporte intraflagelar 43 (del inglés intraflagellar transport 43)

IgE: Inmunoglobulina E

IL1RAP: proteína asociada al receptor de IL-1 (del inglés IL-1 receptor accessory protein)

IL-13: interleucina 13

IL-1 β : interleucina-1 β

IL-4: interleucina 4

IL-5: interleucina 5

IL7R α : cadena α del receptor de la interleucina 7

IP: receptor de PGI₂

IP3: inositol trifosfato

I κ B- α : proteína inhibidora del factor NF- κ B

LAT: proteína activadora de los linfocitos T (del inglés linker for activation of T cells)

LD: desequilibrio de ligamiento (del inglés linkage disequilibrium)

LHFP: proteína HMGIC asociado a la fusión de los liposomas (del inglés lipoma HMGIC fusion partner)

LT: leucotrieno

LTA₄: leucotrieno A₄

LTB₄: leucotrieno B₄

LTC4S: leucotrieno C4 sintasa

LTC₄: leucotrieno C₄

LTD₄: leucotrieno D₄

LTE₄: leucotrieno E₄

LX: lipoxinas

LXR: receptor nuclear activado por lípidos

MAF: frecuencia del alelo menor (del inglés minor allele frequency)

MARCH8: proteín-ligasa de ubiquitina (del inglés membrane-associated ring finger (C3HC4) 8, E3 ubiquitin protein ligase)

mRNA: ácido ribonucleico mensajero

NAT2: N-Acetiltransferasa 2 dependiente de acetil-CoA

NECD: enfermedad cutánea exacerbada por AINE (del inglés NSAIDs-exacerbated cutaneous disease)

NERD: enfermedad respiratoria exacerbada por AINE (del inglés NSAIDs-exacerbated respiratory disease).

NFAT: factor nuclear de los linfocitos T activados (del inglés nuclear factor of activated T-cells)

NF-κB: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NIUA: urticaria/angioedema inducida por AINE (del inglés NSAIDs-induced urticaria/angioedema)

OR: odds ratio

PC₂₀: dosis de fármaco que hace disminuir el FEV1 en un 20%

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PDE4B: fosfodiesterasa 4B (del inglés phosphodiesterase 4B, cAMP-specific)

PG: prostaglandina

PGD₂: prostaglandina D₂

PGE₂: prostaglandina E₂

PGF_{2α}: prostaglandina F₂

PGG₂: Prostaglandina G₂

PGH₂: prostaglandina H₂

PGI₂: prostaglandina I₂

Ph1: fase 1

Ph2: fase 2

PIP2: fosfoinositol difosfato

PKA: proteín-quinasa A

PKN1: proteín-quinasa N1 (del inglés protein kinase N1)

PTGDR: receptor de prostaglandina D₂

PTGER1: receptor 1 de prostaglandina E₂

PTGER2: receptor 2 de prostaglandina E₂

PTGER3: receptor 3 de prostaglandina E₂

PTGER4: receptor 4 de prostaglandina E₂

PTGFR: receptor de prostaglandina F₂

PTGS1: prostaglandina endoperoxidasa sintasa 1 (ciclooxigenasa 1) (del inglés prostaglandin-endoperoxide synthase 1)

PTGS2: prostaglandina endoperoxidasa sintasa 2 (ciclooxigenasa 2) (del inglés prostaglandin-endoperoxide synthase 2)

qPCR: PCR cuantitativa

RAB1A: proteína miembro de la familia de oncogenes RAS

RAD51L1 (RAD51B): parálogo B de RAD51 (del inglés RAD51 paralog B)

RAF: Reacciones adversas a fármacos

RGMB: miembro B de la familia RGM (del inglés repulsive guidance molecule family member B)

RIMS1: gen de regulación de la exocitosis-1 de la membrana sináptica (del inglés regulating synaptic membrane exocytosis 1)

RIRAAF: Red de Investigación de Reacciones Adversas a Alérgenos y Fármacos

RNA: ácido ribonucleico (del inglés ribonucleic acid)

Rv: resolvinas

sIgE: inmunoglobulina E específica (del inglés specific IgE)

SLC1A4: miembro 4 de la familia de transportadores de solutos 1 (del inglés solute carrier family 1 member 4)

SNIDR: reacciones tardías inducidas por un único AINE (del inglés Single-NSAID-induced delayed reactions)

SNIUAA: urticaria/angioedema o anafilaxis inducida por un único AINE (del inglés Single-NSAID-Induced urticaria/angioedema or anaphylaxis)

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido (del inglés Single nucleotide polymorphism)

Sp1: factor de transcripción Sp1

SPT: prick cutáneo (del inglés Skin prick test)

SYK: tirosín-quinasa del bazo (del inglés Spleen Tyrosine Kinase)

TBXA2R: receptor de tromboxano A₂ (del inglés thromboxane A2 receptor)

TBXAS1: tromboxano sintasa 1 (del inglés thromboxane A synthase 1)

TGF-β: factor de crecimiento de los linfocitos T

TLR4: receptor de tipo toll 4 (del inglés toll like receptor 4)

TNFRSF11A (RANK): proteína activadora de NF-κB (del inglés tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11a, NFκB activator)

TNF-α: factor de necrosis tumoral

TP: receptor de TXA₂

TPB: test de provocación bronquial

TPN: test de provocación nasal

TPO: test de provocación oral

TRIB1: proteína inductora de un receptor asociado a proteína G (del inglés tribbles pseudokinase 1)

TSLP: linfopoyetina estromal tímica (del inglés thymic stromal lymphopoyetin)

TSLPR: receptor de la linfopoyetina estromal tímica (del inglés thymic stromal lymphopoyetin receptor)

tSNP: tagSNP

TTL: test de transformación linfocitaria

TXA₂: tromboxano A₂

UTR: extremo no traducido (del inglés untranslated region)

VNTR: número variable de repeticiones en tandem (del inglés Variable Number of Tandem Repeats)

ZCCHC14: dominio 14 de CCHC (del inglés zinc finger, CCHC domain containing 14)

ZNF492: proteína 492 con dedo de zinc (zinc finger protein 492)



Índice



Introducción	45
1. Reacciones adversas a fármacos.....	47
1.1. Definición.....	47
1.2. Epidemiología y prevalencia.....	47
1.3. Clasificación.....	47
2. Reacciones de hipersensibilidad a fármacos.....	48
2.1. Definición.....	48
2.2. Epidemiología y prevalencia.....	48
3. Reacciones de hipersensibilidad a antiinflamatorios no esteroideos.....	48
3.1. Los antiinflamatorios no esteroideos.....	48
3.1.1. Definición de los AINE.....	48
3.1.2. Clasificación de los AINE.....	49
3.1.3. Mecanismo de acción de los AINE.....	50
3.1.4. Importancia de los AINE.....	51
3.2. Definición de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	51
3.3. Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	52
3.3.1. Reacciones atribuidas a un mecanismo inmunológico no específico.....	54
3.3.2. Reacciones atribuidas a un mecanismo inmunológico específico.....	55
3.4. Prevalencia.....	56
3.5. Principales AINE implicados.....	56
3.6. Diagnóstico.....	57
3.7. Mecanismos fisiopatológicos implicados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	59
3.7.1. La vía del ácido araquidónico.....	59
3.7.1.1. La vía de la ciclooxigenasa.....	62
3.7.1.2. La vía de la lipoxigenasa.....	63
3.7.1.3. La vía de la P450 epoxigenasa.....	67
3.7.1.4. Efectos producidos por los mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico.....	67
3.7.2. Relación entre la vía del ácido araquidónico y la hipersensibilidad a los AINE.....	68
3.7.2.1. La hipótesis de la COX.....	68



3.7.2.2. Otras hipótesis.....	69
3.8. Antecedentes al estudio fenotípico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	69
3.9. Antecedentes al estudio genotípico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	71
3.9.1. Alteraciones en la vía de las ciclooxigenasas.....	71
3.9.2. Alteraciones en las vías de las lipoxigenasas.....	72
3.9.3. Alteraciones en los receptores de los eicosanoides.....	73
3.9.4. Alteraciones en los sistemas de eliminación de los eicosanoides.....	75
3.9.5. Estudios alternativos para la caracterización genotípica de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	75
3.9.6. Limitaciones.....	76
3.10. Inicio de la señal inflamatoria en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.....	76
3.10.1. Transmisión de la señal hacia el interior celular.....	76
3.10.2. Activación celular a través de la actuación de citoquinas.....	79
Justificación e hipótesis.....	81
Objetivos.....	85
Material y métodos.....	89
1. Selección de los pacientes.....	91
1.1. Grupo de pacientes NERD.....	91
1.2. Grupo de pacientes NIUA.....	91
1.3. Grupo de pacientes mixtos.....	92
1.4. Grupo de individuos ATA.....	92
1.5. Grupo de controles sanos.....	92
1.6. Criterios de exclusión.....	92
2. Determinación del estado atópico.....	94
3. Declaración ética.....	94
4. Provocación nasal con L-ASA.....	95
5. Provocación oral con ASA.....	95
6. Obtención de muestras y determinación de mediadores inflamatorios.....	96
7. Extracción de DNA, controles de calidad y cuantificación.....	97
8. Selección de los polimorfismos.....	97

9. Selección de los CNV.....	100
10. Genotipado.....	101
10.1 Fundamento de las sondas utilizadas.....	101
10.2. Procedimiento para el genotipado de SNP.....	102
10.3. Procedimiento para el genotipado de CNV.....	103
10.4. Procedimiento para el genotipado a nivel de genoma completo y su validación...104	
11. Análisis funcional de redes proteicas asociadas.....	104
12. Análisis estadístico.....	104
Resultados.....	111
1. Análisis del perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico.....	113
1.1 Características clínicas de los individuos y síntomas desarrollados tras la provocación.....	113
1.2 Resultados de la determinación de mediadores a nivel basal.....	115
1.3 Resultados de la determinación de mediadores tras la provocación.....	117
2. Análisis de asociación entre pacientes NERD y una serie de SNP y CNV de genes involucrados en la vía del ácido araquidónico.....	119
2.1 Características de la población de estudio.....	119
2.2 Resultados del estudio de asociación entre SNP localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NERD.....	121
2.3 Resultados del estudio de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NERD.....	130
3. Análisis de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NIUA.....	131
3.1 Características de los individuos analizados.....	131
3.2 Resultados del estudio de asociación.....	133
4. Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA.....	137
4.1 Características de la población de estudio.....	137
4.2 Resultados del estudio de asociación.....	138
5. Análisis de asociación entre SNP de <i>TSLP</i> , <i>IL7R</i> y <i>TSLPR</i> y NIUA.....	146
5.1 Características de la población de estudio.....	146

5.2 Resultados del estudio de asociación.....	146
6. Análisis de asociación entre SNP de <i>CEP68</i> y la hipersensibilidad a los AINE.....	149
6.1 Características de la población de estudio.....	149
6.2 Resultados del estudio de asociación de <i>CEP68</i>	150
6.3 Resultados del estudio de asociación de <i>RAB1A</i>	157
7. Estudio de asociación a nivel de genoma completo.....	161
7.1 Características de la población de estudio.....	161
7.2 Controles de calidad de los datos.....	161
7.3 Resultados del análisis de asociación en la población española.....	162
7.4 Resultados del análisis de asociación en la población de chinos Han.....	168
7.5 Meta-análisis de las dos poblaciones.....	178
Discusión.....	185
1. Análisis del perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico.....	187
2. Análisis asociación entre pacientes NERD y una serie de SNP y CNV de genes involucrados en la vía del ácido araquidónico.....	189
3. Análisis de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NIUA.....	193
4. Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA.....	196
5. Análisis de asociación entre SNP de <i>TSLP</i> , <i>IL7R</i> y <i>TSLPR</i> y NIUA.....	198
6. Análisis de asociación entre SNP de <i>CEP68</i> y la hipersensibilidad a los AINE.....	200
7. Estudio de asociación a nivel de genoma completo.....	203
Conclusiones.....	207
Anexos.....	211
1. Anexo 1: Conceptos generales de los estudios de asociación.....	213
2. Anexo 2: Criterios de selección de los SNP de los genes implicados en la vía de activación del mastocito.....	219
3. Anexo 3: Tablas de resultados complementarios.....	221
Bibliografía.....	251

Índice de figuras

Figura 1: Diferencia en la estructura entre las isoformas COX-1 (A) y COX-2 (B).

Figura 2: Medicamentos involucrados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE en función a cada periodo de tiempo.

Figura 3: Algoritmo para el diagnóstico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.

Figura 4: Vía del ácido araquidónico; enzimas, productos y receptores principales.

Figura 5: Szczeklik y un ejemplar de uno de sus trabajos sobre la teoría de la COX.

Figura 6: Vías de activación del mastocito.

Figura 7: Vía de actuación de TSLP.

Figura 8: Fundamento de las sondas TaqMan®.

Figura 9: Niveles de LTE₄ basal en pacientes (NERD y NIUA) y controles.

Figura 10: Valores de LTE₄ liberados por los pacientes NERD y los controles, durante la provocación nasal.

Figura 11: Valores de 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂ liberados por los pacientes NERD y los controles, durante la provocación nasal.

Figura 12: Valores de 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGE₂ liberados por los pacientes NIUA y los controles, durante la provocación oral.

Figura 13: Valores de isoprostano iPF_{2α}-VI liberados por los pacientes NIUA y los controles, durante la provocación oral.

Figura 14: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *TSLP* ordenados por posición cromosómica.

Figura 15: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *IL7R* ordenados por posición cromosómica.

Figura 16: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *CEP68* ordenados por posición cromosómica.

Figura 17: GWAS para NIUA en población Española.

Figura 18: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *RIMS1* ordenados por posición cromosómica.

Figura 19: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *BICC1* ordenados por posición cromosómica.

Figura 20: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *RAD51L1* ordenados por posición cromosómica

Figura 21: GWAS para NIUA en la población de Chinos Han.

Figura 22: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *ABI3BP* ordenados por posición cromosómica.

Figura 23: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *PDEB4* ordenados por posición cromosómica.

Figura 24: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 9, ordenados por posición cromosómica.

Figura 25: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 14, ordenados por posición cromosómica.

Figura 26: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 17, ordenados por posición cromosómica.

Figura 27: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *HLF*, ordenados por posición cromosómica.

Figura 28: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *RAD51L1*, ordenados por posición cromosómica.

Figura 29: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *COL24A1*, ordenados por posición cromosómica.

Figura 30: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *GalNAc-T13*, ordenados por posición cromosómica.

Figura 31: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *FBXL7*, ordenados por posición cromosómica.

Figura 32: Red de interacciones funcionales de la proteína CEP68.

Figura 33: Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y variaciones en el número de copias (CNV).

Índice de tablas

Tabla 1: Clasificación de los AINE en función de su estructura química.

Tabla 2: Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad a ASA y otros antiinflamatorios no esteroideos.

Tabla 3: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de prostanoideos.

Tabla 4: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de leucotrienos.

Tabla 5: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de lipoxinas o resolvinas.

Tabla 6: Efectos fisiológicos de los principales eicosanoides.

Tabla 7: Resumen de los estudios preliminares en los que se ha analizado mediadores inflamatorios en orina, en pacientes con hipersensibilidad a AINE.

Tabla 8: Tipo y número de individuos incluidos en cada uno de los estudios que componen esta tesis doctoral.

Tabla 9: Relación de SNP genotipados.

Tabla 10: Información detallada de los CNV analizados en esta tesis.

Tabla 11: Componentes para la reacción de PCR para la determinación alélica de SNP con sondas TaqMan.

Tabla 12: Condiciones experimentales de la reacción de PCR para genotipado de SNP con sondas TaqMan en el termociclador Fast 7500.

Tabla 13: Componentes de la PCR para la identificación de CNV.

Tabla 14: Condiciones de la PCR para identificación de CNV.

Tabla 15: Características clínicas de los pacientes y controles incluidos en el estudio de los mediadores inflamatorios derivados de la vía de AA en muestras de orina.

Tabla 16: Resultados clínicos obtenidos de la provocación nasal de los diez pacientes NERD incluidos en el estudio de la determinación de mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA.

Tabla 17: Resultados del test de provocación oral (TPO) y síntomas desarrollados durante la prueba de exposición controlada de los pacientes NIUA incluidos en el estudio de la determinación de mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA.

Tabla 18: Valores medios de los mediadores eicosanoides derivados de la vía de AA medidos a nivel basal, para los grupos de pacientes NERD, NIUA y los individuos control.

Tabla 19: Datos clínicos y demográficos de los individuos analizados en el estudio de las variantes implicadas en la vía del AA en pacientes NERD.

Tabla 20: Genotipo y MAF de los SNP en la vía del AA. La frecuencia alélica representa la frecuencia alélica menor para cada SNP.

Tabla 21: Frecuencias haplotípicas de los genes de la vía del AA que se han asociado con NERD.

Tabla 22: CNV en los genes *PTGS1*, *PTGS2*, *LTC4S*, *ALOX5* y *PTGER1-4* en NERD, ATA y controles.

Tabla 23: Datos demográficos y clínicos de los pacientes NIUA y los individuos tolerantes a los AINE (controles), en función a las dos fases del estudio de las CNV.

Tabla 24: AINE involucrados en las reacciones NIUA expresado en porcentaje.

Tabla 25: Información de los genes estudiados, controles de calidad y resultados del genotipado de las CNV en pacientes NIUA y controles.

Tabla 26: Resultados de asociación de los genes que presentan CNV y NIUA, en función de las diferentes fases y del meta-análisis.

Tabla 27: Relación entre la pérdida de una copia en *ALOX5* y *PTGER1* y NIUA.

Tabla 28: Resultados de asociación entre la presencia de una pérdida de copia en el gen y la atopía. Sólo se muestran los resultados de los genes que presentaron CNV.

Tabla 29: Características clínicas y demográficas de los sujetos (NIUA y controles) incluidos en el estudio de los genes implicados en la activación del mastocito.

Tabla 30: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *PLA2G4A* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo.

Tabla 31: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *PLCG1* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo.

Tabla 32: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *LAT* y *SYK* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo.

Tabla 33: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *TNFRS11A* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo.

Tabla 34: Frecuencias haplotípicas de los SNP de los genes implicados en la vía de activación del mastocito que se han asociado con NIUA.

Tabla 35: Características clínicas y fármacos causantes de las reacciones de los sujetos (NIUA y controles) incluidos en el análisis de las variantes de TSLP y su receptor.

Tabla 36: Información, controles de calidad de los tSNP (*TSLP* e *IL7R*) y SNP seleccionados para *TSLPR*.

Tabla 37: Resultados de imputación y asociación para los SNP de *TSLP* asociados nominalmente con NIUA.

Tabla 38: Datos demográficos y clínicos de los casos y controles incluidos en el estudio de *CEP68*.

Tabla 39: Medidas de los controles de calidad para los SNP genotipados del gen *CEP68*.

Tabla 40: Resultados de asociación de los SNP de *CEP68* para NIUA.

Tabla 41: Resultados de asociación y función predicha para los 17 SNP de *CEP68* asociados con NIUA.

Tabla 42: Resultados de los análisis de regresión resultante de los SNP que se habían asociado con NIUA en función de rs1050675 (*CEP68*).

Tabla 43: Resultados de asociación de los SNP de *CEP68* para los grupos comparados NERD y Mixtos.

Tabla 44: Asociación de las variantes imputadas de *RAB1A* con la hipersensibilidad a los AINE.

Tabla 45: Resultados del análisis de asociación de *CEP68* y *RAB1A* para NIUA en función del SNP rs1050675 de *CEP68*.

Tabla 46: Datos clínicos y demográficos de pacientes y controles analizados en el GWAS.

Tabla 47: Resultados del estudio de asociación en la población Española.

Tabla 48: Resultados del estudio de asociación en la población de Chinos Han.

Tabla 49: Resultados del meta-análisis realizado con los datos obtenidos de los GWAS realizado con las poblaciones Española y de chinos Han.

Tabla 50: Tipos de estudios de asociación génica.

Tabla S1: Información sobre los CNV estudiados previamente, localizados en la misma región que se ha analizado en este estudio.

Tabla S2: Resultados de imputación y de asociación para los SNP de *TSLP* con NIUA

Tabla S3: Resultados de imputación y de asociación para los SNP de *IL7R* con NIUA

Tabla S4: Resultados de asociación de las variantes analizadas de *CEP68* y NIUA, NERD y reacciones mixtas.

Tabla S5: Resultados completos de asociación de las variantes imputadas de *RAB1A* y NIUA, NERD y reacciones mixtas.

Introducción

Reacciones adversas a fármacos

Definición

Según la Organización Mundial de la Salud, se definen como **reacciones adversas a fármacos** (RAF) todas aquellas respuestas nocivas e inexplicadas o cualquier otro efecto perjudicial no deseado que ocurre tras la administración de una dosis normalmente utilizada en la especie humana para la profilaxis, diagnóstico y tratamiento de una enfermedad o para la modificación de una función biológica [1-2].

Epidemiología y prevalencia

Las RAF son un problema de salud preocupante que afecta a un elevado número de pacientes de cualquier edad [3-4]. Estas reacciones no son detectadas ni pueden predecirse antes de la entrada de estos medicamentos en el mercado [5]. Además, son las causantes del 0.24-0.9% de las muertes que ocurren en hospitales [1]. Este tipo de reacciones pueden clasificarse en función de sus características clínicas, farmacológicas y químicas.

Clasificación

Atendiendo a la farmacología, se pueden diferenciar 5 tipos principales (A-E): Las reacciones de tipo A son las más frecuentes (70-80%). Ocurren de forma predecible y se producen por la acción farmacológica del medicamento. Normalmente, se deben a una sobredosificación, a la toxicidad del propio fármaco, a los efectos secundarios o a interacciones con otros medicamentos [1,6]. Las reacciones de tipo B no están relacionadas con el efecto farmacológico del medicamento, son imprevisibles e independientes de la dosis administrada [1]. Estas últimas afectan a individuos que presentan alguna predisposición y suponen entre el 10-15% del total de las RAF [7]. En este grupo se incluyen las **reacciones de hipersensibilidad a fármacos**. Las reacciones de tipo C o continuas, se deben al uso prolongado del fármaco a lo largo del tiempo, por ejemplo la dependencia [8]. Las reacciones de tipo D son aquellas denominadas

retardadas, en ellas los efectos se muestran a largo plazo, por ejemplo; carcinogénesis o teratogénesis [8]. Las últimas, son las reacciones de tipo E, ocurren cuando cesa el tratamiento. Es el llamado “efecto rebote” [8].

Reacciones de hipersensibilidad a fármacos

Definición

La Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) ha definido a las reacciones de hipersensibilidad a fármacos como todas aquellas respuestas inmunes que provocan daño tisular y pueden causar enfermedades graves [9].

Epidemiología y prevalencia

Estas reacciones a medicamentos ocasionan entre el 3 y el 6% de las admisiones hospitalarias y se producen en el 10-15 % de los pacientes hospitalizados [10]. En España, son la tercera causa de consulta en los servicios de alergia, tras la rinitis y el asma bronquial [11]. A nivel europeo, han sido la segunda causa de consulta tras la rinitis [12], tanto en la población adulta (8.6%) como en la infantil (8.9%) en el año 2014 [12].

Reacciones de hipersensibilidad a antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos

Definición de los AINE

Los **antiinflamatorios no esteroideos (AINE)** forman una clase heterogénea de fármacos con estructuras químicas diferentes (Tabla 1) que comparten acciones analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias. Son los medicamentos más prescritos para el tratamiento del dolor, la fiebre y la inflamación en todo el mundo [13-14]. En la actualidad se estima que son utilizados por unos diez millones de individuos a diario [15].

Clasificación de los AINE

La clasificación de los AINE en función a su estructura química se presenta en la tabla 1.

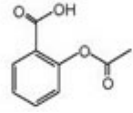
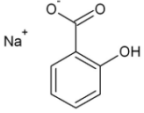
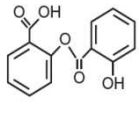
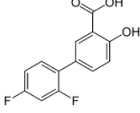
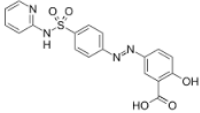
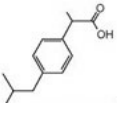
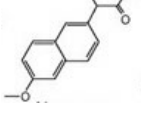
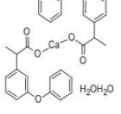
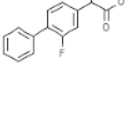
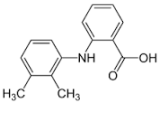
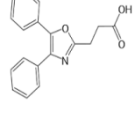

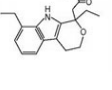
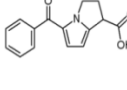
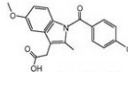
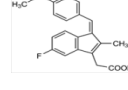
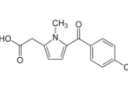
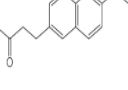
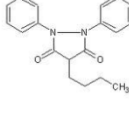
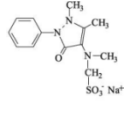
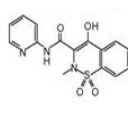
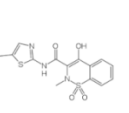
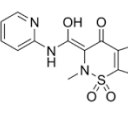
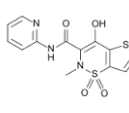
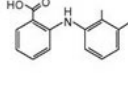
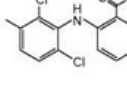
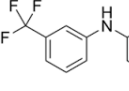
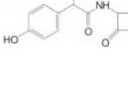
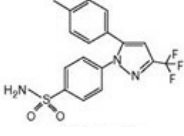
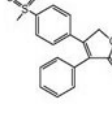
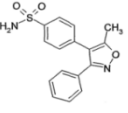
Derivados del ácido salicílico						
<p>Ácido acetilsalicílico</p> 	<p>Salicilato sódico</p> 	<p>Salsalato</p> 	<p>Diflunisal</p> 	<p>Sulfasalazino</p> 		
Derivados del ácido propiónico						
<p>Ibuprofeno</p> 	<p>Naproxeno</p> 	<p>Fenoprofeno</p> 	<p>Flurbiprofeno</p> 	<p>Ketoprofeno</p> 	<p>Oxaprozina</p> 	
Derivados del ácido acético						
<p>Diclofenaco</p> 	<p>Etodolaco</p> 	<p>Ketorolaco</p> 	<p>Indometacina</p> 	<p>Sulindaco</p> 	<p>Tolmetina</p> 	<p>Nabumetona</p> 
Derivados del ácido enólico						
<p>Fenilbutazona</p> 	<p>Dipirona</p> 	<p>Piroxicam</p> 	<p>Meloxicam</p> 	<p>Tenoxicam</p> 	<p>Lornoxicam</p> 	
Derivados del ácido fenámico (Fenamatos)						
<p>Ácido mefenámico</p> 	<p>Ácido meclofenámico</p> 	<p>Ácido flufenámico</p> 	<p>Ácido tolfenámico</p> 			
Inhibidores selectivos de COX-2 (Coxibs)						
<p>Celecoxib</p> 	<p>Rofecoxib</p> 	<p>Valdecoxib</p> 				

Tabla 1: Clasificación de los AINE en función de su estructura química. En esta tabla se presentan las estructuras químicas de algunos de los AINE disponibles en el mercado. Se han diferenciado en función a su grupo químico en 6 grandes grupos: los derivados de ácido salicílico, ácido propiónico, ácido acético, ácido enólico, ácido fenámico y los inhibidores selectivos de la COX-2.

Mecanismo de acción de los AINE

El mecanismo de acción de estos medicamentos se basa en la capacidad que tienen todos ellos de inhibir a la enzima ciclooxigenasa (COX) [16]. Actualmente, se conocen tres isoformas de la ciclooxigenasa, denominadas COX-1, COX-2 y COX-3 [16].

Los prostanoideos producidos por la vía de las ciclooxigenasas regulan la respuesta inmune e inflamatoria, además de aumentar y sensibilizar la vía del dolor [17]. Los AINE neutralizan estos efectos mediante la inhibición de la COX [17]. Dichos inhibidores bloquean la acción de estas isoformas a través de uno de los cuatro modelos de acción siguientes: A) mediante unión covalente por acetilación de la serina 530, como es el caso del ácido acetil-salicílico (ASA); B) siguiendo un modelo de inhibición competitiva, como el caso del ibuprofeno; C) a través de una unión débil como el naproxeno o D) mediante una unión fuerte como la indometacina [17]. En el caso de los inhibidores selectivos de la COX-2, el cambio de un solo aminoácido en la posición 523 de una isoleucina (COX-1) a una valina (COX-2) (Figura 1), modifica la apertura del bolsillo lateral en el que se encuentran una serie de residuos con los que los AINE pueden interactuar (Arg513, His90, Phe518) [17].

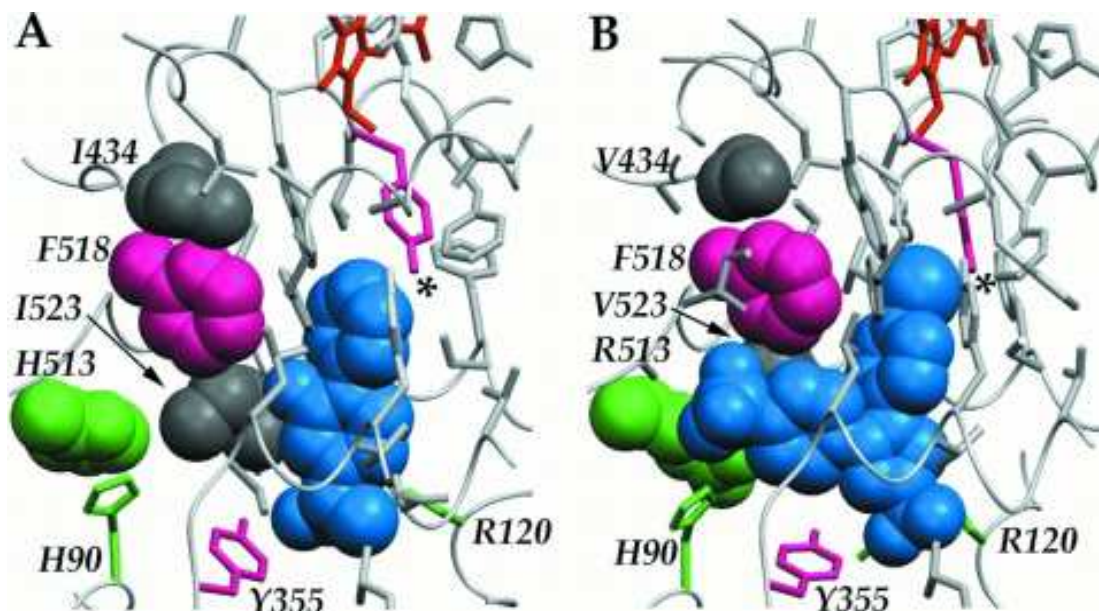


Figura 1: Diferencia en la estructura entre las isoformas COX-1 (A) y COX-2 (B). La única diferencia está en el cambio de una isoleucina en la posición 523 por una valina. Imagen tomada de [18].

Esta apertura, supone un incremento de un 25% del tamaño del sitio de unión de la COX-2 comparado con la COX-1, lo que permite la acción de dichos inhibidores selectivos de COX-2 [17]. La variabilidad en la interacción de lo AINE con las diferentes isoformas de la enzima COX es un factor influyente en el grado de inhibición y en la respuesta a los mismos [19].

Importancia de los AINE

Los AINE han sido relacionados con una amplia gama de reacciones adversas entre las que se encuentran algunas enfermedades gastrointestinales, coronarias y las reacciones de hipersensibilidad a fármacos [20-21]. De todas las reacciones adversas a fármacos descritas, nuestro estudio se ha centrado en analizar aquellas reacciones de tipo B que provocan reacciones de hipersensibilidad tras la toma de AINE.

Los antibióticos β -lactámicos han sido considerados como los medicamentos más frecuentemente implicados en las reacciones de hipersensibilidad a fármacos [22]. Sin embargo, este hecho está cambiando y actualmente los AINE son los más frecuentes [4,23-24]. De hecho, dos estudios independientes llevados a cabo en pacientes Europeos mostraron que los AINE son los responsables del 35-37% de las reacciones de hipersensibilidad, seguidos por los antibióticos β -lactámicos (aproximadamente el 30%) y no β -lactámicos (15%)[23-25].

Definición de las reacciones de hipersensibilidad a AINE

Actualmente las **reacciones de hipersensibilidad a los AINE** se definen como aquellas respuestas que, mediante diferentes mecanismos, inducen cambios conformacionales en componentes de la membrana celular de basófilos, mastocitos y eosinófilos. Estos inician una serie de reacciones en cascada que finalizan con la liberación de un gran número de mediadores preformados, como histamina, triptasa, heparina o factores quimiotácticos. Así como de otros mediadores sintetizados *de novo* a partir del ácido araquidónico (AA) como leucotrienos (LT) y prostaglandinas (PG)[26].

Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad a AINE

De acuerdo con la reciente clasificación presentada por la EAACI, las reacciones de hipersensibilidad a los AINE se diferencian atendiendo al tiempo de reacción (o intervalo entre la toma del fármaco y la aparición de los síntomas), al mecanismo implicado y a la manifestación clínica. Como resultado, se clasifican 5 grupos de entidades clínicas (Tabla 2).

Tipo de reacción	Manifestación clínica	Tiempo de reacción	Enfermedad de base	Reactividad cruzada	Mecanismo propuesto
Enfermedad respiratoria exacerbada por AINE (NERD)	Obstrucción bronquial, disnea y/o congestión nasal/rinorrea.	Aguda (usualmente inmediata, hasta varias horas después de la exposición)	Asma/ Rinosinusitis	Reactividad cruzada	No alérgico Inhibición de la COX-1
Enfermedad cutánea exacerbada por AINE (NECD)	Ronchas y/o angioedema	Aguda (usualmente inmediata, hasta varias horas después de la exposición)	Urticaria crónica	Reactividad cruzada	Inhibición de la COX-1
Urticaria/angioedema inducida por AINE (NIUA)	Ronchas y/o angioedema	Aguda (usualmente inmediata, hasta varias horas después de la exposición)	Sin enfermedades crónicas de base	Reactividad cruzada	Desconocido, probablemente inhibición de la COX-1
Urticaria/angioedema o anafilaxis inducida por un único AINE (SNIUAA)	Ronchas/angioedema/ anafilaxis	Aguda (usualmente inmediata, hasta varias horas después de la exposición)	Sin enfermedades crónicas de base	No reactividad cruzada	Alérgico Mediado por IgE
Reacciones tardías inducidas por un único AINE (SNIDR)	Varios síntomas y órganos involucrados	Tardía (usualmente más de 24 horas después de la exposición)	Sin enfermedades crónicas de base	No reactividad cruzada	Alérgico Mediado por linfocitos T

Tabla 2: Clasificación de las reacciones de hipersensibilidad a ASA y otros antiinflamatorios no esteroideos. Tabla modificada de Kowalski *et al* [27-28].NERD; Enfermedad respiratoria exacerbada por AINE (NSAIDs-exacerbated respiratory disease). NECD; Enfermedad cutánea exacerbada por AINE (NSAIDs-exacerbated cutaneous disease). NIUA; Urticaria/angioedema inducida por AINE (NSAIDs-induced urticaria/angioedema). SNIUAA; Urticaria/angioedema o anafilaxis inducida por un único AINE (Single-NSAID-Induced urticaria/angioedema or anaphylaxis). SNIDR; Reacciones tardías inducidas por un único AINE (Single-NSAID-induced delayed reactions). En función al tiempo de reacción; NERD, NECD, NIUA y SNIUAA son reacciones agudas, mientras que las SNIDR son reacciones tardías.

En función del mecanismo implicado en la respuesta, estas reacciones se dividen en dos grandes grupos: reacciones atribuidas a un *mecanismo inmunológico no específico* o reacciones atribuidas a un *mecanismo inmunológico específico*.

Reacciones atribuidas a un mecanismo inmunológico no específico

Las reacciones atribuidas a un *mecanismo inmunológico no específico* son las llamadas reacciones de **intolerancia cruzada (IC), reactividad cruzada o cross-intolerantes**. Son las más frecuentes, de hecho el 48.5% de las reacciones de hipersensibilidad a medicamentos se debe a un mecanismo de IC inducido por AINE [23]. Son causadas por dos o más tipos de AINE con estructura diferente y químicamente no relacionados [29]. Estas reacciones son inmediatas (es decir, que ocurre en un intervalo de tiempo, generalmente de unos 15 minutos, pero que puede ocurrir en las primeras horas tras la administración del fármaco)[23]. Las manifestaciones clínicas de este grupo son las siguientes:

Enfermedad respiratoria exacerbada por AINE (NERD): es también conocida como enfermedad respiratoria reagravada por aspirina o asma inducido por aspirina. Los síntomas característicos de asma inducido por AINE son la presencia de una obstrucción bronquial desarrollada entre 30-180 minutos tras la administración del fármaco que va acompañada de manifestaciones extra-bronquiales incluyendo síntomas nasales (rinorrea, congestión nasal) [28]. Recientemente, se ha sugerido la posibilidad de que existan más fenotipos intermedios que se pueden caracterizar en función de los síntomas que presentan los pacientes tras la exposición al fármaco [30-31]. Además, se ha descrito que el sexo y la atopia son factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad [32].

Enfermedad cutánea exacerbada por AINE (NECD): denominada también como urticaria inducida por aspirina o enfermedad cutánea exacerbada por aspirina. Estos pacientes presentan urticaria crónica como patología de base manifestando habones y/o angioedema reagravado tras la ingesta de AINE. Los síntomas pueden durar varios días y es dependiente de la dosis del fármaco [28].

Urticaria/angioedema inducido por AINE (NIUA): se presenta en forma de urticaria y/o angioedema en individuos sin historia de enfermedad cutánea o respiratoria de base. Los síntomas ocurren en un intervalo de tiempo que suele ser menor a una hora, aunque algunos casos se pueden presentar tras varias horas [28].

Un estudio realizado recientemente por Doña *et al.* [33] analizando pacientes con NIUA, SNIUAA y controles tolerantes durante 12 años, indica que las reacciones NIUA son una entidad clínica bien definida y diferente de la urticaria crónica y que los pacientes con NIUA no desarrollan urticaria crónica con el tiempo en un mayor porcentaje que la población general [33].

Algunos pacientes con intolerancia cruzada pueden presentar un patrón mixto combinando urticaria/angioedema y rinitis/asma inducido por AINE. Estas son las conocidas como “*blended reactions*” o **reacciones mixtas** [27].

Reacciones atribuidas a un mecanismo inmunológico específico

Las reacciones atribuidas a un ***mecanismo inmunológico específico*** constituyen el grupo de las **reacciones selectivas**. Se trata de entidades provocadas por un AINE concreto o varios AINE con una estructura química similar que pertenecen a un mismo grupo. Estos pacientes presentan una buena tolerancia a otros AINE con estructura química diferente [29]. Las manifestaciones clínicas son las siguientes:

Urticaria/angioedema o anafilaxis inducidas por un único AINE (SNIUAA); se trata de reacciones inmediatas que ocurren en pacientes que normalmente no presentan historia previa de urticaria crónica o asma. Estos individuos toleran los AINE químicamente no relacionados con el causante de la reacción. Las reacciones que presentan son urticaria, angioedema y/o anafilaxia y están mediadas por un mecanismo inmunológico humoral, concretamente por anticuerpos IgE específicos (sIgE)[34].

Reacciones tardías inducidas por un único AINE (SNIDR); estas reacciones aparecen normalmente entre las 24 y las 48 horas después de la administración del fármaco. Se manifiestan síntomas cutáneos (exantema, exantema fijo), síntomas órgano

específicos (renal, pulmonar), o reacciones cutáneas adversas. Están mediadas por un mecanismo inmunológico mediado por linfocitos T efectoros [34].

Prevalencia

La prevalencia de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE mediadas por un mecanismo de IC en nuestra población es del 76.3%, mientras que la de las reacciones selectivas es de un 23.7% [3].

En las reacciones atribuidas a un mecanismo de IC, los síntomas de urticaria/angioedema (NIUA) representan el 61.8%, las de rinitis/asma (NERD) constituyen el 9% y el 18.2% corresponde a la aparición conjunta de síntomas cutáneos y respiratorios (mixtos). En cuanto a las reacciones selectivas, el 46.8% corresponde a síntomas de urticaria/angioedema y un 42.3% son reacciones de anafilaxis [3]. A pesar de las diferencias en la prevalencia de cada una de las entidades clínicas, la mayoría de los estudios genéticos y de mediadores inflamatorios se han centrado en estudiar las reacciones NERD, en menor medida las NECD y mucho menos las NIUA.

Principales AINE implicados

Con respecto a los AINE más frecuentemente implicados en las reacciones de hipersensibilidad, se ha descrito una evolución en los últimos treinta años, acompañada del cambio en el patrón de consumo de estos medicamentos (Figura 2) [3,23]. Así, en el periodo comprendido entre 1980 y 1990, las pirazolonas y el ASA fueron los medicamentos más frecuentemente implicados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE. En el periodo comprendido entre 1991 y 2000, fue el ASA el medicamento más frecuente, mientras que las pirazolonas indujeron un menor número de reacciones; y en el periodo comprendido entre 2001 y 2010, fueron los derivados de ácidos propiónicos los medicamentos más frecuentes, seguidos de ASA y en tercer lugar de las pirazolonas [35].

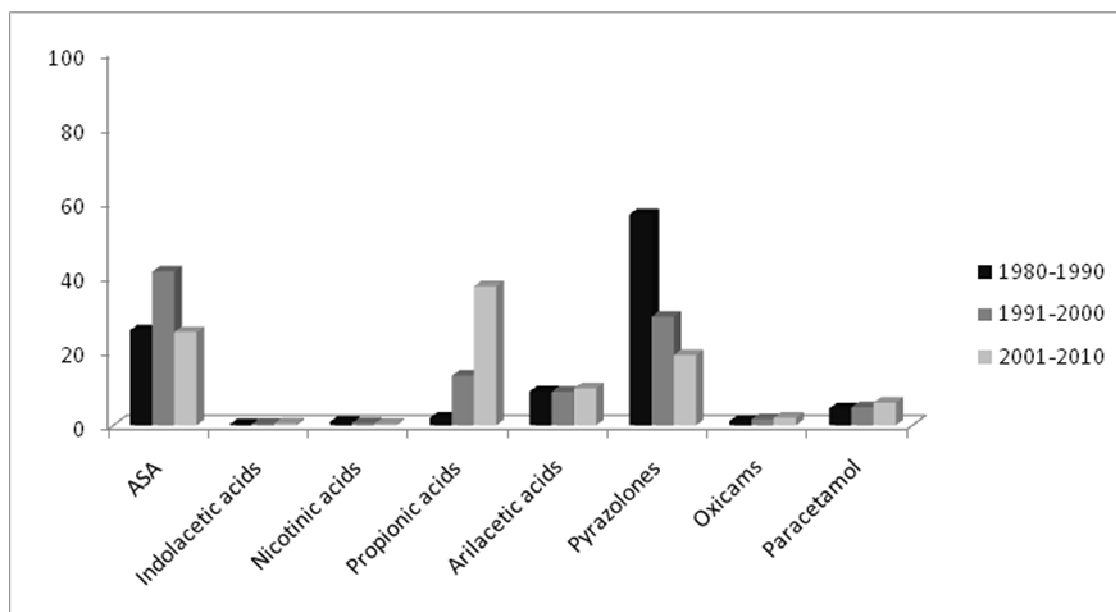


Figura 2: Medicamentos involucrados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE en función a cada periodo de tiempo. Imagen tomada de Doña *et al* [3].

Atendiendo al tipo de reacción, las pirazolonas son los AINE principalmente implicados en las reacciones atribuidas a un mecanismo selectivo [3]. Mientras que en las reacciones clasificadas como de IC, se ha observado que en individuos adultos con NIUA, son los derivados de ácidos propiónicos (principalmente el ibuprofeno), seguidos de ASA y pirazolonas los medicamentos principalmente implicados [35]. Esta tendencia se observa también en la infancia y adolescencia [4,36], siendo la misma que presentan los pacientes NERD [37].

Diagnóstico

La evaluación de los pacientes se realiza mediante una adecuada historia clínica y pruebas complementarias para confirmar el diagnóstico. En la figura 3, se presenta el algoritmo diagnóstico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE. En primer lugar, teniendo en cuenta el intervalo de tiempo transcurrido entre la administración del fármaco y la aparición de la reacción, se hace una diferenciación entre las reacciones inmediatas y las tardías. Seguidamente, se tiene en cuenta los síntomas presentados por el paciente así como los medicamentos implicados en la reacción y los tolerados; antes y después de la reacción para identificar el mecanismo implicado (IC vs. selectivo), además de verificar si existe patología cutánea o respiratorio previa.

El uso exclusivo de la historia clínica puede llevar a una sobreestimación de la hipersensibilidad a AINE. En el caso de pacientes con NERD se estima una prevalencia menor (2.7%) de la que se presenta en realidad (9-21%), esta subestimación se debe a la falta de consciencia de la hipersensibilidad a AINE y/o la advertencia que se hace a algunos asmáticos sobre el uso de estos fármacos [3,32]. En el caso de NIUA, una historia clínica completa, en la que el paciente presente 3 o más episodios, puede servir para diagnosticar a un paciente por sí sola en el 92% de los casos [38].

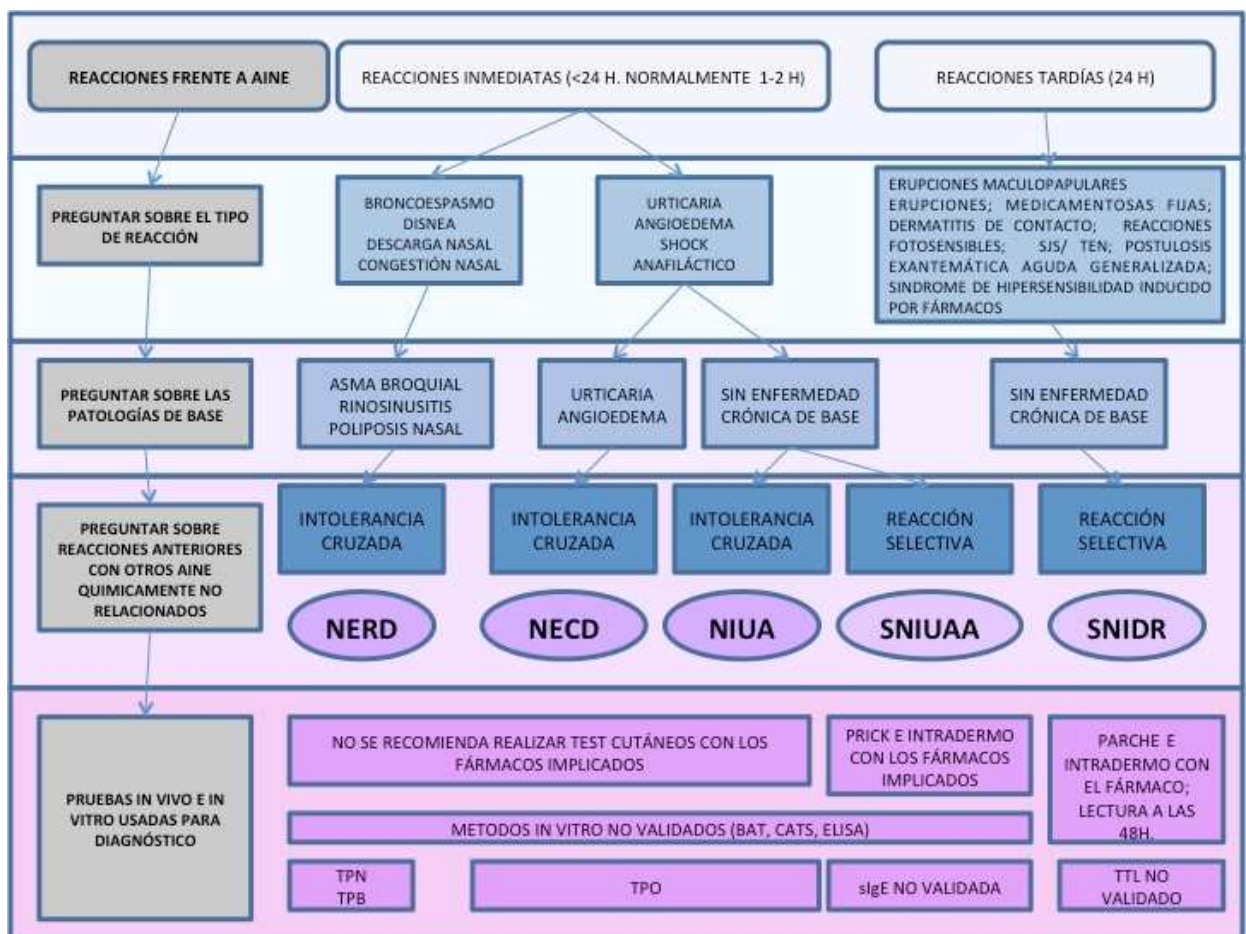


Figura 3: Algoritmo para el diagnóstico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE. Forma de proceder y técnicas *in vivo* e *in vitro* utilizadas. Modificada de Kowalski *et al* [28].

Aunque una buena historia clínica puede facilitar mucho el diagnóstico, la mejor prueba que se puede realizar (*gold standard*) para confirmar el diagnóstico es un test de provocación oral (TPO). Esta prueba se aplica en aquellos casos en los que la historia clínica no sea clara o solo ha ocurrido un episodio. Se trata de una prueba *in*

vivo de exposición controlada [27]. Aunque estas pruebas son las más fiables, no están exentas de riesgo.

En el caso de las reacciones atribuidas a un mecanismo de IC, el uso de prick cutáneos (SPT) y test intradermos no está indicado y el diagnóstico se confirma fundamentalmente a través de TPO, aunque en los pacientes con alto riesgo de desarrollar síntomas severos, se puede realizar otros test diagnósticos *in vivo*, como son los test de provocación nasal (TPN) o los test de provocación bronquial (TPB) en el caso de los pacientes sospechosos de NERD (Figura 3)[28]. Estos test de provocación con medicamentos han sido ampliamente usados para el diagnóstico de NERD [34]. Sin embargo, en el caso de la patología cutánea (NIUA o NECD) estas últimas aproximaciones (TPN y TPB) no son adecuadas para el diagnóstico.

Con respecto a las reacciones selectivas, el diagnóstico del paciente se lleva a cabo a través de una adecuada historia clínica que es complementada con TPO, prick cutáneos y test intradermos (Figura 3).

Los métodos *in vitro* se usan para evitar los riesgos a los que se expone el paciente cuando se realiza una prueba *in vivo*. Actualmente, se está trabajando en el desarrollo de nuevos métodos que ayuden en el diagnóstico o la confirmación de la enfermedad. Entre estos, se incluyen la medición de sIgE (IgE específica), de LT, los test de activación de basófilos (BAT), test de transformación linfocitaria (TTL) y la generación de 15-HETE, entre otros (Figura 3) [39]. Aunque estos métodos ofrecen una alternativa totalmente segura al paciente, de momento tienen muy baja especificidad y sensibilidad, además de no estar disponible en todos los centros sanitarios [39-40].

Mecanismos fisiopatológicos implicados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE

La vía del ácido araquidónico

El ácido araquidónico (AA) es un ácido graso de la membrana celular que se metaboliza por diferentes vías para la producción de mediadores inflamatorios [41-42] (Figura 4). Es liberado de la membrana por acción de la fosfolipasa citosólica A₂ de tipo IV (cPLA₂) a través de tres rutas principales: La vía que cursa a través de las enzimas

ciclooxigenasas, la vía de las lipoxigenasas, y la vía de la P450-epoxigenasa (Figura 4). La importancia de estas rutas en las reacciones de hipersensibilidad inducidas por AINE radica en el hecho de que estos medicamentos ejercen su acción farmacológica modificando el metabolismo del AA.

Muchos aspectos de la inmunidad, como la producción de citoquinas, la formación de anticuerpos, la presentación de antígenos, la migración, la diferenciación y la proliferación celular están mediados por eicosanoides [42]. Estos compuestos son derivados de la vía del AA, producidos por diferentes células de nuestro organismo incluyendo las células del sistema inmune innato, como macrófagos, células dendríticas, neutrófilos [42-43] y destacando el papel de los eosinófilos y los mastocitos durante las reacciones de hipersensibilidad [44]. Aunque la mayoría de las células pueden llevar a cabo la vía del AA, no todas ellas son capaces de realizar la vía al completo [43]. Para ello, existe un mecanismo de biosíntesis transcelular; por el cual, algunas células se encargan de llevar a cabo la síntesis de unos metabolitos que son liberados al medio. Allí, serán captados por otro tipo celular que lo transformará hasta su forma final [43]. Se ha descrito que tras el uso de algunos medicamentos, el organismo es capaz de utilizar otras rutas alternativas para la síntesis de estos mediadores [43]. Este hecho es el que se atribuye como el origen de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE, del cual trataremos en mayor profundidad más adelante.

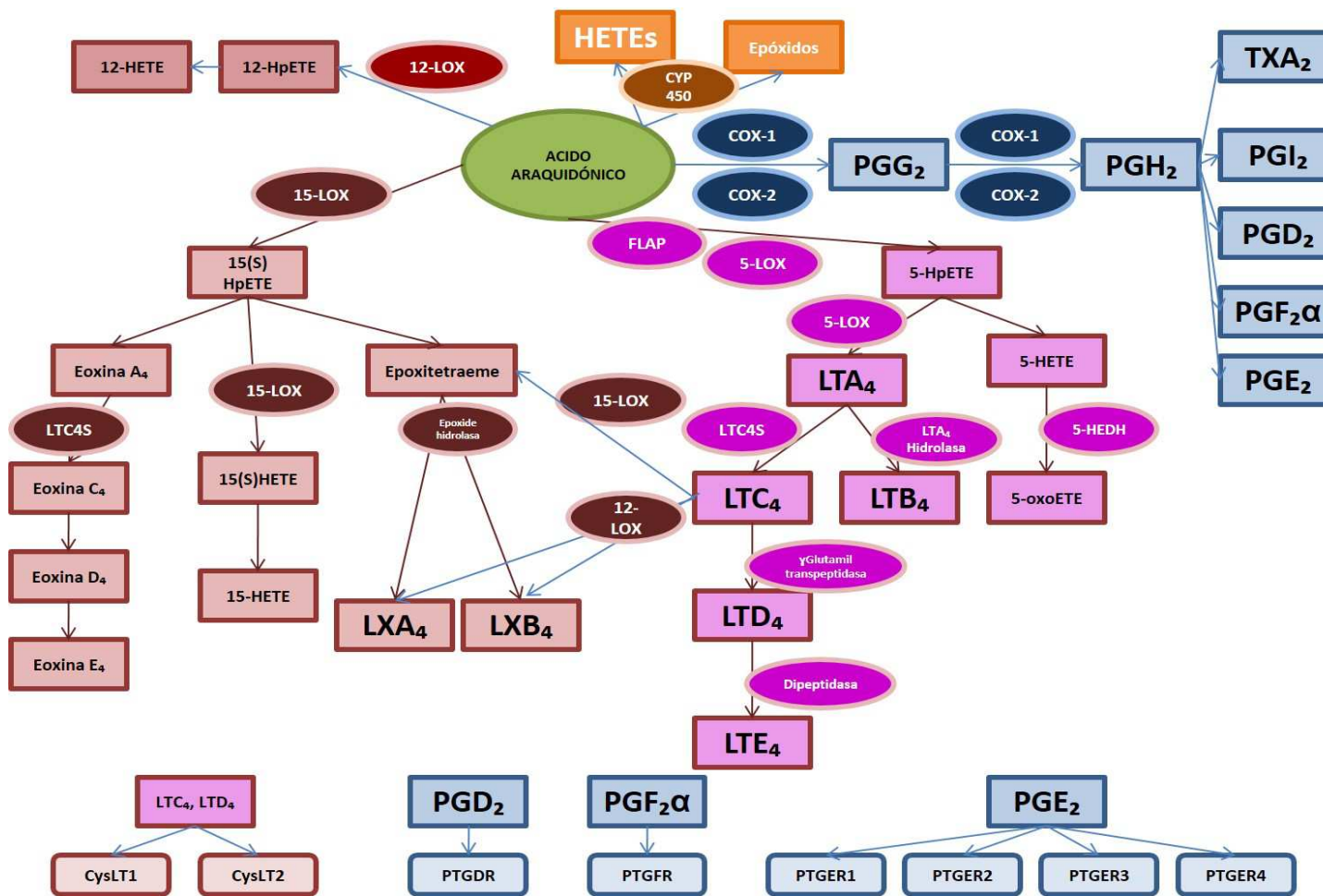


Figura 4: Vía del ácido araquidónico; enzimas, productos y receptores principales. Dicha vía cursa a través de las enzimas COX, la vía de las lipoxigenasas, y la vía de la P450-epoxigenasa. Hemos destacado en ella las principales enzimas, productos y receptores estudiados en la hipersensibilidad a AINE.

Vía de la ciclooxigenasa

La vía de las ciclooxigenasas puede darse por completo en una célula, o producirse de forma coordinada entre varias [43]. Así, por ejemplo en la piel, se produce una cooperación entre los mastocitos encargados de la liberación del AA y los fibroblastos que generarán PGE₂ como producto final [45-46]. En la tabla 3, se presenta algunos ejemplos más de mecanismo transcelular en la biosíntesis de prostanoïdes.

Cooperación célula-célula (donante-aceptor)	Intermediario exportado	Producto final	Referencia
Plaquetas- células endoteliales	PGH ₂	PGI ₂	[47]
Linfocitos-células endoteliales	PGH ₂	PGI ₂	[48]
Neutrófilos-plaquetas	AA	TXA ₂	[49]
Células endoteliales- plaquetas	PGH ₂	TXA ₂	[50]
Mastocitos-fibroblastos	AA	PGE ₂	[45-46]

Tabla 3: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de prostanoïdes. Modificada de [43].

La enzima principal de esta vía es la ciclooxigenasa que es una prostaglandina G/H sintasa. Esta enzima presenta 3 isoformas diferentes (COX-1, COX-2 y COX-3) [16]. La COX-1 es una enzima que se expresa de forma constitutiva, mientras que la COX-2 se induce durante los procesos inflamatorios [17]. Estas enzimas se regulan de forma diferencial por la acción de citoquinas y factores de crecimiento como TGF- β , IL-1 β y TNF- α [51]. Estructuralmente, las isoformas de las COX tienen tres dominios distintos: un dominio extracelular de tipo EGF, un dominio de unión a la membrana y un dominio catalítico. El dominio catalítico posee dos centros activos, uno lleva a cabo la actividad peroxidasa y el otro la actividad ciclooxigenasa. Ambos, espacialmente separados, se encuentran mecanísticamente acoplados [17]. Esta estructura permite la transformación del AA en prostaglandina G₂ (PGG₂) y este, a su vez, en prostaglandina H₂ (PGH₂) (Figura 4). Este precursor será metabolizado para dar lugar a las diferentes isoformas de las prostaglandinas: prostaglandina I₂ (PGI₂), prostaglandina D₂ (PGD₂),

prostaglandina F_2 (PGF_2), prostaglandina E_2 (PGE_2) y también tromboxano A_2 (TXA_2)[17,42].

La PGD_2 es el producto dominante de la COX en mastocitos, tiene efecto broncoconstrictor y es un potente quimioatrayente para eosinófilos [42]. La PGE_2 controla la producción de LT debido a su capacidad para activar a la proteína-quinasa A (PKA) que, a su vez, fosforila a la enzima 5-LOX inactivándola [52]. La PGE_2 se encarga de disminuir la actividad de la enzima 5-LOX, reduciendo así la producción de LT, la migración de eosinófilos y la proliferación de fibroblastos. Esta PG es esencial para la homeostasis y tiene efectos broncoprotectores y antiinflamatorios. El TXA_2 es un potente broncoconstrictor y un inductor de la expresión de moléculas de adhesión endotelial (ICAM-1) por lo que ayuda en los procesos de migración celular. En la tabla 6, se detallan más efectos producidos por la liberación de mediadores a través de las diferentes vías de metabolización del AA.

Para que los prostanoides puedan ejercer su función deben ser captados por las células a través de alguno de los nueve receptores de prostanoides descritos. Dichos receptores se localizan en la membrana plasmática y algunos se encuentran en la membrana nuclear. La señal se transmite hacia el interior celular a través de proteínas G (GPCR, G-protein-coupled receptors). PTGER1, PTGER2, PTGER3 y PTGER4 son receptores específicos de PGE_2 , mientras que PTGDR1 y PTGDR2 son específicos de PGD_2 . PTGFR, PTGIR y TXA_2R son receptores específicos de $PGF_2\alpha$, PGI_2 y TXA_2 ; respectivamente [42]. En función de su acción, PTGIR, PTGDR1, PTGER2 y PTGER4 actúan como receptores “relajantes” y forman un *cluster* de señalización mediado por un incremento de AMPc [42]. En el caso de los receptores “contráctiles”, PTGER1, PTGFR y TXA_2R , la activación conlleva un aumento del Ca^{2+} intracelular. El receptor PTGER3 modula la actividad de la adenil-ciclasa, además puede estimular la respuesta de la PLC-dependiente de Ca^{2+} [42].

Vía de la lipoxigenasa

Las lipoxigenasas producen diversos ácidos hidropoxieicosatetranoicos (HpETE) y ácidos hidroxieicosatetranoicos (HETE) por la vía de la 5-lipoxigenasa (5-LOX), la vía de la 15-lipoxigenasa (15-LOX) y la vía de la 12-lipoxigenasa (12-LOX) (Figura 4). Mediante

la vía de la 5-LOX, el AA es transformado por la proteína adaptadora de la 5-lipoxigenasa (FLAP o también como conocida como ALOX5AP) y 5-LOX en ácido 5-hidroperoxieicosatetranoico (5HPETE), que a su vez es transformado por 5-LOX originando leucotrieno A₄ (LTA₄). Este precursor es transformado por acción de varias enzimas, entre las que destaca la leucotrieno C₄ sintasa (LTC₄S); en cisteinil-leucotrienos (cisLT = LT)(leucotrieno C₄ (LTC₄), leucotrieno D₄ (LTD₄) y leucotrieno E₄ (LTE₄), además de leucotrieno B₄ (LTB₄) y lipoxinas (lipoxina A₄ (LXA₄) y lipoxina B₄ (LXB₄))[42]. La biosíntesis de los diferentes eicosanoides es dependiente de una producción local y una distribución específica de los precursores y de las enzimas en células específicas [42]. En el caso de la vía de las lipoxigenasas, también existen células que pueden llevar a cabo la vía al completo, pero otras realizan una síntesis coordinada entre varias células (Tabla 4) [43]. De hecho, ha sido en esta vía donde más se ha estudiado el metabolismo transcelular [43].

Cooperación célula-célula (donante-aceptor)	Intermediario exportado	Producto final	Referencia
Neutrófilos-eritrocitos	LTA ₄	LTB ₄	[53]
Neutrófilos-células endoteliales	LTA ₄	LTC ₄	[54-56]
Neutrófilos/Mastocitos-células musculares lisas de los vasos	LTA ₄	LTC ₄	[57]
Neutrófilos-plaquetas	LTA ₄	LTC ₄	[58-59]
Monocitos-plaquetas	LTA ₄	LTC ₄	[60]
Plaquetas-neutrófilos	AA	LTC ₄	[61]
Linfocitos-mastocitos/macrófagos/eosinófilos/plaquetas	LTA ₄	LTC ₄	[61-62]

Tabla 4: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de leucotrienos. Modificada de [43].

Así, la síntesis de los LT ocurre tras la activación de los linfocitos. En ellos, la cPLA₂ libera AA y, como consecuencia, FLAP y 5-LOX pueden metabolizarlos para producir 5-HpETE que posteriormente será transformado en LTA₄ [63]. En los mastocitos,

macrófagos, eosinófilos, basófilos y plaquetas, la LTC₄S transforma el LTA₄ en LTC₄ (que es el precursor de los demás LT) [61-62]. Otros ejemplos del metabolismo transcelular se describen en la tabla 4. Una vez sintetizado el LTC₄, es liberado al espacio extracelular donde se transformará en LTD₄ y LTE₄. Esta transformación es tan rápida que prácticamente todo los LT que se determinan en los fluidos corporales se encuentran en la forma de LTE₄ [64].

La vía de la 15-LOX transforma el AA en ácido 15-hidroxiperoxieicosatetranoico (15HPETE), el cual derivará a su vez en la producción de eoxinas, (eoxina A₄, eoxina C₄, eoxina D₄ y eoxina E₄), mediante la actuación de LTC₄S [42]. Además, 15HPETE también da lugar a la generación de ácido 15-hidroxieicosatetranoico (15-HETE) por la acción de 15-LOX, a la producción de lipoxinas (LXA₄ y LXB₄) por la acción de hidrolasas y a la transformación de LTC₄ por la acción de 15-LOX y 12-LOX (Figura 4) [42].

Las lipoxinas (LX) son derivados antiinflamatorios que se sintetizan a través de mecanismos transcelulares en cooperación entre las enzimas 5-LOX y 12-LOX plaquetarias o entre 5-LOX y 15-LOX derivadas de células epiteliales (Figura 4) [43]. En los pulmones, las LX inhiben la producción de LT y el infiltrado de eosinófilos. Además, en los neutrófilos, el LTA₄ se transformará en LTB₄, un potente quimioatrayente de neutrófilos y monocitos [65]. En la tabla 5 se muestran otros ejemplos.

Por otro lado, a través de la vía de la 12-LOX se sintetiza ácido 12-hidroxieicosatetranoico (12-HETE) mediante la actuación principal de la enzima 12-LOX (Figura 4)[42].

Cooperación célula-célula (donante-aceptor)	Intermediario exportado	Producto final	Referencia
Macrófagos alveolares-leucocitos polimorfonucleares	15(S)-HETE	LXA ₄ /LXB ₄	[66]
Monocitos-leucocitos polimorfonucleares	15(S)-HETE	LXA ₄ /LXB ₄	[67]
Leucocitos polimorfonucleares-plaquetas	LTA ₄	LXA ₄ /LXB ₄	[68-70]
Células epiteliales o endoteliales-leucocitos polimorfonucleares	15(R)-HETE	15 epi-LXA ₄ / 15 epi-LXB ₄	[71-72]
Células endoteliales-linfocitos polimorfonucleares	18(R)-HETE	RvE1/RvE2	[73]

Tabla 5: Ejemplos de metabolismo transcelular para la producción de lipoxinas o resolvinas (RvE). Modificada de [43].

De todos los mediadores inflamatorios producidos por las diferentes lipoxigenasas, destacan los LT por su efecto pro-inflamatorio (Tabla 6). Tanto es así que actualmente, para el tratamiento de manifestaciones clínicas como son la rinitis y el asma se usan inhibidores para inhibir su síntesis mediante el bloqueo de la 5-LOX, o para inhibir su recepción a través del bloqueo de sus receptores [74-76]. Estos mediadores pro-inflamatorios son reconocidos, fundamentalmente, por el receptor 1 de los LT (CysLTR1) y el receptor 2 de los LT (CysLTR2). Actualmente, se están haciendo esfuerzos para identificar otros posibles receptores de estas moléculas [64,77-78]. CysLTR1 es un receptor de alta afinidad de LTD₄ que se expresa en la musculatura lisa bronquial, así como en mastocitos, células mieloides y macrófagos [42]. Se trata de un receptor miembro de una superfamilia de receptores acoplados a proteínas G [42]. La activación de este receptor por LTD₄ resulta en la contracción y proliferación del músculo liso, formación de edema, migración de eosinófilos y el daño de la capa de la mucosa en el pulmón [42]. Por otro lado, el receptor CysLTR2 une tanto a LTC₄ como a LTD₄ con igual afinidad y se expresa en las mismas células que el primero, pero también en otras como las células endoteliales o el cerebro [64]. La señal intracelular originada por los LT también se transmite a través de GPCR [42]. Las LX son antagonistas de alta afinidad de CysLTR1. Sin embargo, la lipoxina LTB₄ es reconocida

por el receptor BLT1 y su interacción activa a una guanilil-ciclasa para generar GMP cíclico. Si la concentración de LTB₄ es muy elevada, se activa el receptor BLT2 [42].

Vía de la P450-epoxigenasa

A pesar de ser una alternativa para el metabolismo del AA, la vía de la P450-epoxigenasa es poco conocida dentro del ámbito de estudio de las reacciones de hipersensibilidad. Mediante esta vía se producen HETE y epóxidos (Figura 4) [42]. Estos compuestos son mediadores inflamatorios que se sintetizan por mecanismos oxidativos gracias a la acción del citocromo P450 [79].

Efectos producidos por los mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA

Los principales efectos que ejercen los productos derivados de la vía del AA se encuentran recogidos en la siguiente tabla (Tabla 6). Estos efectos varían en función del metabolito producido y del órgano afectado. Así; por ejemplo, la producción de LTC₄ y LTD₄ ejercen una vasoconstricción de los vasos sanguíneos y la broncoconstricción de los bronquios y la producción de PGE₂ intervienen en procesos de vasodilatación, broncodilatación y anti-agregación de las plaquetas [42]. Estos efectos les confiere un poder pro o anti-inflamatorio a estos eicosanoides [42].

Órganos o células	Efectos	Eicosanoides
Vasos	Vasoconstricción	PGF ₂ , TXA ₂ , LTC ₄ , LTD ₄
	Vasodilatación	PGI ₂ , PGE ₂ , PGD ₂
Plaquetas	Anti-agregación	PGE ₂ , PGI ₂
	Pro-agregación	TXA ₂
Bronquios	Broncoconstricción	PGF _{2α} , TXA ₂ , LTC ₄ , LTD ₄
	Broncodilatación	PGE ₂ , PGI ₂
Intestino	Nauseas, diarrea	PGE ₁ , PGF _{2α}
	Movilidad	PGE ₁ , PGF _{2α}
Estómago	Inhibición de la secreción de ácido gástrico	PGE ₂ , PGI ₂
	Movilidad	PGE ₂ , PGF _{2α}
Útero	Contracción, parto	PGE ₂ , PGF _{2α} , TXA ₂
Riñón	Filtrado y flujo de sangre renal	PGH ₂ , PGE ₁ , PGI ₂
Eje hipotálamo y pituitaria	Incremento de la secreción de las hormonas hipotalámicas y pituitarias	PGE ₁ , PGE ₂

Tabla 6: Efectos fisiológicos de los principales eicosanoides. Modificada de [42].

Relación entre la vía del ácido araquidónico y la hipersensibilidad a los AINE

La hipótesis de la COX

Hirschberg describió por primera vez una reacción de hipersensibilidad por AINE en el año 1902 [80]. Sin embargo, no fue hasta 1975 cuando Szczeklik relacionó la capacidad inhibitoria de la COX con los eventos de exacerbación del asma en un paciente con NERD [81]. Este hallazgo, lo llevó a estudiar la liberación de PG en estos pacientes [82-83] y a determinar que no sólo la aspirina podía causar ataques asmáticos, sino que esta cualidad también la poseían otros medicamentos inhibidores de las ciclooxigenasas [84]. Tras estos primeros trabajos, se estableció la hipótesis conocida como la **Teoría de la COX** [85]. Según dicha hipótesis, tras la ingesta de un AINE, se produce la inhibición de la enzima COX, lo cual impide la conversión del AA a PG y TX. Esto provoca un exceso de sustrato (AA), que en individuos susceptibles, es metabolizado a través de la vía de la 5-LOX, la vía de la 15-LOX y la vía de la 12-LOX generando LT, 12-HETE y LX [86-87]. Según esta teoría, los individuos que presentan hipersensibilidad producen un exceso de LT, 12-HETE y LX [86-87]. En ellos, se produce la conversión de un perfil de mediadores anti-inflamatorios a pro-inflamatorios. Son estos últimos los responsables de las manifestaciones clínicas en estos pacientes.

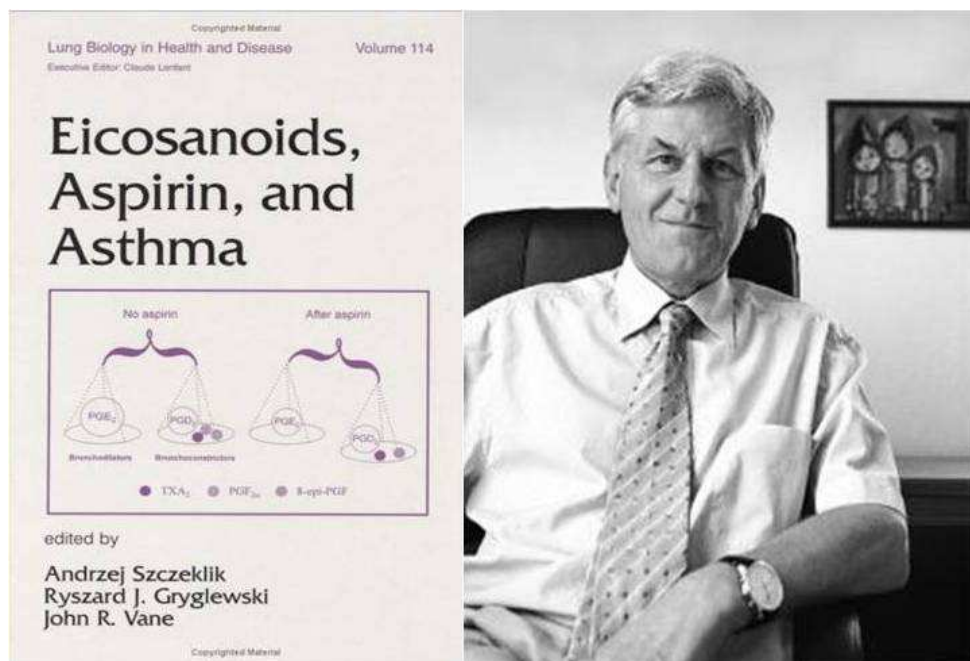


Figura 5: Szczeklik y un ejemplar de uno de sus trabajos sobre la teoría de la COX.

Otras hipótesis

La teoría de la COX en pacientes NERD ha sido el modelo más estudiado hasta el momento para averiguar cuál es el mecanismo subyacente a las reacciones de hipersensibilidad a los AINE atribuidas a un mecanismo de IC [88-91]. Sin embargo, existen diferentes teorías que indican que el desarrollo de la hipersensibilidad puede tener origen viral [92-93], bacteriano [94-96] o autoinmune [97-98]. Según estas hipótesis, estos diversos componentes son los que producirían un aumento de liberación de mediadores por parte de las células inflamatorias. En concreto por mastocitos, basófilos y eosinófilos, aunque otras células podrían estar implicadas en el proceso [99].

Antecedentes al estudio fenotípico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE

El estudio del metabolismo de mediadores inflamatorios mediante su determinación en la excreción de orina ha permitido la caracterización de un perfil de eicosanoides que son movilizados tanto a nivel basal como durante el transcurso de estas reacciones [100-105]. Un resumen de los estudios más destacados en los que se han analizado mediadores eicosanoides se presenta en la tabla 7.

Entidad clínica	Tipo de muestra	Tiempo	Mediadores inflamatorios	Resultados obtenidos	Ref.
NERD	Sangre	Basal	LT	Elevados	[101]
NERD	Sangre	Basal	LT	Elevados	[102]
NERD	Orina y esputos	Basal	En orina: LTE ₄ y 9α11βPGF ₂ En esputos: PGD ₂ , LTE ₄ y 9α11βPGF ₂	LTE ₄ en orina elevada pero 9α11βPGF ₂ sin diferencias significativas. PGD ₂ elevada significativamente en esputo.	[103]
NERD	Orina y sangre	Basal	9α11βPGF ₂	No encontraron diferencias en orina. En suero: 9α11βPGF ₂ y triptasa elevados	[104]
NERD	Orina	Basal y post-provocación	LTE ₄	Elevados tanto basalmente como tras la provocación	[106]
NERD Y NECD	Orina y sangre	Basal y post-provocación	LTE ₄ en orina y 9α11βPGF ₂ en suero	Elevados niveles de LTE ₄	[105]

Entidad clínica	Tipo de muestra	Tiempo	Mediadores inflamatorios	Resultados obtenidos	Ref.
NERD	Saliva, esputo, Orina y sangre	Basal y post-provocación	Cys-LT, LTB ₄ , el metabolito 9 α de la PGD ₂ y el 11 β -PGF ₂	LTE ₄ elevado post-provocación, metabolito 9 α de la PGD ₂ y el 11 β -PGF ₂	[107]
NECD	Orina	Basal y post-provocación	LTE ₄	Aumento en LTE ₄ en los NECD que responden positivamente a la provocación, mientras que en los que no responden, se muestra un descenso en los niveles de LTE ₄	[108]
NERD y NIUA	Lavados nasales	Basal y post-provocación	PGD ₂ , PGE ₂ , LTD ₄ y LTE ₄	Diferencias significativas en los niveles de PGD ₂ , LTD ₄ y LTE ₄ en NERD frente a NIUA o los controles. Leve aumento de LTE ₄ en NIUA	[109]

Tabla 7: Resumen de los estudios preliminares en los que se ha analizado mediadores inflamatorios en orina, en pacientes con hipersensibilidad a AINE.

Con estos trabajos se puso de manifiesto que los pacientes NERD presentaban niveles elevados de LT en estado basal, y que esto podía ser usado como marcador de la enfermedad [101-102]. En orina, se observó que los valores de LTE₄ estaban elevados basalmente en los pacientes con NERD y también que tras la provocación oral con aspirina, estos valores aumentaban [106-107]. Adicionalmente, se describió un incremento en los niveles de metabolito 9 α de la prostaglandina D₂ y el 11 β -prostaglandina F₂ (9 α 11 β PGF₂) en orina [107].

En contraposición a todo lo que se conoce sobre el mecanismo subyacente a NERD, los estudios realizados en pacientes con NECD son escasos y en NIUA inexistentes. Mastalerz *et al.* [105] analizaron LTE₄ en orina y 9 α 11 β PGF₂ en suero, tanto en pacientes NERD como en pacientes NECD. Los resultados obtenidos mostraron que los pacientes que respondían a la provocación presentaban niveles basales de LTE₄ en orina mayores que los no respondedores y que además, existía una correlación entre los niveles más altos de LTE₄ y las reacciones cutáneas más severas [105]. Debido a estos resultados se estableció que el mecanismo implicado en NECD debía ser el mismo que el descrito previamente para NERD [105].

Antecedentes al estudio genotípico de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE

Los factores genéticos están contribuyendo a identificar marcadores de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE. Debido a la dificultad que se encuentran con otras aproximaciones [110], son los estudios genéticos y transcriptómicos los que están aportando más información sobre esta patología en la actualidad. Avalando esta idea, existen numerosos trabajos en los que se asocian variantes genéticas, normalmente polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) con la hipersensibilidad a los AINE, sobre todo en pacientes NERD. Muchos de estos trabajos se han realizado con polimorfismos en genes involucrados en el metabolismo del AA. De tal modo que, entre los indicios genotípicos que apoyan la teoría de la COX se encuentra los siguientes:

En el anexo 1 se han descrito algunos conceptos que pueden ayudar a comprender los fundamentos de los estudios de asociación.

Alteraciones en la vía de las ciclooxigenasas

Con respecto a la vía de las ciclooxigenasas, existe una enzima clave para la transformación del AA en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE, puesto que es la diana de acción de los diferentes AINE [16]. Esta enzima es la COX-1. Está involucrada en la señalización célula-célula y en el mantenimiento de la homeostasis tisular, pero hasta el momento no ha mostrado una expresión diferencial entre los pacientes NERD y los individuos tolerantes a los AINE [88,111]. Tampoco parece que los SNP en este gen analizados hasta la fecha muestren una asociación estadísticamente significativa con NERD [112]. Mientras que la enzima inducible COX-2, codificada por *PTGS2*, parece comportarse de forma diferente en esta patología a como lo hace *PTGS1*. De hecho, *PTGS2* presenta niveles de RNA mensajero en mucosa nasal y pólipos nasales de NERD menores que los hallados para los asmáticos tolerantes a los AINE (ATA), sugiriendo una inadecuada regulación de *PTGS2* en NERD [88]. Esta regulación negativa en NERD, se asocia con una menor actividad del elemento regulador de *PTGS2*, NF-kB [113]. Un análisis del polimorfismo -765 G>C en la región promotora mostró que los individuos homocigotos para CC, presentaban una

producción basal de PGE₂ y PGD₂ mayor que los demás [114], y que dicho genotipo CC era más frecuente en controles que en asmáticos (NERD y ATA)[114].

Otro gen implicado en la vía de la ciclooxigenasa es el que codifica para la tromboxano sintasa (TBXAS1) que cataliza la conversión de PGH₂ a TBXA₂ [42]. La provocación con ASA induce una disminución en la concentración de TBXA₂ en asmáticos [100]. Este efecto fenotípico podría tener relación con la asociación que existe entre el SNP rs6962291 y NERD [115], ya que se ha descrito que este SNP ejerce un efecto protector contra la hipersensibilidad por ASA debido a que la TBXAS1 posee una menor capacidad de catálisis y por tanto de producción de TX [115]. Además de los SNP estudiados en este gen, se ha descrito que los SNP rs4807491 (-4684C>T) y rs11085026 (795T>C) en el receptor de TBXA₂ (TBXA2R), también presentan una asociación con NERD [116].

Alteraciones en la vía de las lipoxigenasas

En cuanto a la vía de la 5-LOX, uno de los primeros enzimas en actuar es la proteína activadora de la araquidonato 5-lipoxigenasa (ALOX5AP o FLAP), codificada por el gen *ALOX5AP*. En pólipos nasales de pacientes NERD, se encuentra hipometilado [117]. Sin embargo, no se ha descrito una expresión anormal en estos pacientes [111].

La segunda enzima implicada en esta ruta es la enzima 5-LOX, codificada por el gen *ALOX5* y una de las más importantes por su relación con la hipersensibilidad a AINE. Esta proteína se encuentra sobreexpresada en eosinófilos infiltrados en pólipos de pacientes NERD en comparación con individuos ATA [111]. *ALOX5* ha suscitado mucho interés en relación con la hipersensibilidad a los AINE debido a su implicación en la ruta de síntesis de los LT. Así, uno de los primeros estudios realizados con los genes de la vía del AA en hipersensibilidad a AINE fue llevado a cabo con este gen. Este estudio se publicó en 1997, en él se describieron una serie de repeticiones en tándem (VNTR) de la secuencia GGGCGG. Estas repeticiones se encontraban en un número variable en la región promotora de *ALOX5* [118]. Dicha secuencia es un lugar de unión de Sp1 y la presencia de estas repeticiones en tándem modifican la unión del factor de transcripción, provocando una disminución de la expresión *ALOX5*. De esta forma, la presencia de dichas variaciones confieren un efecto protector a los individuos

portadores y su ausencia es asociada con NERD [118]. Las VNTR no son las únicas variantes analizadas de este gen con respecto a la hipersensibilidad, sino que también se han analizado diferentes SNP. Así, en una población coreana se encontró una mayor frecuencia del haplotipo *ht1* [G-C-G-A] del gen *ALOX5* en pacientes NERD que en individuos ATA [119]. Sin embargo, otros autores no han encontrado asociación de este gen con la hipersensibilidad a los AINE [120-121].

Otra de las enzimas destacadas de la vía de la 5-LOX junto con 5-LOX es LTC4S. La expresión de LTC4S está estrictamente regulada; sin embargo, en pacientes NERD, se encuentran 4 veces más células positivas para esta enzima en pólipos nasales que en los individuos ATA [111]. Esta sobreexpresión podría explicarse por la presencia de un cambio de base (*rs730012* (-444A>C)) localizado en la región promotora de este gen [122-123], que también se ha encontrado en pacientes hipersensibles a los AINE con afectación cutánea atribuida a un mecanismo de IC [124]. Este polimorfismo se encuentra en el lugar de reconocimiento del factor 2 de transcripción de la histona H4, cuya unión resulta en un incremento de transcripción del gen [122-124]. A pesar de estas evidencias, otros autores no han encontrado asociación entre algunos SNP de *LTC4S* y NERD en otras poblaciones [125-126].

Actualmente, no se conoce demasiado sobre el papel de las enzimas 12-LOX y 15-LOX y su relación con la hipersensibilidad a los AINE. Estas enzimas están codificadas por *ALOX12* y *ALOX15* respectivamente. Algunos autores no han encontrado asociación entre SNP de estos dos genes y NERD [127], aunque otros han sugerido que la presencia de SNP en la región promotora de *ALOX15* puede modificar la actividad de *ALOX15* provocando un aumento en el infiltrado celular en pacientes NERD [128].

Alteraciones en los receptores de los eicosanoides

Los receptores de los mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA, como PG y LT, también han sido objeto de análisis en la hipersensibilidad a AINE. En cuanto a los receptores de PG, los más estudiados han sido aquellos que unen PGE₂. Dichos receptores de PGE₂ son PTGER1, PTGER2, PTGER3 y PTGER4 [17]. Estos cuatro se diferencian en cuanto a la distribución en tejidos, en la afinidad de unión, o las vías de señalización intracelular [17,42]. La expresión de estos cuatro receptores ha sido

estudiada en biopsias de mucosa bronquial de pacientes NERD y ATA [129]. En este estudio se describió que la expresión global de *PTGER2* muestra diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes NERD y los controles sanos, pero que ni este ni ninguno de los restantes receptores de PGE_2 , presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los NERD con ATA [129]. Estos genes también han sido analizados en estudios de asociación génica en los que se han encontrado diferentes resultados. En uno de estos estudios, se describieron 3 SNP (-12813 G>A, -10814 T>C y -6179 A>G) en la región promotora del gen *PTGER2* que se asocian significativamente con NERD en la población japonesa [130]. De ellos, -1281 G>A podría reducir la actividad transcritora por estar situado en un región diana para una proteína represora [130]. Así, se postula que esto llevaría a un descenso en los niveles de transcripción del receptor de PGE_2 , permitiendo que se desarrolle la inflamación [130]. En pacientes NERD coreanos, se encontró una asociación con NERD y los siguientes SNP: rs2075797 y rs1353411 en *PTGER2*, rs7551789 de *PTGER3* y -1254 A>G de *PTGER4* [116]. En el caso del receptor de la prostaglandina I (*PTGIR*), el SNP rs1126510 (1915T>C) se encontró en menor frecuencia en individuos NERD que en los ATA [116]. En otro estudio, realizado en esta misma población, se identificaron asociaciones con los SNP rs7543182 y rs959, de *PTGER3* [131]. De ellos, rs959 localizado en la región 3'UTR, podría tener algún efecto en la regulación post-transcripcional, controlando la localización del RNA mensajero [131].

Los otros receptores más estudiados son los de los LT. Estos receptores son CysLTR1 y CysLTR2. CysLTR1 se expresa en las células de la mucosa nasal de los pacientes NERD, en mayor proporción que en los pacientes ATA [132]. Esto se repite en células de sangre periférica (eosinófilos, neutrófilos, monocitos y linfocitos T), entre las que destacan los eosinófilos [133], así como en mucosa bronquial [129]. Existen una serie de variantes génicas en el gen *CYSLTR1* que se han asociado con NERD en una población coreana [134]. Estos SNP se localizan en la región 5' del gen *CYSLTR1*: rs321029, rs2637204, rs2806489 y afectan a la expresión de mRNA de CysLTR1 [134]. Además, muestran asociación con NERD en hombres pero no en mujeres [134]. En cambio, el CysLTR2 está codificado por el gen *CYSLTR2* y se expresa en mayor proporción en células de sangre periférica, entre las que destacan los eosinófilos, de

pacientes NERD comparado con las de ATA [133]. Dicha expresión es mucho mayor que la de *CysLTR1* [133] y estas diferencias de expresión también se han encontrado a nivel de mucosa bronquial [129]. Existen varios estudios de asociación en los que se describen variaciones en este gen. De los polimorfismos analizados en este gen, el SNP rs7324991 (-819T>G de *CysLTR2*) que está en la región promotora y 2078C>T, rs912278 (2534A>G) que están en la región 3'-UTR [120] se han asociado con NERD en población coreana [120]. Estos resultados sugieren que los polimorfismos en *CysLTR2* podrían incrementar los niveles de mRNA y afectar a su estabilidad induciendo así el desarrollo de NERD [135].

Alteraciones en el sistema de eliminación de eicosanoides

Un aspecto importante para la regulación de una señal es la eliminación de los productos que provocan dicha señal. Normalmente, se presta poca atención a este aspecto, a pesar de ser fundamental para el retorno a las condiciones basales. Así, pocos estudios han analizado los genes implicados en la eliminación de los mediadores inflamatorios generados durante la reacción de hipersensibilidad. Los LT (LTC₄, LTD₄ y LTE₄) son eliminados de la sangre por el hígado y los riñones [136]. Pueden ser inactivados por N-acetilación mediante la acción de N-Acetiltransferasa 2 dependiente de acetil-CoA (NAT2). Un estudio de asociación llevado a cabo con pacientes NERD coreanos mostró que un cambio en la secuencia del gen *NAT2* (-9246G>C) puede contribuir a mantener el exceso de LT que presentan estos pacientes [137].

Estudios alternativos para la caracterización genotípica de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE

En los últimos años, el avance en las técnicas de genotipado y en las aplicaciones bioinformáticas ha permitido el desarrollo de estudios a nivel de genoma completo. Fruto de estos avances son los *Genome Wide Association Studies* (GWAS). Los GWAS han emergido como una potente herramienta. Sin embargo, este tipo de estudios en las reacciones de hipersensibilidad a AINE son muy escasos. En concreto, se han llevado a cabo en pacientes coreanos con NERD [138-139], pero nunca se han desarrollado en otras entidades clínicas. Además, los resultados obtenidos tras analizar

el genoma de pacientes NERD, han mostrado que puede haber más genes implicados en la hipersensibilidad a los AINE [138-139].

Limitaciones

Como se ha descrito en estos apartados, actualmente existe un amplio número de estudios que analizan las enzimas y los receptores implicados en la síntesis, recepción y degradación de los mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA. Sin embargo, estos estudios presentan una serie de limitaciones: A) En cuanto a la vía del AA, se han estudiado los principales genes, pero siempre se ha llevado a cabo analizando pocos SNP [140]. B) se han analizado pocos pacientes NERD [140]. C) Casi todos los estudios se han llevado a cabo en poblaciones fundamentalmente asiáticas [140]. D) A pesar de que NIUA es la entidad clínica más frecuente de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE, por lo que sabemos, sólo hay un trabajo que haya analizado un número importante de variantes genéticas en estos pacientes [141].

Inicio de la señal inflamatoria en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE

Transmisión de la señal hacia el interior celular

Los mastocitos son una de las principales células implicadas en la síntesis de mediadores inflamatorios en la patología cutánea [44]. Además de la presencia de mediadores inflamatorios tales como triptasa, histamina o PGD₂ [142], también existen indicios histológicos que relacionan al mastocito con las reacciones de intolerancia [143].

La forma en que un mastocito se puede activar en los pacientes hipersensibles no se conoce. Lo que sí se sabe es que dicha célula puede activarse tanto por una vía IgE dependiente como por una IgE independiente [144-145]. En ambos casos, se presentan una serie de elementos comunes que se detallan a continuación:

gracias a su interacción directa con el receptor de IgE [144] (Figura 6). Así, se ha visto que la aspirina puede incrementar la fosforilación de SYK, activándola y aumentando la liberación de histamina por un mecanismo en el que no está implicada la inhibición de la COX, sino que activa específicamente la vía de señalización intracelular mediada por el receptor de IgE [148].

A partir de la activación de SYK, la señal se transmite por el eje LAT/PLC γ -calcio/PKC de la siguiente forma: SYK actúa sobre LAT. LAT es una proteína situada en la membrana plasmática. Su gen es regulado por el factor de transcripción Elf-1 que reconoce una secuencia diana en la región promotora de *LAT* [149]. Esta proteína se encarga, a su vez, de activar a la fosfolipasa C (PLC γ) (codificada por el gen *PLCG1*). PLC γ es la enzima encargada de transformar fosfolípidos de membrana (PIP2) en inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). Esto dos productos van a conducir a la liberación de Ca²⁺ por el retículo endoplasmático y la activación de canales de Ca²⁺ extracelulares así como la activación de la PKC. Esta activación es Ca²⁺-dependiente [144]. El Ca²⁺ actúa sobre la activación de la fosfolipasa A2 (cPLA₂), que es la enzima encargada de transformar lípidos de membrana en AA, el cual será transformado para dar lugar a los mediadores inflamatorios [144]. Actualmente, hay descrita toda una superfamilia de PLA₂ [150]. De todas las ellas, las que están involucradas en esta ruta son las cPLA₂ dependientes de Ca²⁺, denominadas como GIVA, ya que es una cPLA₂ específica de fosfolípidos que contienen AA y es dependiente de Ca²⁺ [150]. La cPLA₂ que nos interesa estudiar es la codificada por el gen *PLA2G4A* ya que es la encargada de liberar el AA [150].

La vía de activación del mastocito que lleva a la síntesis de citoquinas, (ruta de la izquierda en la figura 6), comparte elementos que también intervienen en la regulación de la vía del AA [144]. Así, SYK puede intervenir en el descenso de la actividad del factor nucleolar NF- κ B [151]. El factor nucleolar NF- κ B interviene sobre la vía del AA [113,152] y también sobre la síntesis de citoquinas [144]. NF- κ B es un regulador transcripcional de *PTGS2*, cuya expresión en los pólipos nasales de los pacientes NERD está disminuida [113]. La actividad de dicho factor nucleolar está regulada por una proteína inhibidora (I κ B- α), que a su vez, se ve modificada por acción de ASA [152]. De esta manera, altas concentraciones de ASA evitan la fosforilación y degradación de la proteína inhibidora I κ B- α y dicha supresión permite la activación de

NF- κ B. Esto permite la transcripción de citoquinas pro-inflamatorias por el mastocito y a la expresión de *PTGS2* [152]. Además de esta proteína inhibidora, NF- κ B puede ser activado a través de TNFRSF11A (RANK) cuya transcripción se ve modificada por procesos de *splicing* alternativo, que en algunas ocasiones, da lugar a una proteína no funcional [153], llevando en el último término a una disminución de la expresión de *PTGS2* y de la síntesis de citoquinas [153].

Activación celular a través de la actuación de citoquinas

El estudio de las citoquinas en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE no ha sido muy extenso. Sin embargo, existen varios SNP en la región promotora de la citoquina IL-18, que se asocian con patologías cutáneas [154]. Otras citoquinas de tipo Th2, como la IL-4 o IL-33, están implicadas en la regulación de la vía del AA [145,155]. De estas citoquinas de tipo Th2, la linfopoyetina estromal tímica (TSLP) es producida por las células epiteliales y puede iniciar y mantener la respuesta inflamatoria [156-157]. Además, se encuentra sobreexpresada en la piel afecta de pacientes con enfermedad cutánea [158-159]. Esta citoquina ha sido ampliamente estudiada debido a su papel en la respuesta inmune adaptativa [160-163]. Además, TSLP puede agravar la respuesta inflamatoria bajo mecanismos inmunológicos de respuesta no específicos, en ausencia de linfocitos T y anticuerpos IgE, a través de la activación del sistema inmune innato (Figura 7) [164]. Durante este proceso, TSLP induce la producción de citoquinas Th2, como IL-4, por los mastocitos [164-165]. El reconocimiento de TSLP se lleva a cabo a través de su receptor heterodimérico que está compuesto por una cadena de IL7R α y otra de TSLPR [166]. Dicho receptor se expresa, entre en otras células, en mastocitos [164], y necesita de la presencia de ambas cadenas para ser funcional [166].

El uso de modelos animales ha permitido identificar éste receptor como una posible diana terapéutica ya que su bloqueo previene el desarrollo de la señal inflamatoria [167-169]. Debido a su implicación como citoquina central en la iniciación y el mantenimiento de la respuesta inflamatoria, se han llevado a cabo diversos estudios de asociación de genes candidatos evaluando la importancia de *TSLP* en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE en pacientes NERD [170], en la dermatitis atópica [171], en eczema [172], en asma [173-177], en rinitis alérgica [178], y en rinosinusitis

crónica y poliposis nasal [179]. Así, por ejemplo, aunque no encontró asociación entre *TSLP* y NERD [170], dicho gen sí que se asoció con la dermatitis atópica [171].

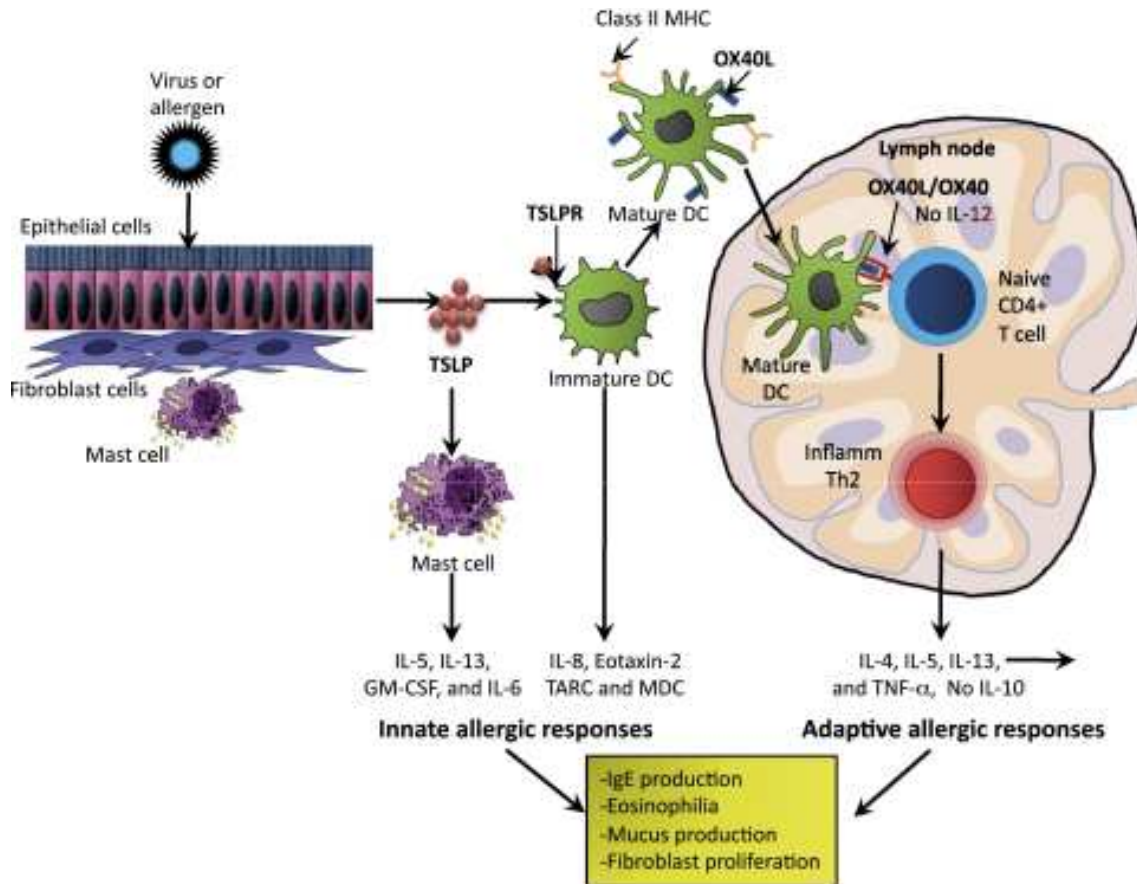


Figura 7: Vía de actuación de TSLP. Esta citoquina activa la respuesta inmune innata a través de su actuación sobre los mastocitos y la respuesta inmune adaptativa a través de su actuación sobre las células dendríticas. TSLP es sintetizada por las células epiteliales y actúa sobre las células dendríticas a través de su receptor formado por IL7 α y TSLPR, provocando la liberación de una serie de citoquinas que atraen a otros tipos celulares, dándose el proceso de infiltrado celular. Además, sobre las células dendríticas actúa induciendo su maduración y su transporte hacia el timo dónde actuará sobre los linfocitos T inmaduros induciendo la maduración y su polarización hacia linfocitos Th2. Estos, a su vez, inducirán la liberación de otros compuestos responsables de la inflamación. Figura tomada de [180].

Justificación e Hipótesis

Las reacciones de hipersensibilidad a AINE agrupadas bajo la denominación de IC (NERD, NECD y NIUA) constituyen el mayor número de pacientes con hipersensibilidad a AINE. El modelo más ampliamente estudiado ha sido el de los pacientes con NERD; aunque actualmente se asume que la entidad clínica más frecuente es NIUA.

Un gran número de estudios han descrito como en los pacientes con NERD, la inhibición de la ruta de las ciclooxigenasas mediante la acción de los AINE conduce a una alteración en la liberación de mediadores inflamatorios y la activación de mastocitos y eosinófilos. En menor medida, este mecanismo ha sido estudiado en pacientes con NECD y postulado en pacientes con NIUA. Sin embargo, no se han realizado estudios que evalúen el metabolismo de eicosanoides en pacientes con NIUA que corroboren el mecanismo propuesto y/o establezcan similitudes y diferencias con los pacientes con NERD.

Los primeros estudios genéticos en las reacciones de hipersensibilidad a AINE mostraron asociaciones de polimorfismos en genes relacionados con la vía del AA y pacientes con NERD. Sin embargo, el número de variantes genéticas estudiadas ha sido limitado y focalizado principalmente en poblaciones asiáticas. En pacientes españoles con NIUA, se ha llevado a cabo con éxito un estudio de asociación de SNP en genes involucrados en la vía del AA. Así, queda por determinar si estas asociaciones son consistentes en una amplia población de pacientes españoles con NERD.

A pesar de que las variaciones en el número de copias (CNV) de los genes han sido asociadas con la susceptibilidad a diversas enfermedades y como factores capaces de alterar la expresión génica, su papel no ha sido estudiado en las reacciones de hipersensibilidad a AINE. Por lo tanto, el estudio de estas variantes, particularmente en genes relacionados con el metabolismo del AA, constituye un punto de partida necesario para evaluar su efecto en las reacciones de hipersensibilidad a AINE.

Aunque se han descrito asociaciones en los genes implicados en la transformación del AA y la captación de sus metabolitos, así como la eliminación de los mismos, no se ha estudiado si SNP presentes en los principales genes implicados en la vía de activación del mastocito podrían estar asociados con NIUA.

Por otro lado, la citoquina TSLP ejerce un papel relevante en el inicio de la señal inflamatoria gracias a que puede activar a numerosos tipos de células inmunes, ejemplo de ello son los mastocitos. Así, SNP en los genes que codifican para la citoquina y ambas cadenas de su receptor podrían estar relacionados con el mecanismo de estas reacciones en pacientes con NIUA.

Adicionalmente, se han descrito variantes genéticas no relacionadas con el metabolismo del AA que han mostrado tener asociación con el desarrollo de NERD. Sin embargo, no se ha probado si estas asociaciones están presentes en NIUA, por lo que hipotetizamos que SNP del gen *CEP68* podrían estar asociados con NIUA, al igual que se ha descrito para NERD.

Al ser la hipersensibilidad a los AINE una enfermedad multigénica, es muy probable que existan más mecanismos implicados en el desarrollo de la enfermedad que no se hayan descrito hasta el momento. Por lo que, una aproximación genética a gran escala, podría ayudar al descubrimiento de mecanismos adicionales asociados a esta patología.

Objetivos



Dentro del estudio fenotípico de las reacciones de hipersensibilidad, el objetivo fue el siguiente:

- 1) Analizar el perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA en pacientes con NIUA y NERD, tanto basalmente como tras la provocación con el AINE.

Dentro del estudio genotípico de las reacciones de hipersensibilidad, los objetivos fueron los siguientes:

- 2) Analizar la posible asociación entre pacientes NERD y una serie de SNP y CNV de genes involucrados en la vía del AA.
- 3) Analizar la existencia de CNV en los principales genes involucrados en la vía del AA en pacientes NIUA.
- 4) Analizar la posible asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito en NIUA.
- 5) Analizar la posible implicación de variantes génicas en los genes que codifican para la citoquina TSLP y su receptor en NIUA.
- 6) Analizar la posible implicación del gen *CEP68*, previamente asociado con NERD, en pacientes con NIUA, NERD y mixtos.
- 7) Estudiar a nivel de genoma completo la posible implicación de otras vías y mecanismos relacionados con NIUA.



Material y métodos



Selección de los pacientes

Para llevar a cabo este estudio se han seleccionado 5 grupos de individuos (NERD, NIUA, mixtos, ATA y controles sanos). Todos ellos tienen origen español, no están emparentados entre sí y fueron seleccionados independientemente del sexo. Todos los participantes fueron reclutados entre los años 2006 y 2014, en los servicios de alergia de 6 hospitales públicos de España por alergólogos especializados en las reacciones de hipersensibilidad a fármacos. Todos estos centros están integrados en la Red nacional de reacciones adversas a fármacos y alérgenos (RIRAAF). Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron diagnosticados teniendo en cuenta la clasificación propuesta por el ENDA [28].

Los criterios de selección de cada uno de los grupos se describen a continuación:

Grupo de pacientes con NERD

Todos los pacientes con NERD incluidos en los trabajos, que se describen a continuación, presentaron una historia clínica con al menos 2 episodios de síntomas respiratorios tras la toma de un AINE y una provocación nasal con L-ASA positiva, como se ha descrito previamente [109]. Todos los pacientes asmáticos fueron diagnosticados siguiendo la Guía de la Iniciativa Global para el Asma (GINA) [181].

Grupo de pacientes con NIUA

Los pacientes con NIUA habían presentado al menos dos episodios de reacciones de hipersensibilidad con dos o más AINE y un TPO con ASA positiva.

Probablemente, una descripción aún más detallada de las características clínicas de estos pacientes pueda proporcionar una clasificación más pormenorizada [30]. El hecho de que se pueda clasificar a los pacientes de una forma más exhaustiva gracias a sus características clínicas, hace pensar que esos síntomas clínicos pudieran reflejar un bagaje genético distintivo para cada entidad clínica.

En el análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA, se tuvo en cuenta que los pacientes NIUA pueden ser

subclasificados en función de los síntomas clínicos presentados tras la ingesta del AINE en tres subgrupos principales: a) pacientes que sólo desarrollan urticaria, b) pacientes que sufren angioedema y c) pacientes que desarrollan urticaria y angioedema.

Grupo de pacientes mixtos

Para ser incluidos, todos los pacientes mixtos debían presentar una historia clínica con más de 2 episodios de reacciones de hipersensibilidad mostrando afectación cutánea (urticaria y/o angioedema) además de afectación de las vías respiratorias (rinitis y/o asma) con al menos 2 AINE diferentes, y no presentar NECD. El diagnóstico fue confirmado por un TPO a simple ciego o TPN.

Grupo de pacientes ATA

Este grupo de pacientes está compuesto por individuos asmáticos que no presentaban historia previa de hipersensibilidad a los AINE. Todos ellos fueron diagnosticados siguiendo la Guía de la Iniciativa Global para el Asma (GINA) [181]. A todos ellos se les administró L-ASA por vía nasal para confirmar la tolerancia antes de su inclusión en el estudio.

Grupo de controles sanos

Los individuos sanos no tenían que presentar una historia previa de asma o hipersensibilidad a AINE, una FEV₁ mayor que el 80% del valor predicho, y una PC₂₀ con metacolina mayor a 25 mg/mL. Se les administró L-ASA por vía nasal o ASA por vía oral para confirmar la tolerancia antes de su inclusión en el estudio. Así, los controles sanos incluidos en el objetivo 1 y 2 que sirvieron para comparar con el grupo NERD, fueron provocados con L-ASA por vía nasal. El resto de los controles sanos incluidos en los demás objetivos fueron provocados oralmente con ASA.

Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: pacientes con urticaria crónica espontánea o urticaria aguda recurrente, perforación septal, bloqueo nasal total o parcial, infección de las vías respiratorias altas, o alguna condición que impidiese la

provocación nasal u oral, embarazo o lactancia, enfermedad autoinmune u otra enfermedad sistémica.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, para cada uno de los objetivos de esta tesis se seleccionaron los siguientes individuos (Tabla 8):

Análisis del perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico.				
Grupo	NERD	NIUA	ATA	Controles sanos
Número de individuos	10	10	10	20
Análisis de asociación entre pacientes NERD y SNP y CNV de genes involucrados en la vía del ácido araquidónico.				
Grupo	NERD	ATA	Controles sanos	
Número de individuos	250	260	315	
Análisis de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NIUA.				
Fase	Fase de descubrimiento (2007-2009)		Fase de replicación (2010-2012)	
Grupo	NIUA	Controles sanos	NIUA	Controles sanos
Número de individuos	151	139	148	140
Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA.				
Grupo	NIUA	Controles sanos		
Número de individuos	450	500		
Análisis de asociación entre SNP en <i>TSLP</i>, <i>IL7R</i> y <i>TSLPR</i> y NIUA.				
Grupo	NIUA	Controles sanos		
Número de individuos	376	585		
Análisis de asociación entre SNP en <i>CEP68</i> y la hipersensibilidad a los AINE				
Grupo	NIUA	NERD	Mixtos	Controles sanos
Número de individuos	399	110	126	425
Estudio de asociación a nivel de genoma completo				

Grupo	NIUA (españoles)	Controles sanos (españoles)	NIUA (chinos)	Controles sanos (chinos)
Número de individuos de la primera fase (arrays)	112	124	120	101
Número de individuos en la validación	200	200	200	200

Tabla 8: Tipo y número de individuos incluidos en cada uno de los estudios que componen esta tesis doctoral.

Para el estudio a nivel de genoma completo se contó tanto con los pacientes españoles descritos previamente como con los siguientes individuos: 120 pacientes chinos de la etnia Han con NIUA y 101 controles reclutados del Hospital Memorial Chang-Gung y del Hospital Médico Universitario de China (Tabla 8). Estos pacientes y controles fueron seleccionados siguiendo los mismos criterios que la población española.

Determinación del estado atópico

Se realizaron prick con los 30 alérgenos inhalantes más prevalentes entre los que se incluyó pólenes, ácaros del polvo, hongos y epitelio animal. También se midió la IgE total en suero usando el sistema ImmunoCAP (Phadia, Uppsala, Suecia). La atopia fue definida como una o más pruebas cutáneas positivas o valores de IgE total superiores a 130 kU/L.

Declaración ética

Todos los individuos participantes en los estudios que componen esta tesis doctoral fueron seleccionados de forma independiente al sexo o la edad. Todos ellos fueron informados y firmaron un consentimiento informado. Los protocolos seguidos fueron aprobados por los comités éticos de las instituciones involucradas en el estudio (Comité Coordinador de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía), teniendo en cuenta los principios de la Declaración de Helsinki.

Provocación nasal con L-ASA

Los pacientes NERD y un grupo de controles sanos fueron provocados nasalmente con L-ASA tal y como se describe previamente en el trabajo de Campo *et al.* [109]. Al menos dos semanas antes del estudio, los individuos dejaron de tomar los siguientes medicamentos: modificadores de leucotrienos, antihistamínicos y cortico-esteroides nasales y sistémicos. Los casos que presentaron hiperreactividad nasal tras la provocación con una solución salina al 0.9%, fueron descartados. Los pacientes fueron provocados usando una solución con 290 mg/ml de L-ASA, administrando 100 µl en cada orificio nasal. La respuesta fue monitorizada a 15, 60 y 120 minutos por rinometría acústica (SRE 2000 rhinometer, Rhinometrics, Lynge, Dinamarca) y por un sistema de puntuación visual de los síntomas. Mediante rinometría acústica se midió el volumen de la cavidad nasal correspondiente al cornete inferior (volumen 2-6 cm) en cada fosa nasal, teniendo en cuenta las directrices previamente descritas [182]. La puntuación de los síntomas consistió en un cuestionario en el que se tuvieron en cuenta los síntomas de obstrucción nasal, rinorrea, picores y estornudos. Estos síntomas fueron monitorizados en cada punto colocando una marca vertical en una escala horizontal analógica visual (VAS) de 100 mm. Las medidas seriadas de volumen espirado (FVE₁) fueron llevadas a cabo con un espirómetro Spirobank® Spirometer (RDSM, Hasselt, Bélgica) siguiendo las directrices previamente establecidas [183].

Provocación oral con ASA

Los TPO con ASA a dosis crecientes fueron llevados a cabo en pacientes con NIUA y el otro grupo controles sanos [23]. Esta provocación fue realizada con un procedimiento simple ciego. En el primer día, se dieron capsulas de placebo en los intervalos de tiempo previamente establecidos y en el segundo día de provocación (realizado al menos dos semanas después) se administraron oralmente dosis creciente de ASA en intervalos de 90 minutos, como se describe previamente [3]. En caso de aparecer síntomas cutáneos y/o signos vitales alterados (alteración de ritmo cardiaco, descenso en la tasa de flujo espiratorio o hipotensión) durante la provocación, se paraba el procedimiento y se evaluaban y trataban los síntomas. Si no aparecían síntomas

durante la administración, se llegaba a la dosis acumulada total. En el caso de que los individuos presentasen una buena tolerancia durante la provocación y 2 días tras la administración, la prueba se consideraba negativa. Todos los medicamentos fueron administrados en cápsulas opacas preparadas por el servicio de farmacia del hospital.

Obtención de muestras y determinación de mediadores inflamatorios

Durante las provocaciones, se recogieron muestras de orina a tiempo basal y en intervalos de 0-3, 3-6 y 6-9 horas después de la provocación con el medicamento o la administración del placebo. Las muestras de controles fueron recogidas basalmente y en los mismos periodos que en los pacientes. Se determinó la concentración de 11 mediadores eicosanoides en orina, incluyendo LTE_4 y metabolitos de PGE_2 (13,14-dihidro-15-ceto- PGE_2 ; 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor- PGE_2 y tetranor- PGE_2), metabolitos de PGD_2 (13,14-dihidro-15-ceto- PGD_2 ; 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor- PGD_2 y tetranor- PGD_2), metabolitos de PGF_2 (2,3-dinor-9 α ,11 β - $\text{PGF}_{2\alpha}$ y 9 α ,11 β - $\text{PGF}_{2\alpha}$) e isoprostanos (i $\text{PF}_{2\alpha}$ -VI y 5-i $\text{PF}_{2\alpha}$ -VI). Para la determinación de los metabolitos, a cada muestra de orina (1 mL) se le añadieron unos estándares químicamente idénticos modificados (0.25-1.0 ng), se acidificaron hasta un pH 3.5 con ácido acético y se extrajeron usando la fase orgánica. Las muestras para la determinación de LT fueron analizadas mediante cromatografía líquida de alta resolución/espectrometría de masas (Qtrap 4000, Applied Biosystems, CA, USA) en modo de monitorización de múltiples reacciones con ionización negativa. Las muestras para la determinación de PG se derivatizaron a pentafluorobencil ester, trimetilsilil ester y metoxioxima, se purificaron mediante cromatografía en capa fina y se analizaron empleando cromatografía de gases y espectrometría de masas en modo ionización química negativa (GC-NICI-MS, Engine 5989B series II Hewlett Packard, Palo Alto, CA). Todas las muestras se analizaron en modo simple ciego [90].

Extracción de DNA genómico, controles de calidad y cuantificación

Se obtuvo sangre periférica de pacientes y de controles en tubos de 3.5mL de volumen con citrato de sodio como anticoagulante. Dicha sangre fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos para separar la fracción de células blancas (linfocitos, monocitos y otras células sanguíneas nucleadas) del resto de componentes sanguíneos. A partir de dichas células, se extrajo el DNA genómico mediante la utilización de un Kit comercial Flexigene (Quiagen®), siguiendo el protocolo descrito por el fabricante. Este método se basa en un primer paso de lisis celular, seguida de una degradación de la fracción proteica con la ayuda de la proteinasa K, la precipitación del DNA con isopropanol y posterior purificación con etanol. Las muestras fueron rehidratadas y conservadas en un buffer de hidratación que contiene Tris-EDTA.

Las muestras pasaron los siguientes controles de calidad: Se calculó el ratio 260/280 y 260/230 a través de una medición de la absorbancia a 230, 260 y 280 nm con el uso de del espectrofotómetro NanoDrop ND-2000 (Thermo Scientific). Los valores de los ratio debían ser mayores a 1.8 y 2.0-2.2, para cada uno de los ratios analizados, para considerar a las muestras como aptas para su inclusión en los estudios. La siguiente prueba realizada fue la separación del DNA por tamaños en un gel de agarosa al 1%, mediante una electroforesis unidimensional. El objetivo era asegurarnos de que al menos el 90% del DNA extraído estaba íntegro.

Por último, la cuantificación de la concentración de DNA fue realizada usando Quant-iT PicoGreen dsDNA Reagents (Invitrogen). Posteriormente se realizaron alícuotas de DNA a una concentración de 20 ng/ μ L o 5 ng/ μ L para las posteriores determinaciones.

Selección de los polimorfismos

En el análisis de variantes en genes implicados en la vía del AA en pacientes NERD, se estudiaron un total de 33 SNP en los siguientes genes: *PTGS1*, *PTGS2*, *ALOX5*, *ALOX5AP*, *ALOX12*, *ALOX15*, *LTC4S*, *CYSLTR1*, *CYSLTR2*, *PTGER1*, *PTGER2*, *PTGER3*, *PTGER4*, *PTGDR* y *PTGFR* (Tabla 9). Estos fueron seleccionados de forma directa, basándonos en que la frecuencia alélica menor (MAF) descrita en HapMap [184], el

Proyecto 1000 Genomas [185] o en la base de datos dbSNP fuese superior a 0.05 ($MAF > 0.05$), su posible implicación funcional; así como su asociación descrita con NERD en otras poblaciones y la información obtenida de SNP info (snpinfo.niehs.nih.gov).

El análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA, fue un estudio de asociación directa. Se estudiaron 9 SNP en los siguientes genes: *PLA2G4A*, *PLCG1*, *LAT*, *SYK* y *TNFRS11A* (Tabla 9). Los SNP analizados fueron seleccionados de acuerdo a varios criterios; en primer lugar, se seleccionaron SNP con importancia clínica o funcional previamente descrita en anteriores publicaciones, en caso de no existir información previa, se seleccionaron SNP no sinónimos que pudieran tener un efecto y además, se tuvo en cuenta que presentasen una frecuencia alélica menor (>0.01) en la población CEU como ha sido reportado en la base de datos pública del NCBI (Tabla 9)[149,186-190]. Más detalles sobre los criterios de selección se han descrito en el Anexo 2.

En el análisis de asociación entre SNP en *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR* y NIUA, se genotiparon los SNP de la tabla 9. Estas variantes genéticas existentes en *TLSP* e *IL7R* fueron seleccionadas usando Haploview en función de la información disponible en la base de datos de HapMap II [184], incluyendo 10 kb de las regiones flanqueantes de cada gen y corroborando la cobertura de las variantes con una $MAF \geq 0.10$ con un $r^2 \geq 0.8$. Para *TSLPR* se seleccionaron de forma directa tres SNP en este gen que habían sido previamente evaluados por su asociación con otras enfermedades inflamatorias [171,191].

Para llevar a cabo el análisis de asociación entre SNP en *CEP68* y la hipersensibilidad a los AINE, se seleccionaron 6 SNP (Tabla 9). Para ello se usó un algoritmo de selección de marcadores múltiple basado en r^2 que está incluido en el software TagIT 3.03 [192]. El proceso de selección fue descrito previamente en Flores *et al.* [193], y se llevó a cabo teniendo en cuenta un valor de r^2 para el haplotipo de 0.80, usando un método SNP-dropping-with-resampling. Además, se incluyó el polimorfismo rs7572857, el cual fue asociado previamente con NERD en un GWAS llevado a cabo con población coreana [138].

Para llevar a cabo el estudio de asociación a nivel de genoma completo se usó el array Affymetrix® Genome-wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA). Este array está diseñado para detectar 1.8 millones de variantes entre las que se encuentran 906600 SNP y 946000 CNV. Este proceso se llevó a cabo en el centro nacional de medicina genómica de la Academia Sinica (Tapéi, Taiwan). En nuestro laboratorio se llevó a cabo la validación de los SNP de la población española (Tabla 9).

Análisis de asociación entre pacientes NERD y SNP y CNV de genes involucrados en la vía del ácido araquidónico.	
<i>PTGS1</i>	rs5789, rs5794, rs1236913, rs10306108, rs3842787, rs10306135
<i>PTGS2</i>	rs689465, rs689466
<i>ALOX5</i>	rs2115819, rs3780894, rs4986832
<i>ALOX5AP</i>	rs1132340
<i>ALOX12</i>	rs434473, rs1126667
<i>ALOX15</i>	rs3892408, rs11568131
<i>LTC4S</i>	rs730012
<i>CYSLTR1</i>	rs320995, rs2806489
<i>CYSLTR2</i>	rs912278
<i>PTGER1</i>	rs3810253, rs3810255
<i>PTGER2</i>	rs17197, rs1254598, rs1353411, rs2075797
<i>PTGER3</i>	rs959
<i>PTGER4</i>	rs4495224, rs7720838, rs45613037
<i>PTGDR</i>	rs8004654, rs34236606
<i>PTGFR</i>	rs3753380
Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito	
<i>PLA2G4A</i>	rs2307198, rs12746200, rs12749354
<i>PLCG1</i>	rs753381, rs2228246
<i>LAT</i>	rs7140
<i>SYK</i>	rs290986
<i>TNFRS11A</i>	rs1805034, rs35211496
Análisis de asociación entre SNP en <i>TSLP</i>, <i>IL7R</i> y <i>TSLPR</i> y NIUA.	
<i>TSLP</i>	rs1545169, rs764917, rs1837253, rs3806932, rs2289276, rs897801
<i>IL7R</i>	rs1494565, rs11567714, rs6897932, rs13167136, rs700179,
<i>TSLPR</i>	rs36139698, rs36177645, rs36133495
Análisis de asociación entre SNP en <i>CEP68</i> y la hipersensibilidad a los AINE	
<i>CEP68</i>	rs10496123, rs2241161, rs2249105, rs3732098, rs7572857, rs1228

Estudio de asociación a nivel de genoma completo (validación española)	
<i>RIMS1</i>	rs2249625, rs2254147
<i>RAD51B</i>	rs8008961
chr 10:58883576	rs282674
Chr 10:58883857	rs282673
<i>CFAP61</i>	rs6075630, rs6106205
Chr 3:161931728	rs6441418
Chr 3:161931564	rs6441417
<i>LOC101927646</i>	rs1335808
<i>CAMTA1</i>	rs1750849
Chr 10:58866474	rs3125447
<i>GPRIN3</i>	rs6532150
Chr 13:110027123	rs2225777
Chr 8:74795427	rs7842758

Tabla 9: Relación de SNP genotipados. Todos ellos han sido analizados con sondas TaqMan.

Selección de los CNV

El análisis de asociación entre CNV localizados en los genes de la vía del AA en pacientes NERD y NIUA fue realizado usando TaqMan copy number assays (Life Technologies SA, Madrid, España) [194], diseñados para hibridar con el marco abierto de lectura de los siguientes genes: *ALOX5*, *LTC4S*, *PTGS1*, *PTGS2*, *PTGER1*, *PTGER2*, *PTGER3* y *PTGER4* (Tabla 10). Se incluyeron también datos adicionales de estos CNV que fueron extraídos de las bases de datos de UCSC (GRCh37/hg19)[195] y ClinVar [196] y fueron incluidos en la tabla de material suplementario (Anexo 3) (Tabla S1).

Gen	Sonda	Región cromosómica amplificada	Localización del CNV dentro del gen	Citobanda
<i>ALOX5</i>	Hs00451964_cn	Chr.10:45869629-45941565	En el exón 1	10q11.21d
<i>LTC4S</i>	Hs01500567_cn	Chr.5:179220986-179223513	En el exón 5	5q35.3e
<i>PTGS1</i>	Hs00676037_cn	Chr.9:125133229-125157981	En el exón 7	9q33.2b
<i>PTGS2</i>	Hs02952497_cn	Chr.1:186640944-186649559	En el exón 10	1q31.1 ^a
<i>PTGER1</i>	Hs00354128_cn	Chr.19:14583278-14586174	En el exón 3	19p13.12c
<i>PTGER2</i>	Hs02595127_cn	Chr.14:52781016-52795324	En el exón 2	14q22.1c
<i>PTGER3</i>	Hs00650667_cn	Chr.1:71318036-71513491	En el exón 1	1p31.1j
<i>PTGER4</i>	Hs02934272_cn	Chr.5:40680032-40693837	En el exón 3	5p13.1b

Tabla 10: Información detallada de los CNV analizados en esta tesis.

Genotipado

Fundamento de las sondas utilizadas

El procedimiento de genotipado fue llevado a cabo mediante PCR cuantitativa (qPCR) a tiempo real en 7500 Fast Real-Time PCR System usando sondas de discriminación alélica de TaqMan[®] (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Para determinar el genotipo se usaron sondas TaqMan[®] para cada uno de los polimorfismos a estudiar. Estas sondas vienen acompañadas de sus cebadores específicos para amplificar la región donde se encuentra el SNP. Fueron validadas y producidas por Applied Biosystems (Foster City, California). El fundamento en el que se basa estas sondas se ha detallado en la figura 8. Concretamente, se incluye una pareja de sondas con fluoróforos VIC o FAM que se unen específicamente a una secuencia que entre ambas varía un solo nucleótido, que es precisamente el SNP que se quiere identificar. Una de las sondas reconocerá el nucleótido más frecuente y la otra reconocerá la variante. Cada sonda contiene en su extremo 5' unido un fluoróforo indicador. A la sonda del alelo 1 se une el colorante denominado comercialmente VIC. Y a la sonda del alelo 2 se une el colorante FAM. Por ejemplo, cuando tenemos este caso: ATCGATT [G/T] ATCC. La sonda unida a VIC se unirá con el alelo G y la sonda unida a FAM se unirá al alelo T. En el extremo 3', tienen unidas un "Quencher" no fluorescente que capta la fluorescencia emitida por el colorante VIC o FAM mientras estén ambos en la misma molécula. Durante la PCR, cada sonda TaqMan[®] se une específicamente a su diana. Esta estará situada entre los sitios de reconocimiento de una pareja de cebadores específicos que van a amplificar la secuencia que contiene el polimorfismo a estudiar. Una vez que la DNA polimerasa comienza a elongar la cadena de DNA, va eliminando nucleótidos gracias a su actividad 5' exonucleasa. La DNA polimerasa es la AmpliTaq[®] Gold DNA polimerasa. En el momento que llegue a la zona donde está unida la sonda, la digiere liberándose el colorante (VIC o FAM). El colorante liberado emite fluorescencia que podrá ser detectada por un sistema de captación presente en el termociclador. Cuando no se da la unión de la sonda a su diana, no se degrada ésta y no se libera el fluoróforo. Sólo cuando está libre, puede emitir fluorescencia gracias a que se separa del "quencher". Entonces, la fluorescencia

generada por la amplificación de la PCR indica que los alelos están presentes en la muestra.

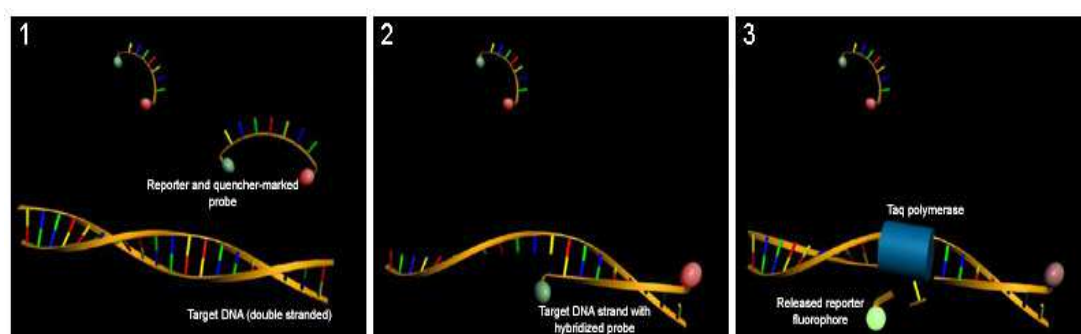


Figura 8: Fundamento de las sondas TaqMan®. Imagen tomada de [197].

Procedimiento para el genotipado de SNP

Las reacciones de qPCR para la identificación de SNP fueron llevadas a cabo usando los reactivos descritos en la tabla 11 y el programa de la tabla 12. Todos los genotipos de las muestras fueron determinados por triplicado usando el 7500 software 2.0.1.

Componentes de la reacción	Volumen por reacción (µL) (96 pocillos)
TaqMan®GTXpress Master Mix (2X)	12,5
TaqMan®genotypingassay (20X)	1,25
DNA molde (20 ng/ µL)	5
Agua libre de nucleasas	6,25
Volumen final	25

Tabla 11: Componentes para la reacción de qPCR para la determinación alélica de SNP con sondas TaqMan.

Paso	Temperatura (°C)	Duración (segundos)	Ciclos
Activación de la enzima	95	20	<i>Hold</i>
Desnaturalización	95	2	40
Anillamiento/extensión	60	30	

Tabla 12: Condiciones experimentales de la reacción de qPCR para genotipado de SNP con sondas TaqMan en el termociclador Fast 7500.

Procedimiento para el genotipado de CNV

Para la identificación de los CNV, las reacciones de qPCR fueron llevadas a cabo mediante PCR a tiempo real en 7500 Fast Real-Time PCR utilizando TaqMan copy number assays (Applied Biosciences). Estas sondas fueron diseñadas para hibridar con el marco abierto de lectura de cada gen (Tabla 10).

La reacción de qPCR por la cual se identifica la presencia de CNV es una PCR a tiempo real doble. En ella, por un lado se amplifica nuestra región de interés (TaqMan® Copy Number Reference Assay) y por otro lado, un gen de referencia que en nuestro caso es la RNasa P (TaqMan® Copy Number Reference Assay RNase P). Este gen de referencia fue elegido por ser el más recomendado para realizar experimentos de cuantificación del número de copias en DNA genómico humano. Este ensayo detecta el gen del componente H1 de la ribonucleasa P (RPPH1) presente en la posición 14q11.2 del cromosoma 14. Las reacciones de qPCR se llevaron a cabo usando 20 ng de DNA genómico por reacción. Cada paciente fue testado por triplicado y cuando los pacientes no presentaban dos copias, la muestra se analizaba una vez más para confirmar el resultado. Si estos resultados se repetían, se volvía a ensayar por cuadruplicado, tal y como recomienda el fabricante. El genotipo de cada individuo fue asignado usando el software CopyCaller™ (Applied Biosciences Hispania). El número de copias de la secuencia diana se determinó usando el método de cuantificación relativa basado en los valores de C_T llamado $\Delta\Delta C_T$. Este método mide la diferencia de C_T entre la secuencia de referencia y la secuencia de interés.

Los reactivos utilizados para la reacción de PCR necesaria para identificar CNV, se describen en la tabla 13 y el programa usado en la tabla 14.

Componentes de la reacción	Volumen por reacción (μL)
TaqMan® Genotyping Master Mix	10
TaqMan® Copy Number Assay (20X)	1
TaqMan® Copy Number Reference Assay	1
Agua libre de nucleasas	4
DNA molde (5 ng/ μL)	4
Volumen final	20

Tabla 13: Componentes de la qPCR para la identificación de CNV.

Paso	Temperatura (°C)	Duración (segundos)	Ciclos
Activación de la enzima	95	10 minutos	<i>Hold</i>
Desnaturalización	95	15	40
Anillamiento/extensión	60	60	

Tabla 14: Condiciones de la qPCR para identificación de CNV.

Procedimiento para el genotipado a nivel de genoma completo y su validación

El estudio del genoma completo fue llevado a cabo usando Affymetrix® Genome-wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) en el centro nacional de medicina genómica de la Academia Sinica (Taipéi, Taiwan). La asignación del genotipo se realizó con Affymetrix Power Tool 1.10.2 (Affymetrix) usando los parámetros indicados por defecto.

Los SNP autosómicos del GWAS con un $p < 10^{-5}$ fueron validados mediante espectrometría de masas con MALDI-TOF (SEQUENOM MassARRAY®, Sequenom, San Diego, CA, USA). Los SNP resultantes después de la validación cruzada con la plataforma (Tabla 9), fueron genotipados en el laboratorio de investigación de Málaga usando ensayos de discriminación alélica de TaqMan® en el sistema de PCR a tiempo real 7500 Fast (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) tal y cómo se ha descrito previamente.

Análisis funcional de redes proteicas asociadas

Con el objetivo de identificar asociaciones funcionales entre CEP68 y otras proteínas se usó la base de datos de STRING [198] (disponible online en <http://string-db.org>).

Análisis estadístico

1. En el estudio del perfil de los mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA, los datos clínicos fueron expresados como medias±rango. Los metabolitos de la orina fueron expresados en pg/mg de creatinina, como mediana y rango intercuartílico. Las comparaciones entre grupos en condiciones basales fueron

calculadas con un ANOVA. Las comparaciones estadísticas de todos los datos de los pacientes y los controles fueron realizadas con un test de Wilcoxon-Mann-Whitney. La significación estadística fue definida a partir de un p-valor inferior a 0.05 ($p < 0.05$).

2. En el análisis de variantes en genes implicados en la vía del AA en pacientes NERD (SNP y CNV), los datos demográficos y clínicos fueron analizados usando un test de Mann-Whitney con el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)(Tabla 18). El equilibrio de Hardy-Weinberg fue evaluado usando el programa de DeFinetti (<http://ihg2.helmholtzmuenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). Los análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas fueron llevados a cabo por una regresión logística basándonos en modelos alélicos, heterocigotos y homocigotos dominante o recesivo y ajustando por el estado atópico. La corrección por test múltiples fue realizada a través del cálculo de la tasa de falso descubrimiento (FDR) usando QVALUE [199]. Un p -valor ≤ 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. La reconstrucción del haplotipo fue llevada a cabo con Haploview 4.2 [200]. El poder estadístico identificado en este estudio para MAF=0.1 fue del 87.0%.
3. En el análisis de asociación entre CNV localizadas en genes de la vía del AA y NIUA, las características clínicas y demográficas fueron analizadas mediante un test de Mann-Whitney usando el programa GraphPad prism 5 (GraphPad software, San Diego, CA). Los controles de calidad de los datos de genotipado fueron llevados a cabo usando PLINK [201]. Las muestras o los genes que presentaron una tasa de completado (CR) inferior al 80% fueron descartados. Si algún CNV hubiese estado en desequilibrio de Hardy-Weinberg en el grupo control, no se hubiese incluido en los siguientes análisis. La asociación de la patología NIUA con los CNV para los genes que pasaron los controles de calidad fue testada con el programa EPIDAT mediante un test exacto de Fisher. La asociación de la atopia con los CNV también fue evaluada usando el mismo método. Para calcular los resultados del meta-análisis, se usó un test de Mantel-Haenszel con EPIDAT [202] y para calcular el p-valor exacto se usó R

programm (versión 3.1.2). Además, con el objetivo de determinar si había alguna relación entre la presencia de una delección en uno de los genes con la presencia de otra delección en otro gen, se llevó a cabo una correlación usando GraphPad prism 5. El poder estadístico para nuestras muestras fue calculado usando Quanto (<http://biostats.use.edu/software>). Dicho poder fue del 81.42% para una frecuencia del 5% de CNV y un odd ratio (OR) de 2.

4. En el análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA, los datos clínicos y demográficos fueron analizados usando un test de Mann-Whitney con el programa SPSS 15.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). El equilibrio de Hardy–Weinberg fue analizado con el programa de DeFinetti (<http://ihg2.helmholtzmuenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). Los análisis alélicos y genotípicos fueron llevados a cabo usando un modelo de regresión logística y el riesgo de asociación de NIUA con las variantes genéticas fue estimado por odds ratios alélicos, heterocigotos y homocigotos dominantes y recesivos, y ajustando por el estado atópico. El punto de corte para establecer la significación estadística se estableció para un p -valor ≤ 0.05 .

La reconstrucción del haplotipo se realizó usando el programa Haploview 4.2 [200]. La corrección por tests múltiples fue llevada a cabo mediante el cálculo de la tasa de falso descubrimiento (FDR) (P_c values) usando QVALUE [199]. El poder estadístico en este estudio para detectar asociaciones de SNP con una MAF=0.1 con un valor de RR=1.5 ($p=0.05$) fue estimado en un 87%.

5. En el análisis de asociación entre SNP en *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR* y NIUA, los datos clínicos y demográficos fueron analizados usando la versión 3.1.2 del programa R, mediante tests χ^2 y Mann-Withey.

Los controles de calidad y el filtrado de los datos de genotipado se llevaron a cabo usando el software PLINK [201] para descartar los SNP con: una tasa de completado (CR) $< 90\%$, MAF < 0.05 , y desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) con p -valores < 0.0033 (valor dado por la corrección de

Bonferroni 0.05/15). Las muestras de individuos con una CR <80% no fueron incluidas en los análisis de asociación.

Para llevar a cabo la estimación de la frecuencia de variantes adicionales en nuestros genes candidatos, es decir una imputación, descargamos la información de la fase 3 del Proyecto 1000 Genomas [185]. Usando VCF tools, seleccionamos las regiones de interés para *TSLP* (chr5:110,395,778-110,423,722) *eIL7R* (chr5:35,846,977-35,889,705), pero no para *TSLPR*, debido a la falta de información de este gen en el proyecto 1000 Genomas. A continuación, usamos PLINK para extraer los datos de los 503 individuos Europeos incluidos dentro de dicha fase. La imputación se llevó a cabo con el software Mach 1.0.16 [203]. Este software se ha diseñado a partir del trabajo de Abecasis y Li y proporciona la estimación de los alelos faltantes de una muestra de genotipos, apoyándose en el uso de un modelo de Markov oculto [203]. Los test de asociación fueron realizados con Mach2dat usando dosis alélicas [203]. Los SNP con MAF <0.10 y RSQR inferiores a 0.3 (RSQR<0.3) fueron excluidos. RSQR es un archivo del valor de Rsq. Un Rsq o R^2 es una medida de la calidad de la imputación, se trata de un r^2 entre el genotipo verdadero y el imputado. Los datos obtenidos fueron presentados en un gráfico de la región analizada usando Locus Zoom [204]. La FDR fue calculada usando Q-VALUE para R [199] y se estableció una FDR $\leq 5\%$ para declarar la significación estadística.

El poder estadístico fue calculado usando Quanto (<http://biostats.usc.edu/software>), asumiendo un riesgo de padecer NIUA de 0.0148 y teniendo en cuenta el número de SNP independientes para cada gen, como fue estimado con SNPpD (<https://genepi.qimr.edu.au/>). El poder estadístico fue del 81.89% para SNP con una MAF=0.4.

6. En el análisis de asociación entre SNP en *CEP68* y la hipersensibilidad a los AINE, se usaron tests de Mann-Whitney y χ^2 usando SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), para comparar las variables demográficas y clínicas. El test de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) para casos y controles fue llevado a cabo con SNPing

[205-206]. La imputación de los SNP fue realizada con MaCH 1.0 [203] usando como referencia los datos de muestras europeas de la fase 1 (Mayo 2011) del Proyecto 1000 Genomas [207]. A continuación, los test de asociación se llevaron a cabo con una regresión logística teniendo en cuenta las dosis alélicas utilizando Mach2-dat [203]. En este proceso, se incluyeron un total de 53 SNP (47 imputados y 6 genotipados) que mostraron una $MAF < 10\%$ y una $RSQR < 0.3$, originada con MaCH2-dat (Tabla S4). Para evaluar la independencia de las asociaciones de SNP, se llevó a cabo un análisis de regresión condicional usando R 2.15.0 (<http://www.rproject.org/>). La representación de los resultados de asociación fue llevada a cabo usando LocusZoom 1.1 [204] basado en datos de hg19 depositados para la población europea del Proyecto 1000 Genomas. Los efectos funcionales predichos fueron evaluados según FASTSNP [208] y SNPinfo [209].

Un $p \leq 9.4E-04$ fue considerado estadísticamente significativo siguiendo una corrección por múltiples comparaciones de Bonferroni ($0.05/53$). Como esta corrección es muy conservadora, nosotros consideramos las asociaciones con una tasa de falso descubrimiento (FDR) usando QVALUE para R [199]. Usando Power 3.0 [210] estimamos que el tamaño muestral de estudio nos permitiría obtener un poder del 80% para detectar efectos de 1.85 para variantes con una $MAF = 0.30$ y con una $p = 9.46E-04$.

7. En el estudio de asociación a nivel de genoma completo, el proceso estadístico llevado a cabo para realizar los controles de calidad de los datos de genotipo fue el siguiente: en primer lugar, el sexo de los individuos fue determinado calculando el ratio de los *loci* con genotipos heterocigotos en el cromosoma X y comparando con la información registrada. Después de calcular la tasa de completado y la frecuencia alélica menor (MAF) de los casos y los controles para cada SNP, los SNP fueron excluidos si ocurría una de las siguientes condiciones:
 - [A] un solo alelo aparecía tanto en caso como en controles;
 - [B] la tasa de completado era menor del 98%;
 - [C] la MAF total era menor del 5% y la tasa de completado era menor del 99%;

[D] una desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg en el grupo control ($p < 1.00E-04$).

A través de un análisis de componentes principales se llevó a cabo la detección de una posible estratificación poblacional que pudiese influenciar los análisis de asociación posteriores. Se llevó a cabo teniendo en cuenta los datos de genotipado de 100000 SNP repartidos de forma equilibrada (con una separación igual a lo largo de todo el genoma). Para examinar si los individuos estaban emparentados entre sí, se usó el método pair-wise identity-by-state con PLINK. El factor de inflación de la varianza para el control genómico se estimó en función de los SNP que pasaron todos los filtros de calidad.

El análisis de los datos de genotipo se llevó a cabo comparando las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles siguiendo los siguientes métodos: genotipo, tipo de alelo, prueba de tendencia (test de Cochran-Armitage), modelo dominante y modelo recesivo. Los p-valores empíricos se obtuvieron con 108 simulaciones. Se asignó un $\alpha = 10^{-8}$, como el valor de corte tras las corrección de Bonferroni para considerar al SNP como significativamente asociado con la patología. Se consideró que los SNP con p-valores entre 10^{-8} y 10^{-5} presentarían una asociación nominal. Para examinar las distribuciones de los p-valores se usaron los gráficos Quantile–quantile (Q–Q plots). El meta-análisis se llevó a cabo usando un test de Fisher en el que se tuvieron en cuenta los p-valores de las dos poblaciones.



Resultados

Análisis del perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico

Con el desarrollo de este objetivo se ha tratado de determinar el perfil de excreción de eicosanoides en orina en pacientes NIUA y NERD tras la provocación con ASA y establecer posibles diferencias en cuanto al mecanismo de ambas entidades. Los resultados son los siguientes:

Características clínicas de los individuos y síntomas desarrollados tras las provocaciones

La tabla 15 muestra las características clínicas de los pacientes y controles incluidos en este estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la edad, el sexo o la atopía de los diferentes grupos que se compararon.

	NERD (n=10)	Controles (n=10)	NIUA (n=10)	Controles (n=10)	p-valor
Edad (media, rango)	42.0 (21-65)	35.20 (20-45)	32.17 (18-48)	31.62 (21-43)	NS
Sexo (M/H)	7M/3H	5M/5H	6M/4H	6M/4H	NS
Atopia (% prick cutáneo positivo)	50.00%	40.00%	60.00%	30.00%	NS
Síntomas	Asma (n=3) Rinitis (n=2) Rinitis + Asma (n=5)	NA	Urticaria (n=4) Urticaria + Angioedema (n=5) Angioedema (n=1)	NA	NA

Tabla 15: Características clínicas de los pacientes y controles sanos incluidos en el estudio de los mediadores inflamatorios derivados de la vía de AA en muestras de orina. M: mujeres; H: hombres; NS: no significativo; NA: no aplicable.

Los síntomas desarrollados por los pacientes NERD y NIUA tras los TPN y TPO se muestran en las tablas 16 y 17; respectivamente. Los pacientes NERD presentaron los síntomas en un intervalo de 15 a 60 minutos tras la provocación nasal; estos fueron aumentando a medida que se desarrollaba la prueba, tal y como se ve en los resultados del cuestionario y las espirometrías. En el caso de los pacientes NIUA, los síntomas aparecieron en un intervalo de entre 15 y 90 minutos tras la provocación

oral. Ninguno de los controles sanos incluidos en los estudios presentó síntomas tras las respectivas provocaciones.

Paciente	Puntuación de los síntomas basales	Puntuación de los síntomas tras la provocación	% caída del volumen 2-6 tras la provocación (OD)	% caída del volumen 2-6 tras la provocación (OI)
1	0	6	42.66	43.88
2	0	0	65.61	12.06
3	0	4	0	31.39
4	0	7	17.16	31.51
5	0	6	29.96	0
6	0	30	10.95	34.23
7	1	2	34.66	0
8	15	40	31.29	14.36
9	1	5	21.83	35.18
10	0	26	0	73.75

Tabla 16: Resultados clínicos obtenidos de la provocación nasal de los diez pacientes NERD incluidos en el estudio de la determinación de mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA. OD: orificio nasal derecho; OI: orificio nasal izquierdo.

Paciente	TEST	Síntomas desarrollados en respuesta a la provocación	Intervalo de tiempo	Dosis acumulada
1	TPO	Ronchas en la cara, el pecho y en los hombros y angioedema facial	30m	150mg
2	TPO	Angioedema facial y conjuntival con afectación de labios y párpados	60m	50mg
3	TPO	Ronchas en cuello, brazos y abdomen con angioedema labial	30m	300mg
4	TPO	Ronchas en cuello y pecho	60m	500mg
5	TPO	Eritema facial	30m	300mg
6	TPO	Ronchas en piernas, tórax y angioedema de manos	45m	500mg
7	TPO	Angioedema facial con eritema conjuntival	90m	500mg
8	TPO	Ronchas generalizadas en pecho, abdomen y piernas	50m	300mg
9	TPO	Angioedema palpebral con eritema facial	30m	150mg
10	TPO	Ronchas en pecho y abdomen	40m	500mg

Tabla 17: Resultados del test de provocación oral (TPO) y síntomas desarrollados durante la prueba de exposición controlada de los pacientes NIUA incluidos en el estudio de la determinación de mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA.

Resultados de la determinación de mediadores a nivel basal

Con el objetivo de determinar si basalmente existían alteraciones significativas en los niveles de eicosanoides entre los grupos NERD, NIUA y los controles sanos, se llevaron a cabo las mediciones en orina en estado basal. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de LTE₄ (Figura 9, Tabla 18).

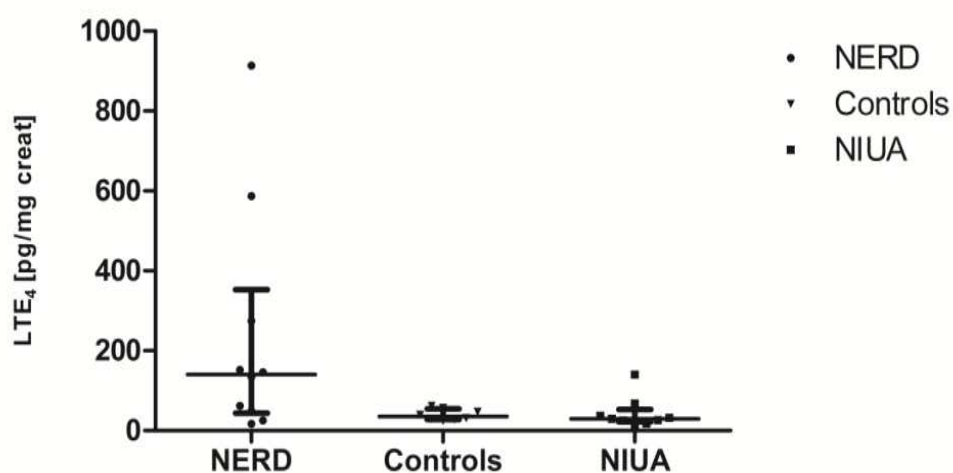


Figura 9: Niveles de LTE₄ basal en pacientes (NERD y NIUA) y controles sanos. Este grupo control incluye a los individuos sanos que posteriormente fueron provocados nasalmente y a los que fueron provocados oralmente. Los datos fueron expresados en pg/mg de creatinina, como mediana y rango intercuartílico.

Los pacientes NERD presentaron valores significativamente elevados (140.5 [43.84-352.6] pg/mg creatinina; $p=0.016$) con respecto a los pacientes NIUA y los controles sanos (tanto el grupo control provocado nasalmente como el provocado oralmente) ; (29.72 [21.79-52.51] pg/mg creatinina) y (41.69 [29.66-64.44] pg/mg creatinina), respectivamente. No se encontraron diferencias significativas, a nivel basal, entre los grupos para el resto de eicosanoides analizados (Tabla 18).

Eicosanoides		NERD	NIUA	Control	p-valor
		(N=10)	(N=10)	(N=20)	
		pg/mg creatinina	pg/mg creatinina	pg/mg creatinina	
Leucotrieno	LTE₄	140.5 (43.84-352.6)	29.72 (21.79-52.51)	41.69 (29.66-64.44)	0.016
Metabolitos de PGE₂	13,14-dihidro-15-ceto-PGE ₂	371.8 (335.2-762.5)	249.8 (193.7-737.1)	422.6 (224.1-569.2)	0.567
	13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGE ₂	253.7 (141.6-395.1)	231.2 (158.9-270.9)	190.4 (115.9-397.8)	0.706
	tetranor-PGE-M	6435 (3705-11088)	3592 (1441-12761)	7384 (5176-12872)	0.158
Metabolitos de PGD₂	13,14-dihidro-15-ceto-PGD ₂	203.6 (133.6-356.3)	100.2 (81.93-205.5)	175.7 (132.3-269.9)	0.437
	13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGD ₂	567.1 (161.8-800.6)	236.0 (193.8-937.1)	543.2 (431.1-1448)	0.712
	tetranor-PGD-M	4870 (2769-7751)	3363 (1258-6968)	5953 (5364-8349)	0.470
Metabolitos de PGF₂	2,3-dinor-9 α ,11 β -PGF _{2α}	806.9 (284.8-3893)	848.7 (403.9-1042)	608.7 (324.2-821.1)	0.188
	9 α ,11 β -PGF _{2α}	472.8 (232.9-708.9)	440.0 (303.2-524.9)	412.5 (378.7-446.4)	0.770
Isoprostanos	iPF _{2α} -VI	330.9 (135.8-725.1)	314.4 (164.5-536.6)	354.6 (192.9-549.9)	0.630
	5-iPF _{2α} -VI	544.7 (351.4-769.6)	437.7 (174.6-865.9)	496.0 (210.8-862.2)	0.683

Tabla 18: Valores medios de los mediadores eicosanoides derivados de la vía de AA medidos a nivel basal, para los grupos de pacientes NERD, NIUA y los individuos control. Este grupo control incluye a los individuos que posteriormente fueron provocados nasalmente y a los que fueron provocados oralmente.

Resultados de la determinación de mediadores tras la provocación

Tras la provocación nasal, los pacientes NERD mostraron un incremento significativo en orina de LTE₄ en el intervalo de 3-6 horas (267.2 [198.15-320.7] pg/mg creatinina; $p= 0.008$) y de 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂ en el intervalo de 6-9 horas (660.7 [590.3-780.3] pg/mg creatinina; $p= 0.009$), comparado con los controles sanos con provocación nasal (Figura 10 y 11).

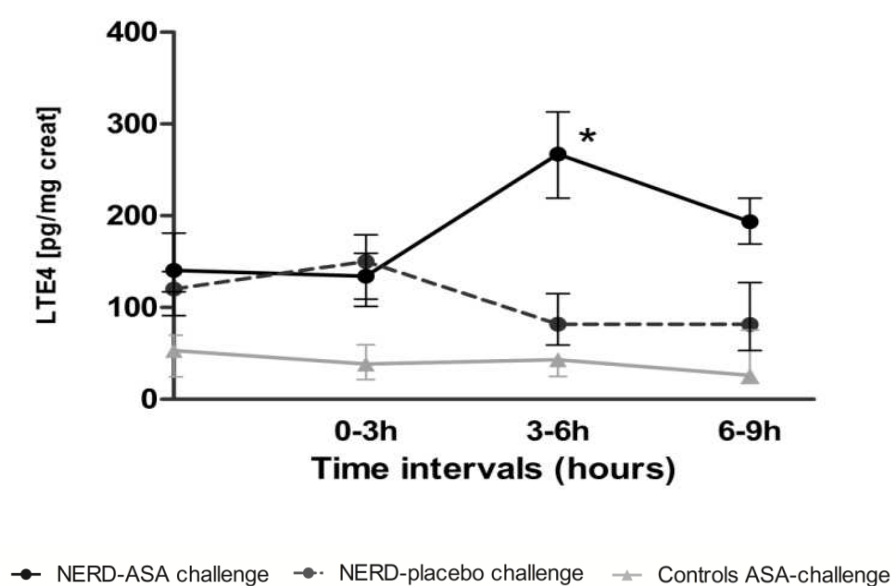


Figura 10: Valores de LTE₄ liberados por los pacientes NERD y los controles sanos, durante la provocación nasal. * $p<0.05$. Las barras de error representan el valor más alto y más bajo del cuartil en función de los valores de mediana.

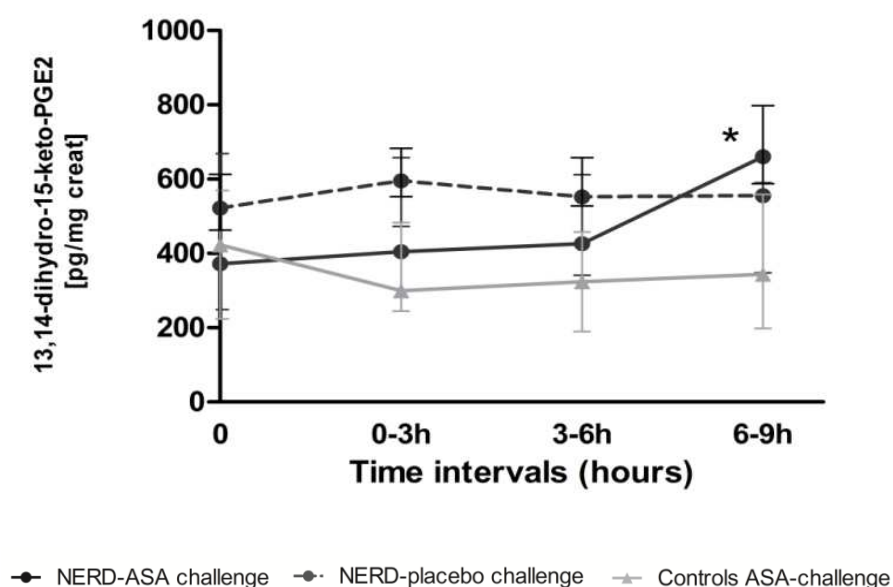


Figura 11: Valores de 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂ liberados por los pacientes NERD y los controles sanos, durante la provocación nasal. * $p < 0.05$. Las barras de error representan el valor más alto y más bajo del cuartil en función de los valores de mediana.

Tras la provocación oral, los pacientes NIUA respondieron con un incremento estadísticamente significativo en orina de 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGE₂ (632.9 [490.2-780.0]; $p = 0.015$) en el intervalo de 0-3 horas y un descenso estadísticamente significativo del isoprostano iPF_{2 α} -VI (305.9 [205.8-441.1]; $p = 0.038$) en el intervalo de 3-6 horas, mientras que los controles no mostraron ningún cambio (Figura 12 y 13).

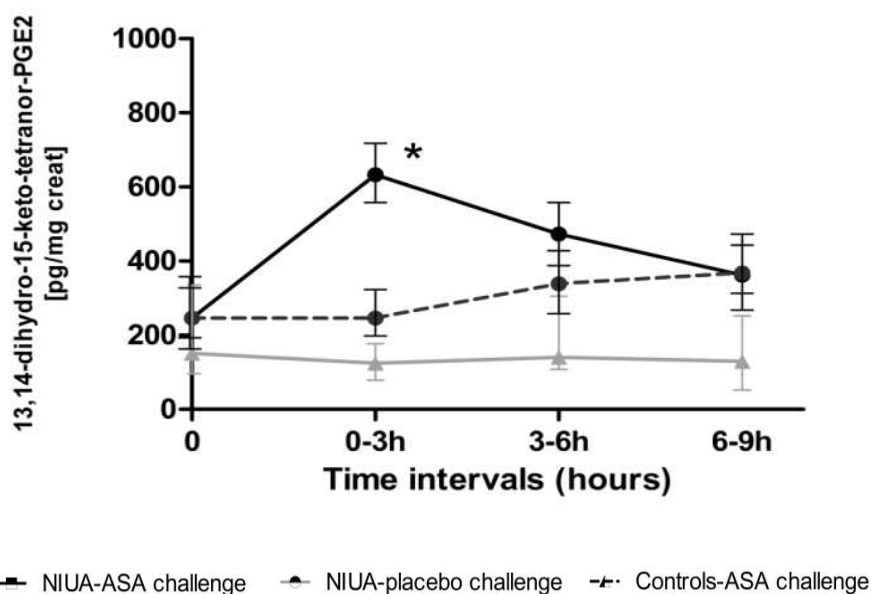


Figura 12: Valores de 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGE₂ liberados por los pacientes NIUA y los controles sanos, durante la provocación oral. * $p < 0.05$. Las barras de error representan el valor más alto y más bajo del cuartil en función de los valores de mediana.

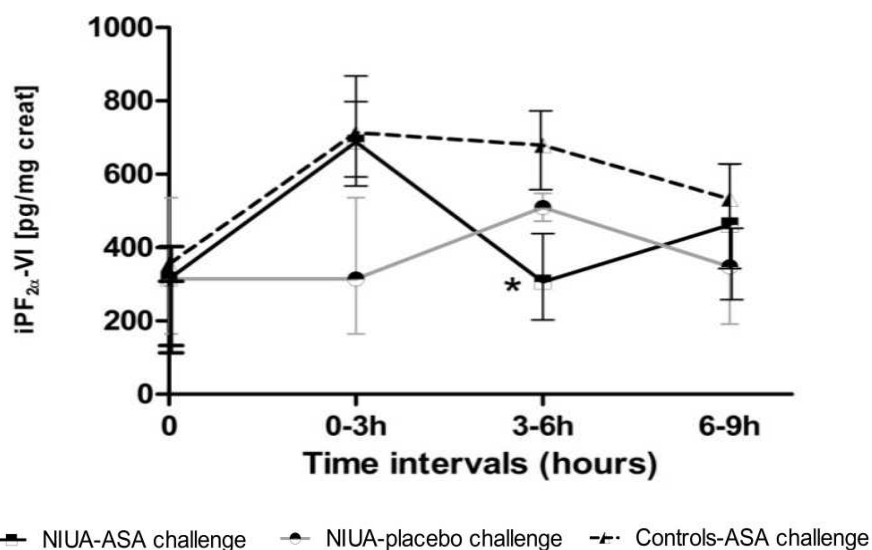


Figura 13: Valores de isoprostano $iPF_{2\alpha-VI}$ liberados por los pacientes NIUA y los controles sanos, durante la provocación oral. * $p < 0.05$. Las barras de error representan el valor más alto y más bajo del cuartil en función de los valores de mediana.

Análisis de asociación entre pacientes NERD y una serie de SNP y CNV de genes implicados en la vía del ácido araquidónico.

Concretamente, el objetivo de este trabajo fue investigar la asociación de varios SNP y CNV en genes relacionados con la vía del AA en una amplia población de pacientes NERD españoles. Este estudio nos ayudará a establecer las bases genéticas de NERD y permitirá comparar y contrastar NERD con otras entidades clínicas de la hipersensibilidad a AINE como NIUA o NECD. Los resultados se detallan a continuación:

Características de la población de estudio

En este estudio se incluyeron un total de 250 pacientes NERD, 260 ATA y 315 controles sanos no relacionados. Todos ellos eran españoles y no presentaron diferencias significativas en la edad o el sexo entre los tres grupos (Tabla 19). La entidad clínica más frecuente en el grupo NERD fue el asma (57.6%) seguido por rinitis y asma (22.4%). Los AINE principalmente implicados en estas reacciones fueron los derivados del ácido propiónico (31.6%), seguidos del ASA (26.0%) y las pirazolonas (18.70%) (Tabla 19). En cuanto al estado atópico, asignado mediante los resultados de los prick

cutáneos, encontramos diferencias estadísticamente significativas entre NERD y controles (Tabla 19).

	NERD	ATA	Controles sanos	P-valor (NERD vs. Controles sanos)	P-valor (NERD vs. ATA)
Edad (media, SD)	(39.87, 17.55)	(38.15, 12.80)	(39.16, 17.74)	0.801	0.2054
Sexo (% Mujeres)	65.7	59.68	62.45	0.4903	0.2104
Historia personal previa					
Rinitis (%)	63.12	94.31	NA	NA	<0.0001
Asma (%)	67.43	100	NA	NA	<0.0001
Poliposis (%)	29.31	9.87	NA	NA	<0.0001
FEV1%	87.71	89.89	NA	NA	0.6954
AINE involucrados (%)					
Derivados de ácidos propiónicos	31.64	NA	NA	NA	NA
ASA	25.99	NA	NA	NA	NA
Metamizol	18.64	NA	NA	NA	NA
Paracetamol	4.8	NA	NA	NA	NA
Diclofenaco	6.5	NA	NA	NA	NA
Tipo de reacción tras la ingesta del AINE (%)					
Rinitis	12.73	NA	NA	NA	NA
Asma	57.58	NA	NA	NA	NA
Vías respiratorias altas	7.27	NA	NA	NA	NA
Rinitis+Asma	22.42	NA	NA	NA	NA
Atopia					
IgE total (mediana, rango) (kU/l)	82.0 (44.0-208.0)	228.0 (108.0-543.0)	27.5 (11.0-63.25)	<0.0001	<0.0001
% de prick cutáneos positivos	60.8	94.82	34.98	<0.0001	<0.0001
Phleum	5.6	3.21	6.36	0.7841	0.2832
Lolium	24	3.66	6.36	<0.0001	<0.0001
<i>Olea europea</i>	24	71.55	8.63	<0.0001	<0.0001
<i>Dermatophagoides pternyssinus</i>	20	67.43	7.27	0.0004	<0.0001
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	6.4	67.43	2.72	0.0952	<0.0001
Perro	16.8	44.03	2.72	<0.0001	<0.0001
Gato	17.6	44.49	5.00	0.0001	<0.0001

Tabla 19: Datos clínicos y demográficos de los individuos analizados en el estudio de las variantes implicadas en la vía del AA en pacientes NERD. FEV₁: volumen expirado; NA: no aplicable; ASA: ácido acetil salicílico.

Resultado del estudio de asociación entre SNP localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NERD

De los 33 SNP estudiados, 17 se encuentran en genes codificantes de enzimas implicadas en la vía del AA y 16 en genes codificantes para receptores de LT y PG. No encontramos diferencias significativas de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg para ninguno de los SNP en el grupo de los controles sanos.

Las frecuencias genotípicas se muestran en la Tabla 20. Encontramos 3 asociaciones estadísticamente significativas según un modelo genético dominante: la primera con el SNP rs3892408 (*ALOX15*)(NERD vs. ATA; $p_c=0.0011$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.0011$), la segunda con rs5789 (*PTGS1*)(NERD vs. ATA; $p_c=0.0011$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.0011$) y la tercera con rs10306135 (*PTGS1*)(NERD vs. ATA; $p_c=0.0091$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.045$).

Teniendo en cuenta el modelo alélico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los siguientes SNP: rs3892408 (*ALOX15*)(NERD vs. ATA; $p_c=0.0011$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.0011$), rs5789 (*PTGS1*) (NERD vs. ATA; $p_c=0.0011$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.0011$) y rs10306135 (*PTGS1*) (NERD vs. ATA; $p_c=0.046$; NERD vs. controles sanos; $p_c=0.046$). Además, estos 3 SNP no estaban en desequilibrio de ligamiento (LD) en esta población (rs3892408-rs5789 ($r^2= 0.003$) y rs3892408-rs10306135 ($r^2= 0.001$)).

Otros SNP, rs320995 (*CYSLTR1*), rs3810253 (*PTGER1*) y rs3810255 (*PTGER1*), mostraron distribuciones de genotipo y frecuencias alélicas estadísticamente significativas en sujetos NERD y controles sanos, pero no cuando se compararon entre NERD y ATA.

Encontramos 3 asociaciones estadísticamente significativas tras aplicar la corrección por múltiples test con FDR. Además, cuando usamos un método de corrección más conservativo, como Bonferroni, las asociaciones de rs3892408 (*ALOX15*), rs5789 (*PTGS1*) y rs10306135 (*PTGS1*), permanecieron siendo estadísticamente significativas para un modelo genético dominante. Este hecho apoya la fiabilidad de estos resultados.

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos			
			NERD	ATA	Controles sanos	p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)	
ALOX5	rs2115819	A/A	29.6	33.6	30.5	0.160	0.67 (0.37-1.19)	0.900	0.97 (0.59-1.58)	
		A/G	48.7	46.6	48.5					
		G/G	21.7	19.7	21					
		Frecuencia alélica	46	43	45.25	0.641	0.89 (0.56-1.41)	0.911	0.97 (0.62-1.50)	
	rs3780894	A/A	65.2	66.8	61.1	0.530	0.84 (0.49-1.44)	0.400	1.22 (0.77-1.94)	
		A/G	32.2	30.4	34.5					
		G/G	2.6	2.8	4.4					
		Frecuencia alélica	18.7	18	21.65	0.882	0.94 (0.53-1.68)	0.588	1.18 (0.68-2.04)	
	rs4986832	A/A	64.7	60.6	59.8	0.790	1.07 (0.63-1.81)	0.300	1.28 (0.80-2.03)	
		A/G	32.8	36	35.7					
		G/G	2.6	3.5	4.5					
		Frecuencia alélica	19	21.5	22.35	0.667	1.18 (0.67-2.09)	0.499	1.24 (0.72-2.15)	
ALOX5AP	rs1132340	A/A	90.5	87	86.5	0.390	1.42 (0.63-3.20)	0.340	1.41 (0.68-2.92)	
		A/G	9.5	12.6	13.6					
		G/G	0	0.4	0					
		Frecuencia alélica	4.8	6.7	6.8	0.644	1.37 (0.52-3.60)	0.653	1.37 (0.53-3.53)	
ALOX12	rs434473	A/A	37.2	32.1	32	0.591	1.16 (0.68-1.96)	0.250	1.26 (0.85-1.85)	
		A/G	43.5	47.3	50.5					
		G/G	19.4	20.7	17.4					
		Frecuencia alélica	41.1	44.3	42.6	0.557	1.13 (0.77-1.66)	0.849	1.05 (0.72-1.52)	
	rs1126667	A/A	37.2	32.7	32.5	0.812	1.07 (0.63-1.83)	0.300	1.23 (0.84-1.80)	
		A/G	43.5	46.9	50.2					

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos						
			NERD	ATA	Controles sanos	p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)				
ALOX15	rs3892408	G/G	19.4	20.4	17.3	0.621	1.10 (0.75-1.63)	0.850	1.04 (0.72-1.51)				
		Frecuencia alélica	41.1	43.8	42.4								
		C/C	54.4	27.8	25.9					0.0001 p_c=0.0011	3.29 (1.93-5.60)	0.0001 p_c=0.0011	3.48 (2.08-5.80)
		C/T	31.6	52.3	52.6								
		T/T	14	19.9	21.5								
Frecuencia alélica	29.8	46	47.8	0.0001 p_c=0.0011	1.83 (1.38-2.43)	0.0001 p_c=0.0011	2.00 (1.52-2.62)						
rs11568131	A/A	71.7	73.1	71.7	0.840	1.06 (0.60-1.87)	0.880	1.04 (0.63-1.71)					
	A/G	25.7	25.2	24.3									
	G/G	2.6	1.7	4									
	Frecuencia alélica	15.4	14.3	16.1					0.750	0.90 (0.48-1.67)	0.980	1.02 (0.56-1.85)	
PTGS1	rs5789	C/C	53.5	81.7	99.3	0.0001 p_c=0.0011	0.28 (0.18-0.44)	0.0001 p_c=0.0011	0.01 (0.00-0.03)				
		C/A	43	18.3	0.7								
		A/A	3.5	0	0								
		Frecuencia alélica	25	9.1	0.35					0.0001 p_c=0.0011	0.33 (0.22-0.48)	0.0001 p_c=0.0011	0.01 (0.00-0.05)
rs5794	G/G	95.7	96.1	96.7	0.740	1.25 (0.33-4.66)	0.610	0.74 (0.24-2.33)					
	G/A	4.3	3.9	3.3									
	A/A	0	0	0									
	Frecuencia alélica	2.15	1.95	1.65					0.722	0.81 (0.19-3.48)	0.699	0.69 (0.16-2.96)	
rs1236913	G/G	95.7	96.1	96.7	0.460	0.78 (0.40-1.50)	0.720	0.90 (0.50-1.61)					
	G/A	4.3	3.9	3.3									
	A/A	0	0	0									
	Frecuencia alélica	2.1	1.9	1.6					0.841	0.87 (0.40-1.89)	0.846	0.89 (0.42-1.89)	
rs10306108	T/T	93	87.8	91.4	0.066	1.90	0.662	1.21					

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos		
			NERD	ATA	Controles sanos	p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)
		T/C	7	11.7	8.3	0.257	1.78 (0.94-3.84)	0.787	1.36 (0.52-2.83)
		C/C	0	0.5	0.4				
		Frecuencia alélica	3.5	6.35	4.55				
	rs3842787	C/C	92	85.9	91.4	0.041 $p_c=0.144$	1.91 (1.01-3.60)	0.220	1.67 (0.71-3.89)
		C/T	7.1	11.3	8.6				
		T/T	0.9	2.8	0				
		Frecuencia alélica	4.4	8.4	4.3				
					0.013 $p_c=0.069$	2.12 (1.17-3.83)	0.192	1.99 (0.73-5.45)	
	rs10306135	A/A	83.5	67.7	69.4	0.0009 $p_c=0.0091$	2.19 (1.37-3.52)	0.0064 $p_c=0.045$	2.12 (1.21-3.74)
		A/T	12.2	28.9	27.3				
		T/T	4.3	3.4	3.2				
		Frecuencia alélica	10.4	17.8	16.85				
					0.0080 $p_c=0.046$	1.73 (1.15-2.59)	0.0081 $p_c=0.046$	1.65 (1.12-2.43)	
PTGS2	rs689465	T/T	65.7	69	66.4	0.370	0.77 (0.44-1.35)	0.802	0.94 (0.58-1.52)
		T/C	30.6	27.2	29.1				
		C/C	3.7	3.8	4.4				
		Frecuencia alélica	19	17.4	18.9				
					0.648	0.87 (0.48-1.58)	0.960	0.98 (0.56-1.73)	
	rs689466	T/T	69	66.1	66.9	0.861	1.05 (0.62-1.78)	0.930	1.02 (0.63-1.65)
		T/C	29.3	30.5	30.5				
		C/C	1.7	3.4	2.6				
		Frecuencia alélica	16.3	18.6	17.8				
					0.876	0.96 (0.52-1.77)	0.771	1.12 (0.63-2.01)	
CYSLTR1	rs320995	A/A	59.1	68.8	74.4	0.110	0.66 (0.39-1.10)	0.0039 $p_c=0.030$	0.50 (0.31-0.80)
		A/G	31.3	21.6	16.9				
		G/G	9.6	9.5	8.8				
		Frecuencia alélica	25.2	20.3	17.2				
					0.335	0.76 (0.45-1.29)	0.0135 $p_c=0.069$	0.66 (0.48-0.91)	

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos		
			NERD	ATA	Controles sanos	p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)
	rs2806489	T/T	60.2	57.5	64.9	0.552	1.39 (0.47-4.08)	0.491	0.85 (0.53-1.35)
		T/C	30.1	25	22.9				
		C/C	9.7	17.5	12.2				
		Frecuencia alélica	24.7	30	23.6	0.795	0.94 (0.56-1.56)	0.800	0.93 (0.57-1.53)
CYSLTR2	rs912278	A/A	26.1	29.9	28.8	0.571	0.85 (0.48-1.49)	0.610	0.88 (0.53-1.45)
		A/G	56.5	50.4	50.5				
		G/G	17.4	19.7	20.7				
		Frecuencia alélica	45.6	44.9	45.9	0.909	0.95 (0.61-1.49)	0.980	1.00 (0.65-1.55)
LTC4S	rs730012	A/A	46.1	51.9	59	0.173	0.71 (0.43-1.17)	0.025 $p_c=0.107$	0.60 (0.38-0.94)
		A/C	43.5	41.5	36.3				
		C/C	10.4	6.6	4.8				
		Frecuencia alélica	32.1	27.3	22.9	0.382	0.79 (0.49-1.29)	0.0156 $p_c=0.080$	0.69 (0.52-0.93)
PTDGR	rs8004654	C/C	35.6	28.3	23.8	0.681	1.15 (0.59-2.25)	0.021	1.77 (1.09-2.88)
		C/T	44.4	55.7	54.2				
		T/T	20	16	22				
		Frecuencia alélica	42.2	43.8	49.1	0.909	1.05 (0.67-1.65)	0.266	1.30 (0.84-2.01)
	rs34236606	C/C	87.9	84.8	85.9	0.510	1.29 (0.60-2.75)	0.680	1.15 (0.59-2.25)
		C/T	12.1	15.2	13.7				
		T/T	0	0	0.4				
		Frecuencia alélica	6.05	7.6	7.25	0.659	1.32 (0.53-3.29)	0.828	1.25 (0.51-3.03)
PTGER1	rs3810253	A/A	60.9	67.2	74.5	0.642	0.88 (0.52-1.49)	0.0038 $p_c=0.030$	0.49 (0.28-0.74)
		A/C	37.4	29.3	22.9				
		C/C	1.7	3.5	2.6				

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos			
			NERD	ATA	Controles sanos	p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)	
		Frecuencia alélica	20.4	18.1	16	0.565	0.85 (0.49-1.49)	0.0012 p_c=0.011	0.57 (0.41-0.80)	
	rs3810255	C/C	77.4	77.2	86	0.831	0.94 (0.52-1.70)	0.050	0.56 (0.32-0.99)	
		C/T	22.6	22.4	13.6					
		T/T	0	0.4	0.4					
		Frecuencia alélica	11.3	11.6	7.2	0.960	1.05 (0.52-2.11)	0.0009 p_c=0.010	0.48 (0.31-0.73)	
PTGER2	rs17197	A/A	79.3	76.7	73.9	0.840	1.06 (0.58-1.94)	0.215	1.41 (0.82-2.41)	
		A/G	19.8	22.5	25					
		G/G	0.9	0.8	1.1					
		Frecuencia alélica	14.4	12	13.6	0.863	1.09 (0.54-2.18)	0.620	1.25 (0.64-2.45)	
	rs1254598	A/A	70.7	67.1	65.1	0.027 <i>p_c=0.103</i>	0.10 (0.01-0.94)	0.271	1.31 (0.81-2.12)	
		A/G	26.7	32.5	31.6					
		G/G	2.6	0.4	3.3					
		Frecuencia alélica	15.9	16.6	19.1	0.980	1.04 (0.57-1.89)	0.569	1.21 (0.68-2.15)	
	rs1353411	G/G	71.3	66.5	66	0.760	1.09 (0.63-1.87)	0.300	1.29 (0.79-2.10)	
		G/A	22.6	30.1	30.6					
		A/A	6.1	3.4	3.3					
		Frecuencia alélica	17.4	18.4	18.6	0.883	1.09 (0.61-1.95)	0.776	1.10 (0.62-1.95)	
	rs2075797	C/C	81.7	79.1	75.3	0.640	1.16 (0.62-2.20)	0.151	1.49 (0.85-2.61)	
		C/G	16.5	20.1	23.6					
		G/G	1.7	0.8	1.1					
		Frecuencia alélica	9.9	10.8	12.9	0.978	1.05 (0.51-2.16)	0.610	1.27 (0.63-2.55)	
PTGER3	rs959	T/T	68.7	70.8	62.7	0.940	0.98 (0.55-1.73)	0.210	1.35 (0.84-2.18)	
		C/T	28.7	24.1	35.1					

Gen	SNP	Genotipo	NERD vs. ATA				NERD vs. Controles sanos		
			NERD	ATA	Controles sanos	<i>p</i> -valor	OR (CI 95%)	<i>p</i> -valor	OR (CI 95%)
PTGER4	rs4495224	C/C	2.6	5	2.2	0.980	0.98 (0.53-1.80)	0.671	1.18 (0.67-2.08)
		Frecuencia alélica	16.9	17	19.7				
	rs7720838	A/A	36.8	41	46.5	0.400	0.80 (0.48-1.35)	0.067	0.65 (0.41-1.03)
		A/C	50	47.3	45.4				
		C/C	13.2	11.7	8.1				
		Frecuencia alélica	38.2	35.3	30.8				
	rs45613037	T/T	27.2	27.9	32.7	0.610	0.86 (0.48-1.52)	0.230	0.74 (0.45-1.21)
		T/G	47.4	51.4	47.4				
		G/G	25.4	20.7	19.9				
		Frecuencia alélica	49	46	43.6				
rs3753380	G/G	26.1	22.6	22.4	0.008 <i>p_c</i>=0.046	2.41 (1.22-4.76)	0.410	1.24 (0.74-2.09)	
	G/A	56.5	50.2	50.7					
	A/A	17.4	27.1	26.8					
	Frecuencia alélica	45.6	52.2	52					
PTGFR	rs3753380	C/C	44.4	57.6	52.9	0.015 <i>p_c</i> =0.071	0.63 (0.43-0.92)	0.020 <i>p_c</i> =0.09	0.58 (0.37-0.92)
		C/T	47	34.9	36.4				
		T/T	8.7	7.5	10.7				
		Frecuencia alélica	32.2	25	28.9				
					0.024 <i>p_c</i> =0.099	0.71 (0.53-0.95)	0.546	0.86 (0.54-1.38)	

Tabla 20: Genotipo y MAF de los SNP en la vía del AA. La frecuencia alélica representa la frecuencia alélica menor para cada SNP. OR: odd ratios; CI 95%: intervalo de confianza al 95%; NS: no significativo; *p_c*: *p*-valor corregido.

En la tabla 21 se han presentado los resultados haplotípicos de los SNP que hemos estudiado para cada gen que ha mostrado asociación antes de la corrección estadística. Tras la corrección por Bonferroni, *ALOX15* presentó diferencias estadísticamente significativas entre NERD y los grupos ATA y control sano ($p_c=0.004$ y $p_c=0.010$, respectivamente).

Gen	Haplotipo	Genotipo	NERD vs. ATA			NERD vs. controles sanos			
			NERD	ATA	Controles sanos	<i>p</i> -valor	OR (CI 95%)	<i>p</i> -valor	OR (CI 95%)
<i>ALOX15</i>	rs3892408 rs11568131	ht 1 [T-G]	0.27	0.39	0.39	0.0003 <i>p_c</i>=0.004	2.31 (1.48-3.60)	0.0012 <i>p_c</i> = 0.010	1.93 (1.30-2.86)
		ht 2 [T-A]	0.04	0.07	0.09	0.056	1.67 (0.64-4.38)	0.0190 <i>p_c</i> = 0.075	2.54 (1.17-5.51)
<i>CYSLTR1</i>	rs320995 rs2806489	ht 1 [G-T]	0.03	0.02	0.003	0.16	0.34 (0.07-1.53)	0.014 <i>p_c</i> = 0.062	0.13 (0.03-0.66)
<i>PTGER1</i>	rs3810253 rs3810255	ht 1 [C-C]	0.11	0.1	0.07	0.37	0.75 (0.39-1.42)	0.006 <i>p_c</i> = 0.041	0.47 (0.27-0.81)
<i>PTGER4</i>	rs4495224 rs7720838 rs45613037	ht 1 [A-T-A]	0.177	0.226	0.287	0.014 <i>p_c</i> =0.061	2.37 (1.19-4.71)	0.0096 <i>p_c</i> = 0.05	2.18 (1.21-3.93)

Tabla 21: Frecuencias haplotípicas de los genes de la vía del AA que se han asociado con NERD, antes de la corrección por Bonferroni.

Resultado del estudio de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NERD

A continuación, analizamos la asociación de los CNV en *PTGS1*, *PTGS2*, *LTC4S*, *ALOX5* y *PTGER1-4* con NERD (Tabla 22). Todos los sujetos control presentaron 2 copias de cada uno de los genes analizados. En cuanto a los pacientes NERD, se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos para *ALOX5*: NERD vs. ATA ($p=0.010$), NERD vs. controles sanos ($p=0.0001$). Además, también se encontraron 3 individuos NERD con una sola copia del gen *LTC4S*, aunque estas diferencias no fueron significativas, con respecto al grupo control.

Gen	Nº copias	NERD	ATA	Controles sanos	NERD vs. ATA		NERD vs. controles sanos	
					p-valor	OR (CI 95%)	p-valor	OR (CI 95%)
<i>PTGS1</i>	2 Copias	250	260	315	NS		NS	
	1 Copia	0	0	0				
<i>PTGS2</i>	2 Copias	250	260	315	NS		NS	
	1 Copia	0	0	0				
<i>LTC4S</i>	2 Copias	247	258	315	NS		NS	
	1 Copia	3	2	0				
<i>ALOX5</i>	2 Copias	239	258	315	0.010	0.17 (0.0-0.8)	0.0001	0.03 (0.0-0.5)
	1 Copia	11	2	0				
<i>PTGER1</i>	2 Copias	250	257	315	NS		NS	
	1 Copia	0	3	0				
<i>PTGER2</i>	2 Copias	250	260	315	NS		NS	
	1 Copia	0	0	0				
<i>PTGER3</i>	2 Copias	250	260	315	NS		NS	
	1 Copia	0	0	0				
<i>PTGER4</i>	2 Copias	250	260	315	NS		NS	
	1 Copia	0	0	0				

Tabla 22: CNV en los genes *PTGS1*, *PTGS2*, *LTC4S*, *ALOX5* y *PTGER1-4* en NERD, ATA y controles sanos.

Análisis de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NIUA.

En nuestro grupo ya había sido estudiado la asociación entre SNP de la vía del AA y NIUA [141], encontrando varias asociaciones estadísticamente significativas en *ALOX15* (rs7220870), *PTGDR* (rs8004654) y *CYSLTR1* (rs320095). De tal modo que, en este trabajo, quisimos determinar si la presencia de CNV en algunos de los principales genes de la vía del AA se asociaba con NIUA, al igual que ocurría con los pacientes NERD. A continuación se detallan los resultados obtenidos:

Características de los individuos analizados

En este trabajo, se incluyeron inicialmente un total de 304 controles sanos y 299 casos NIUA. Tras los controles de calidad, fueron descartados 23 individuos de la fase de descubrimiento dejando un total de 151 casos y 139 controles. Dos individuos fueron descartados en la fase de replicación quedando 148 casos y 140 controles. Las características clínicas de los individuos se presentan en la Tabla 23. No encontramos diferencias en la media de edad entre los casos y los controles de la fase 1 ($p = 0.637$); sin embargo, en la fase 2, la media de edad de los controles fue superior ($p = 0.002$). Tampoco encontramos diferencias en cuanto al género entre los grupos de casos y controles en ninguna de las fases ($p = 0.220$, $p = 0.801$ para la fase 1 y 2, respectivamente).

Con respecto a la atopía, esta fue más frecuente en pacientes NIUA que en los controles en ambas fases ($p < 0.0001$ y 0.006 , respectivamente), siendo el *Dermatophagoides pteronyssinus* el alérgeno más frecuentemente involucrado (>35% de los pacientes NIUA).

	Control Ph1 (N=139)	NIUA Ph1 (N=151)	P-valor Ph1 vs. control	Control Ph2 (N=140)	NIUA Ph2 (N=148)	P-valor Ph2 vs. control	P-valor NIUA Ph1 vs. NIUA Ph2
Edad (media, \pm SD)	40 \pm 15	38 \pm 18	0.637	45 \pm 14	34 \pm 19	0.002	0.315
Género (% Mujeres)	65%	58%	0.220	59%	57%	0.801	0.930
Número de episodios (media, \pm SD)	0.0%	3.02 \pm 2.56	NA	0.0%	3.77 \pm 2.46	NA	0.011
Atopia							
% de prick cutáneos positivos	37.4%	64.8%	<0.0001	31.9%	55.8%	0.006	0.306
Fleum	5.8%	22.2%	0.001	8.2%	28.6%	0.002	0.417
Lolium	5.8%	22.2%	0.001	8.2%	28.6%	0.002	0.417
Cupressus	1.9%	8.3%	0.036	1.0%	7.1%	0.048	0.813
Platanus	0.0%	3.7%	NA	2.0%	7.1%	0.139	0.375
Olea	9.6%	26.8%	0.001	7.1%	26.2%	0.002	0.937
Chenopodium	3.8%	11.1%	0.046	1.0%	16.7%	0.0003	0.362
Plantago	1.0%	3.7%	0.191	2.0%	7.1%	0.139	0.375
Artemisia	0.0%	5.6%	NA	2.0%	7.1%	0.139	0.718
Parietaria	9.6%	1.9%	0.588	2.0%	0.0%	NA	NA
Salsola	1.9%	6.5%	0.101	3.1%	2.4%	0.832	0.320
DP	8.6%	38.0%	<0.0001	6.1%	35.7%	<0.0001	0.801
LD	1.0%	13.0%	0.001	4.1%	2.4%	0.626	0.054
Alternaria	19.2%	5.6%	0.167	0.0%	9.5%	NA	0.386
Aspergillus	1.0%	0.0%	NA	0.0%	2.4%	NA	NA
Perro	1.9%	6.5%	0.101	3.1%	16.7%	0.004	0.056
Gato	3.8%	11.1%	0.046	6.1%	14.3%	0.116	0.595

Tabla 23: Datos demográficos y clínicos de los pacientes NIUA y los individuos tolerantes a los AINE (controles sanos), en función a las dos fases del estudio de las CNV. Ph1: fase de descubrimiento o fase 1; Ph2: fase de replicación o fase 2; DP: *Dermatophagoides pteronyssinus*; LD: *Lepidoglyphus destructor*; NA: no aplicable.

Los medicamentos implicados en las reacciones se muestran en la tabla 24. Los derivados del ácido propiónico estuvieron presentes en el 33.2% de los casos, seguidos por los salicilatos responsables del 30.6% de las reacciones.

Medicamentos involucrados	NIUA (Ph1 y Ph2) (% de respuesta positiva)
Salicilatos	
ASA	30.6
Derivados del ácido acético	
Indometacina	0.8
Diclofenaco	9.0
Aceclofenaco	0.2
Derivados del ácido propiónico	
Ibuprofeno	25.9
Naproxeno	2.4
Dexketoprofeno	3.0
Ketorolaco	0.9
Ketoprofeno	0.8
Piketoprofeno	0.2
Derivados de pirazolidina	
Metamizol	14.4
Propifenazona	0.2
Aminofenazona	0.2
Derivados del ácido enólico	
Piroxicam	1.1
Lornoxicam	0.4
Inhibidores selectivos de la COX-2	
Etoricoxib	0.2
Celecoxib	0.2
Paracetamol	7.1
AINE que no recuerda	2.3

Tabla 24: AINE involucrados en las reacciones NIUA expresado en porcentaje. Ph1: fase 1; Ph2: fase 2.

Resultados del estudio de asociación

Todas las variantes mostraron una tasa de completado (CR) superior al 80% tanto en la fase 1 como en la 2 (Tabla 25) y estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los genes *LTC4S*, *PTGS1*, *PTGS2* y *PTGER2* no presentaron diferencias en los CNV ni en la fase de descubrimiento ni en la de replicación (Tabla 25); por ello no fueron usados para el meta-análisis. Todos los individuos que presentaron una CR inferior al 80% fueron descartados de los análisis.

En la fase 1, todos los controles sanos mostraron 2 copias en los genes *ALOX5* y *PTGER1*, mientras que 6 pacientes NIUA presentaron una sola copia en *ALOX5* y 9

pacientes en *PTGER1*. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas para *ALOX5* (NIUA vs. controles sanos $p=0.031$) y *PTGER1* (NIUA vs. controles sanos $p=0.003$). En la fase 2 obtuvimos datos similares. En esta fase, todos los controles sanos mostraron 2 copias; sin embargo, sólo cuatro pacientes presentaron una sola copia en *ALOX5* ($p=0.123$). Diez pacientes presentaron una pérdida de copia en *PTGER1* ($p=0.002$) (Tabla 26). En los genes *PTGER3* y *PTGER4*, un individuo control presentó una sola copia en la fase 1. Mientras que en la fase 2, todos los individuos presentaron dos copias. En estos dos genes, ninguno de los pacientes NIUA presentó CNV (Tabla 26).

Con el objetivo de ampliar el estudio, se llevó a cabo un meta-análisis de los CNV en los genes que presentaron diferencias estadísticamente significativas durante la fase 1 y/o 2. El meta-análisis es una técnica estadística que permite analizar los resultados de una colección de estudios que han sido realizados de forma independiente, obteniéndose un único resultado final. Los resultados obtenidos en nuestro estudio se muestran en la tabla 26. La frecuencia de encontrar una deleción en los pacientes NIUA para el gen *ALOX5* fue del 3.5%, mientras que para el gen *PTGER1* fue del 6.8%.

Gen	Localización	CR Ph1	Número de controles (1 copia/2 copias)	Número de casos NIUA Ph1 (1 copia/2 copias)	HWE en controles Ph1	CR Ph2	Número de controles (1 copia/2 copias)	Número de casos NIUA Ph2 (1 copia/2 copias)	HWE en controles Ph2
<i>ALOX5</i>	Chr.10:45869784	95.7	0/137	6/145	1.000	93.4	0/140	4/141	1.000
<i>LTC4S</i>	Chr.5:179223506	93.7	0/131	0/151	1.000	93.4	0/137	0/148	1.000
<i>PTGS1</i>	Chr.9:125140787	95.4	0/138	0/149	1.000	94.8	0/142	0/147	1.000
<i>PTGS2</i>	Chr.1:186643625	96.4	0/139	0/151	1.000	95.1	0/142	0/148	1.000
<i>PTGER1</i>	Chr.19:14583518	98.3	0/145	9/142	1.000	94.8	0/141	10/138	1.000
<i>PTGER2</i>	Chr.14:52795170	96.4	0/139	0/151	1.000	95.1	0/142	0/148	1.000
<i>PTGER3</i>	Chr.1:71512519	99.7	1/148	0/151	0.313	99.3	0/156	0/147	1.000
<i>PTGER4</i>	Chr.5:40692294	100.0	1/149	0/151	0.315	99.0	0/154	0/148	1.000

Tabla 25: Información de los genes estudiados, controles de calidad y resultados del genotipado de las CNV en pacientes NIUA y controles sanos. CR: tasa de completado (%); Ph1: fase 1; Ph2: fase 2.

Gen	Número de controles (1 copia/2 copias) Ph1	Número de casos NIUA (1 copia/2 copias) Ph1	P-valor del test exacto de Fisher Ph1	Número de controles (1 copia/2 copias) Ph2	Número de casos NIUA (1 copia/2 copias) Ph2	P-valor del test exacto de Fisher Ph2	P-valor del test de Mantel-Haenszel
<i>ALOX5</i>	0/137	6/145	0.031	0/140	4/141	0.123	0.002 $p_c=0.017$
<i>PTGER1</i>	0/145	9/142	0.003	0/141	10/138	0.002	1.52E-05 $p_c=1.22E-04$
<i>PTGER3</i>	1/148	0/151	0.497	0/156	0/147	1.000	*
<i>PTGER4</i>	1/149	0/151	0.498	0/154	0/148	1.000	*

Tabla 26: Resultados de asociación de los genes que presentan CNV y NIUA, en función de las diferentes fases y del meta-análisis. Los resultados se muestran para los genes que presentaron CNV en al menos uno de los grupos estudiados. Ph1: fase 1; Ph2: fase 2. El meta-análisis se llevó a cabo usando un test de Mantel-Haenszel.

A continuación, se realizó un análisis integral (Tabla 27) con el objetivo de analizar si los pacientes con una sola copia en uno de los genes *ALOX5* o *PTGER1* presentaban también una sola copia para el otro gen. Para ello se comparó el número de individuos NIUA que presentaron: (A) 1 copia para *PTGER1* o para *ALOX5*, y (B) 1 copia tanto para *PTGER1* como para *ALOX5*. Encontramos que el 5.74% de los pacientes presentaba una sola copia para alguno de los genes *ALOX5* o *PTGER1*, y que el 2.03% de los pacientes presentó una sola copia en ambos genes a la vez. En estos pacientes, se determinó que el hecho de presentar una sola copia en un gen, se asociaba con el hecho de presentar otra copia en otro gen aunque estas diferencias no eran estadísticamente significativas debido al bajo r^2 ($p=0.010$ y $r^2=0.273$)(Tabla 27).

	NIUA	p-valor / r^2
Individuos con una copia en uno de los genes	17 (5.74%)	0.010/0.273
Individuos con una copia en los dos genes a la vez	6 (2.03%)	

Tabla 27: Relación entre la pérdida de una copia en *ALOX5* y *PTGER1* y NIUA.

Por último, debido a la alta prevalencia de atopía en los pacientes con NIUA, decidimos comprobar si las diferencias encontradas anteriormente estaban asociadas con NIUA o con la atopía. Como resultado del análisis, no se encontró relación entre la atopía y la pérdida de copias en *PTGER1* ($p=0.121$), *ALOX5* ($p=0.661$), o alguno de los demás genes investigados aquí (Tabla 28).

Gen	% pacientes con SPT+ y 1 copia	% pacientes SPT- y 1 copia	p-valor
<i>ALOX5</i>	0,74	0,49	0,661
<i>PTGER1</i>	2,06	0,77	0,121
<i>PTGER3</i>	0.00	0,24	1.000
<i>PTGER4</i>	0,24	0.00	0,454

Tabla 28: Resultados de asociación entre la presencia de una pérdida de copia en el gen y la atopía. Sólo se muestran los resultados de los genes que presentaron CNV.

Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA.

Considerando que: a) los mastocitos tienen un papel central en las reacciones NIUA [28], b) la elevada prevalencia de atopia en los pacientes NIUA [3,211], c) los mastocitos pueden ser activados tanto por un mecanismo dependiente de IgE como independiente de IgE que muestran vías de señalización con elementos comunes [144] y d) la unión de IgE a su receptor de alta afinidad puede contribuir a la activación del mastocito incluso en ausencia del antígeno [212]. Nuestro objetivo fue analizar la asociación entre NIUA y SNP en los siguientes genes: 1) *PLA2G4A*, que codifica una enzima que cataliza la liberación de AA que es subsecuentemente metabolizado para transformarse en eicosanoides, 2) la isoforma *PLCG1*, que codifica una enzima que cataliza la formación de mensajeros intracelulares necesarios para la activación del mastocito, 3) *LAT*, un coordinador central de los eventos necesarios para la activación del mastocito, 4) *SYK*, que codifica para una tirosín-quinasa y cuya activación es necesaria para la activación del mastocito 5) *TNFRS11A*, que codifica para un receptor que induce la activación de NF- κ B la cual está asociada con una menor expresión de RNA mensajero de *PTGS2* en pólipos nasales de pacientes NERD [113,144]. Los resultados fueron los siguientes:

Características de la población de estudio

El estudio incluyó un total de 950 individuos, 450 pacientes NIUA españoles y 500 controles sanos. No se encontraron diferencias en edad y sexo entre los grupos ($p=0.132$ y $p=0.552$, respectivamente) (Tabla 29). Los síntomas clínicos más frecuentes fueron urticaria (48.8%), seguido de urticaria y angioedema (26.0%), y angioedema (24.8%). Los medicamentos más frecuentemente implicados fueron los derivados de ácidos propiónicos (37.92%), seguidos por ASA (16.66%) y pirazolonas (14.55%) (Tabla 29). En cuanto al estado atópico, encontramos diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de prick cutáneos positivos a aeroalérgenos comunes, más específicamente el 64.32% de los pacientes NIUA pacientes fueron positivos, comparado con los controles (43.83%), siendo el *Dermatophagoides pteronyssinus* el alérgeno involucrado más relevante (Tabla 29).

	Controles sanos (N=500)	NIUA (N=450)	p-valor
Edad (Media,SD)	35.15; 15.08	36.61; 15.48	0.142
Sexo (%Mujeres)	60.14	58.29	0.673
Historia personal			
Rinitis (%)	19.84	18.01	0.583
Asma (%)	3.13	9.00	0.002
Poliposis (%)	0.26	0.00	0.696
Urticaria	5.74	9.90	0.057
Alergia alimentaria	1.82	7.20	0.001
Medicamento implicado (%)			
Derivados de ácidos propiónicos	NA	37.92	
ASA	NA	16.66	
Pirazonas	NA	14.55	
Paracetamol	NA	7.13	
Diclofenaco	NA	7.86	
Tipo de reacción (%)			
Urticaria	NA	48.80	
Angioedema	NA	26.00	
urticaria+angioedema	NA	24.80	
Atopia			
% prick cutáneos positivos	43.83	64.32	<0.0001
Fleum	10.57	22.94	0.0002
Lolium	13.89	22.94	0.0106
<i>Olea europea</i>	16.31	26.47	0.0068
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	22.05	38.82	<0.0001
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	6.94	11.17	0.1063
Perro	6.34	8.82	0.3099
Gato	10.27	11.76	0.6108

Tabla 29: Características clínicas y demográficas de los sujetos (NIUA y controles sanos) incluidos en el estudio de los genes implicados en la activación del mastocito. NA: no aplicable.

Resultados del estudio de asociación

Analizamos 9 SNP en cinco genes involucrados en la activación del mastocito (Tabla 9). No encontramos diferencias estadísticamente significativas del equilibrio de Hardy-Weinberg para los SNP analizados; ni en el grupo de los NIUA ni en el de los controles sanos.

Aunque algunos SNP mostraron ser más comunes en los pacientes NIUA, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, cuando los pacientes fueron clasificados de acuerdo con su entidad clínica, identificamos algunas

asociaciones estadísticamente significativas: Según el modelo alélico, el SNP rs12746200 (*PLA2G4A*) se asocia con la urticaria ($p_c=0.005$) (Tabla 30). Según el modelo dominante, el SNP rs2228246 (*PLCG1*), se asocia con el angiodema ($p_c=0.044$)(Tabla 31) y el SNP rs1805034 (*TNFRS11A*) con la urticaria+angiodema ($p_c=0.041$)(Tabla 33).

PLA2G4A	Pacientes	Subgrupos de pacientes	Frecuencia genotípica			p-valor	OR (95% CI)	Frecuencia alélica		p-valor	OR (95% CI)
			A/A	A/G	G/G			A	G		
rs2307198			A/A	A/G	G/G			A	G		
	NIUA		97	3	0	0.13	1.96 (0.78-4.94)	98.5	1.5	0.412	1.85 (0.51-6.62)
		Urticaria	95.5	4.5	0	0.7	1.24 (0.41-3.69)	97.7	2.3	0.536	1.40 (0.57-3.44)
		Angioedema	98.2	1.8	0	0.142	3.53 (0.46-2.89)	99.1	0.9	0.412	2.07 (0.49-8.84)
		Urticaria + Angioedema	98.2	1.8	0	0.161	3.37 (0.44-5.60)	99.1	0.9	0.605	1.55 (0.46-5.20)
	Controles		94.8	5.2	0	Ref		97.4	2.6	Ref	
rs12746200			A/A	A/G	G/G			A	G		
	NIUA		77	22	1	0.35	0.82 (0.55-1.24)	88	12	0.591	0.85 (0.51-1.42)
		Urticaria	70	27.8	2.2	0.038 $p_c=0.054$	0.57 (0.34-0.96)	83.9	16.1	0.0005 $p_c=0.005$	0.36 (0.21-0.62)
		Angioedema	84.2	15.8	0	0.551	1.26 (0.59-2.68)	92.1	7.9	0.893	1.06(0.62-1.82)
		Urticaria + Angioedema	80.7	19.3	0	0.54	0.93 (0.46-1.89)	90.3	9.7	0.82	0.96 (0.39-2.36)
	Controles		80.2	18.4	1.4	Ref		89.4	10.6	Ref	
rs12749354			T/T	T/C	C/C			T	C		
	NIUA		66.3	31.2	2.5	0.91	0.98 (0.69-1.40)	82.2	17.8	0.49	0.92(0.72-1.17)
		Urticaria	64	32.6	3.4	0.61	0.88(0.55-1.42)	80.3	19.7	0.423	0.87(0.64-1.19)
		Angioedema	66.1	32.1	1.8	0.77	0.91 (0.50-1.66)	82.2	17.8	0.746	0.93 (0.61-1.40)
		Urticaria + Angioedema	70.2	28.1	1.8	0.671	1.14 (0.62-2.08)	84.2	15.8	0.854	1.19 (0.56-2.52)
	Controles		66.5	30.6	2.9	Ref		81.8	18.2	Ref	

Tabla 30: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de PLA2G4A en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo. $p_c=p$ -valor corregido por FDR.

PLCG1	Pacientes	Subgrupos de pacientes	Frecuencia genotípica			p-valor	OR (95% CI)	Frecuencia alélica		p-valor	OR (95% CI)
			C/C	C/T	T/T			C	T		
rs753381			C/C	C/T	T/T			C	T		
		NIUA	33	48.8	18.2	0.94	1.01 (0.71-1.45)	57.7	42.3	0.768	1.03 (0.85-1.25)
		Urticaria	36	41.6	22.5	0.54	1.16 (0.72-1.88)	56.7	43.3	0.75	
		Angioedema	21.1	61.4	17.5	0.067	0.54 (0.28-1.07)	51.7	48.3	0.574	0.82 (0.48-1.43)
		Urticaria + Angioedema	40.4	47.4	12.3	0.182	1.70 (0.74-3.90)	64	36	0.325	1.36 (0.77-2.39)
	Controles		32.4	48.3	19.3	Ref		56.5	43.5	Ref	
rs2228246			A/A	A/G	G/G			A	G		
		NIUA	70	24.6	5.4	0.5	0.76 (0.35-1.67)	82.3	17.7	0.822	0.94 (0.61-1.46)
		Urticaria	61.8	32.6	5.6	0.14	0.69 (0.43-1.12)	78.1	21.9	0.285	0.84 (0.61-1.15)
		Angioedema	84.2	14	1.8	0.023 $p_c = 0.044$	2.24 (1.06-4.73)	91.2	8.8	0.128	2.11 (0.81-5.46)
		Urticaria + Angioedema	68.4	22.8	8.8	0.151	0.44 (0.16-1.25)	79.8	20.2	0.464	0.781 (0.39-1.55)
	Controles		70.3	25.6	4	Ref		83.2	16.8	Ref	

Tabla 31: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *PLCG1* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo. $p_c = p$ -valor corregido por FDR.

Pacientes	Subgrupos de pacientes	Frecuencia genotípica			p -valor	OR (95% CI)	Frecuencia alélica		p -valor	OR (95% CI)
		A/A	A/C	C/C			A	C		
<i>LAT</i> rs7140										
	NIUA	55.7	36.8	7.5	0.93	1.01 (0.72-1.43)	74.1	25.9	0.702	1.05 (0.84-1.30)
	Urticaria	50	40.9	9.1	0.32	0.79 (0.50-1.26)	70.5	29.5	0.835	0.97 (0.74-1.27)
	Angioedema	61.4	31.6	7	0.42	1.27 (0.1-2.24)	77.2	22.8	0.783	1.07 (0.74-1.53)
	Urticaria + Angioedema	58.9	35.7	5.4	0.43	1.59 (0.47-5.35)	76.7	23.3	0.33	1.22 (0.85-1.74)
	Controles	54.2	37.3	8.5	Ref		72.8	27.2	Ref	
<i>SYK</i> rs290986										
	NIUA	60.9	34.6	4.5	0.52	0.89 (0.63-1.26)	78.2	21.8	0.614	1.12 (0.75-1.67)
	Urticaria	60.7	36	3.4	0.59	0.88 (0.55-1.41)	78.6	21.4	0.68	0.90 (0.53-1.54)
	Angioedema	68.4	28.1	3.5	0.43	1.27 (0.70-2.32)	82.4	17.6	0.864	1.15 (0.57-2.32)
	Urticaria + Angioedema	53.6	39.6	7.1	0.131	0.65 (0.37-1.13)	73.1	26.9	0.218	0.66 (0.35-1.25)
	Controles	64.5	31.9	3.6	Ref		80.4	19.6	Ref	

Tabla 32: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *LAT* y *SYK* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo. p_c = p -valor corregido por FDR.

TNFRS11A	Pacientes	Subgrupos de pacientes	Frecuencia genotípica			p-valor	OR (95% CI)	Frecuencia alélica		p-valor	OR (95% CI)
			T/T	T/C	C/C			T	C		
rs1805034			T/T	T/C	C/C			T	C		
	NIUA		30.4	52	17.6	0.19	0.79 (0.55-1.13)	56.4	43.6	0.733	0.94 (0.67-1.31)
		Urticaria	32.2	47.8	20	0.54	0.86 (0.53-1.40)	56.1	43.9	0.753	0.96 (0.75-1.23)
		Angioedema	36.8	50.9	12.3	0.24	1.62 (0.70-3.72)	62.2	37.8	0.574	1.19 (0.67-2.08)
		Urticaria + Angioedema	19.6	60.7	19.6	0.014 $p_c=0.041$	0.44 (0.22-0.88)	50	50	0.136	0.725 (0.48-1.10)
	Controles		35.3	45.4	19.3	Ref		58	42	Ref	
rs35211496			C/C	C/T	T/T			C	T		
	NIUA		62.6	33	4.4	0.67	0.83 (0.35-1.97)	79.1	20.9	0.715	1.05 (0.82-1.33)
		Urticaria	70.8	27	2.2	0.16	1.42 (0.86-2.35)	84.3	15.7	0.133	1.29 (0.93-1.79)
		Angioedema	52.6	38.6	8.8	0.13	0.64 (0.37-1.13)	71.9	28.1	0.223	0.78 (0.53-1.14)
		Urticaria + Angioedema	59.6	36.8	3.5	0.61	0.86 (0.49-1.52)	78.1	21.9	0.877	1.09 (0.58-2.02)
	Controles		63.5	33.1	3.4	Ref		80	20	Ref	

Tabla 33: Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP de *TNFRS11A* en los pacientes con NIUA teniendo en cuenta el fenotipo. p_c =p-valor corregido por FDR.

A continuación, analizamos la asociación de los haplotipos que contienen los alelos de riesgo para NIUA. La tabla 34 muestra que entre los pacientes con angioedema, la frecuencia de los individuos portadores del haplotipo [C-G] para rs753381-rs2228246 (*PLCG1*) es menor que la observada en los sujetos control, según el modelo dominante ($p_c=0.040$). Además, la frecuencia del haplotipo [C-T] rs1805034-rs35211496 (*TNFRS11A*), es mayor entre los pacientes con urticaria y los pacientes con urticaria y angioedema que en los sujetos control ($p_c=0.045$ y $p_c=0.046$, respectivamente), según el modelo dominante. Por otro lado, no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas en los haplotipos estudiados para el gen *PLA2G4A*.

Gen	Haplotipo	Genotipo	Pacientes	Subgrupo de pacientes	Frecuencia haplotípica (%)	p-valor	OR (CI 95%)
<i>PLA2G4A</i>	rs2307198	ht [A-G-C]	NIUA		12.1	0.54	0.89 (0.60-1.30)
	rs12746200			Urticaria	14.6	0.056	0.63 (0.40-1.01)
	rs12749354			Angioedema	10	0.541	1.26 (0.60-2.62)
				Urticaria + Angioedema	10.1	0.67	1.16 (0.58-2.32)
				Controles		10.3	Ref
<i>PLCG1</i>	rs753381	ht [C-G]	NIUA		16.9	0.651	0.94 (0.72-1.23)
	rs2228246			Urticaria	17.7	0.25	0.78 (0.52-1.18)
				Angioedema	10.7	0.02 p_c=0.043	2.74 (1.18-6.36)
				Urticaria + Angioedema	17	0.372	0.78 (0.45-1.35)
				Controles		16.5	Ref
<i>TNFRS11A</i>	rs1805034	ht [C-T]	NIUA		1.62	0.341	0.61 (0.22-1.69)
	rs35211496			Urticaria	1.83	0.026 p_c= 0.045	0.23 (0.06-0.84)
				Angioedema	1.39	0.46	0.53 (0.19-1.47)
				Urticaria + Angioedema	2.01	0.023 p_c= 0.044	0.15 (0.03-0.77)
				Controles		1.28	Ref

Tabla 34: Frecuencias haplotípicas de los SNP de los genes implicados en la vía de activación del mastocito que se han asociado con NIUA.

Análisis de asociación entre SNP en *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR* y NIUA.

Dada la importancia de *TSLP* en las enfermedades inflamatorias y su papel como citoquina fundamental en la iniciación de la señal inflamatoria, resulta interesante estudiar este gen y aquellos que codifican para las subunidades que componen su receptor ya que podrían estar implicadas en el desarrollo de NIUA. Estos son los resultados obtenidos del estudio de variantes genéticas en dichos genes:

Características de la población de estudio

Tras los controles de calidad del genotipado, 5 individuos control sano y 8 casos fueron descartados, por no presentar una CR >90%, quedando 580 controles y 369 pacientes NIUA para los análisis posteriores.

Encontramos diferencias en el estado atópico ($p < 0.0001$), pero no en el género o el sexo entre los pacientes NIUA y los controles sanos. El grupo farmacológico principalmente implicado fue el de los derivados de ácido propiónicos, representando el 35.3% de los eventos, seguidos por ASA que representó el 23.2%.

	Control	NIUA	<i>p</i> -valor
Número de individuos	580	369	
Edad (Media \pm SD)	36 \pm 15	37 \pm 16	0.225
Género (% Mujeres)	63.3	58.9	0.269
Atopia (%)	43.2	63.3	<0.0001
Fármacos implicados (%)			
Derivados del ácido propiónico	NA	35.3	NA
ASA	NA	23.2	NA
Metamizol	NA	17.1	NA
Paracetamol	NA	9.6	NA
Otros AINE	NA	14.8	NA

Tabla 35: Características clínicas y fármacos causantes de las reacciones de los sujetos (NIUA y controles sanos) incluidos en el análisis de las variantes de *TSLP* y su receptor. NIUA: Urticaria/angioedema inducido por AINE; ASA: Ácido acetil salicílico; NA: No aplicable.

Resultados del estudio de asociación

Tras la selección de las variantes de *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR*, incluimos un total de 15 SNP (Tabla 36). Todos los SNP genotipados presentaron una MAF > 0.10 en controles sanos y un *p*-valor superior a 0.0033 para el test del HWE. Los SNP de *TSLP* e *IL7R* presentaron

una CR>90%, mientras que los SNP analizados de *TSLPR* mostraron una CR<90%. De forma que fueron excluidos de posteriores análisis los SNP rs36139698, rs36177645 y rs36133495 de *TSLPR*.

Gen	SNP	Alelos	CR	MAF casos	MAF controles	p-valor HWE controles
<i>TSLP</i>	rs1545169	T>G	98.1	0.03448	0.1222	0.009
	rs764917	C>A	97.0	0.4849	0.4431	0.502
	rs1837253	C>T	99.0	0.2343	0.2175	0.717
	rs3806932	A>G	99.3	0.4354	0.3863	0.189
	rs2289276	C>T	99.8	0.3014	0.2744	0.404
	rs897801	T>C	98.0	0.09204	0.1156	0.060
<i>IL7R</i>	rs1494565	A>C	99.7	0.3971	0.4026	0.931
	rs11567714	C>T	99.4	0.1034	0.1227	0.550
	rs6897932	C>T	99.4	0.2332	0.2485	0.656
	rs13167136	G>A	99.4	0.1659	0.1423	0.741
	rs700179	A>G	98.8	0.3341	0.2851	0.920
	rs10058453	T>C	99.1	0.262	0.3128	0.094
<i>TSLPR</i>	rs36139698	G>A	89.4	0.2375	0.256	0.313
	rs36177645	T>C	88.5	0.3133	0.3397	0.579
	rs36133495	A>G	85.0	0.5225	0.4846	0.841

Tabla 36: Información, controles de calidad de los SNP (*TSLP* e *IL7R*) y SNP seleccionados para *TSLPR*. CR; tasa de completado, MAF; Frecuencia alélica mínima. HWE; test del equilibrio de Hardy-Weinberg en controles sanos.

A los SNP genotipados de *TSLP* e *IL7R* y las variantes de referencia imputadas para estos genes, se les realizó un proceso de imputación seguido de un test de asociación. Después de aplicar los filtros de los controles de calidad a los resultados de los análisis de imputación y asociación, quedaron un total de 29 variantes de *TSLP* y de 110 para *IL7R* (Tabla S2 y S3).

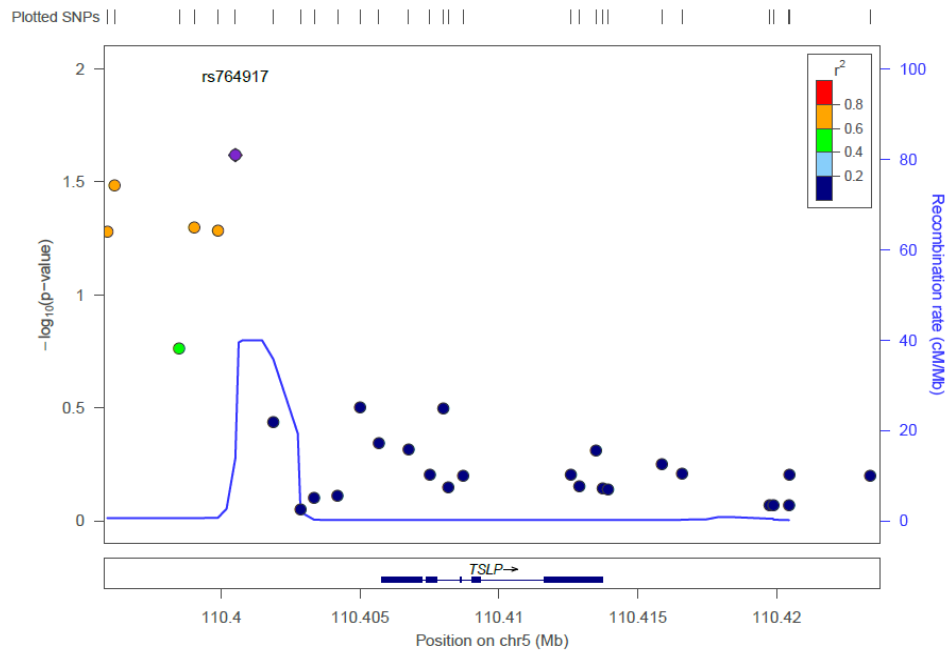


Figura 14: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *TSLP* ordenados por posición cromosómica. El número del SNP mostrado en el gráfico denota el resultado obtenido para el SNP más significativo para cada gen y los resultados restantes donde el color indica su desequilibrio de ligamiento con este SNP basándose en los valores pairwise r^2 del Proyecto 1000 Genomas. Las tasas de recombinación estimadas del Proyecto 1000 Genomas también fueron representadas en el gráfico en el eje vertical reflejando la estructura local de desequilibrio de ligamiento.

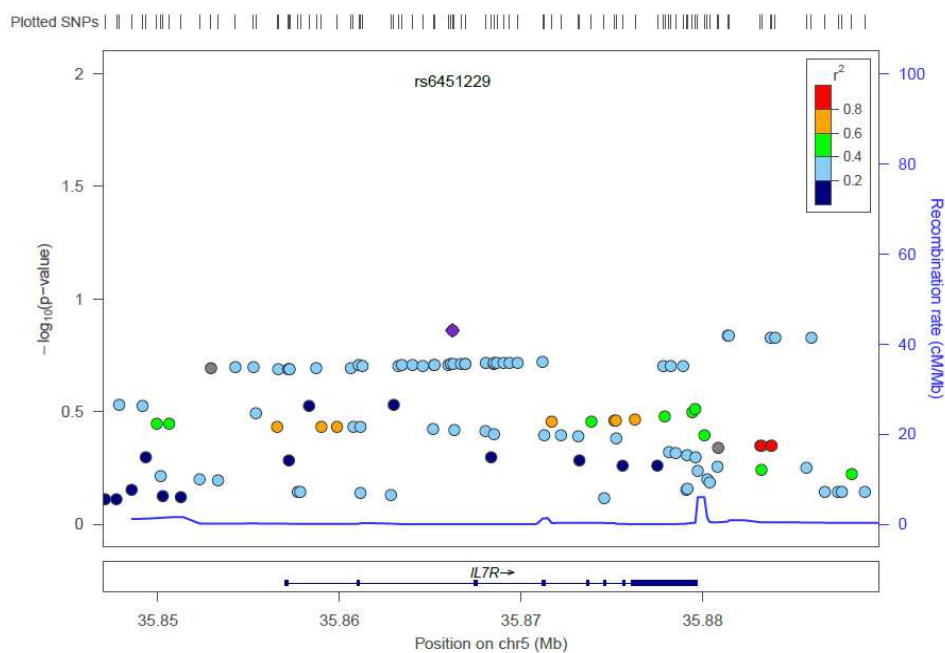


Figura 15: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *IL7R* ordenados por posición cromosómica.

Dos SNP en el gen *TSLP* (rs1816678 y rs764917) mostraron asociación nominal con NIUA (Figura 14 y Tabla 37). Sin embargo, estos SNP no pasaron la corrección por FDR (FDR=31.5%). Ninguna de las variantes en *IL7R* mostró asociación nominal con NIUA, presentándose el mínimo p -valor de $p=0.138$ (Figura 15) (Tabla S3).

Gen	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p -valor	FDR (%)
<i>TSLP</i>	rs1816678	G/A	0.598	0.58	0.76	0.594-0.978	0.033	31.5
<i>TSLP</i>	rs764917	A/C	0.54	0.98	0.81	0.666-0.971	0.024	31.5

Tabla 37: Resultados de imputación y asociación para los SNP de *TSLP* asociados nominalmente con NIUA. Freq1; Frecuencia del SNP uno, RSQR; rsq del archivo info, una medida de la calidad de la imputación. OR; Odds Ratio, CI; intervalo de confianza (95%), p -valor; p -valor del likelihood ratio. FDR; p -valor (%) tras la corrección por tasa de falso descubrimiento.

Análisis de asociación entre SNP en *CEP68* y la hipersensibilidad a los AINE.

Los estudios de asociación génica llevados a cabo en pacientes con hipersensibilidad a los AINE están permitiendo identificar nuevos *loci* que podrían tener un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Recientemente, un estudio GWAS realizado en una población coreana de pacientes con NERD identificó el *CEP68* como el principal *locus* asociado con esta entidad clínica.

El *locus CEP68* está en alto desequilibrio de ligamiento con el *locus* de *RAB1A*. *RAB1A* es una pequeña GTPasa que controla el tráfico vesicular desde el retículo endoplasmático hasta el aparato de Golgi. Además, este gen presenta varios SNP asociados con NERD [213]. Aunque, esta asociación no ha sido estudiada en el resto de pacientes con IC a AINE.

Por lo tanto, en este estudio analizamos la potencial asociación de las variantes genéticas comunes del gen *CEP68* y un grupo de pacientes con IC a AINE compuesto por NIUA, NERD y pacientes con síntomas respiratorios y cutáneos (mixtos o *blended reactions*). Los resultados obtenidos en este objetivo son los siguientes:

Características de la población de estudio

En este estudio, incluimos un total de 1060 individuos. De ellos, 635 eran pacientes y 425 eran controles sanos no relacionados. No se encontraron diferencias

estadísticamente significativas de edad o sexo entre ambos grupos ($p= 0.563$ y $p=0.892$, respectivamente) (Tabla 38). La entidad clínica más frecuente fue NIUA (62.8%), seguido de las reacciones mixtas y NERD (19.8 y 17.3%, respectivamente) (Tabla 38). Los derivados de ácido propiónico fueron los medicamentos más frecuentemente implicados en estas reacciones (33.9%), seguidos de ASA y pirazolonas (25.0% y 19.1%, respectivamente) (Tabla 38).

Variable	Controles sanos (n=425)	Pacientes (n=635)	p-valor
Media edad (en años)± SD	41.52±15.74	41.93±15.52	0.563
Número de mujeres (%)	263 (61.8)	390 (61.4)	0.892
Historia de enfermedades alérgicas	59 (13.9)	261 (41.1)	<0.0001
Grupo clínico, número de episodios y AINE implicados			
NIUA	0	399 (62.8)	NA
NERD	0	110 (17.3)	NA
patrón mixto	0	126 (19.8)	NA
Número de episodios	0	3.21±1.65	NA
Número de fármacos involucrados	0	2.44±0.74	NA
Derivados de ácidos propiónicos	0	691 (33.9)	NA
ASA	0	511 (25.0)	NA
Pirazolonas	0	389 (19.1)	NA
Otras	0	449 (22.0)	NA

Tabla 38: Datos demográficos y clínicos de los casos y controles sanos incluidos en el estudio de CEP68. NA; no aplicable.

Resultados del estudio de asociación de CEP68

En la tabla 39, se han descrito los resultados obtenidos tras los controles de calidad del genotipado. A excepción de rs2241161, todos los demás SNP genotipados presentaron una CR superior al 90% y estaban en HWE, por lo que se mantuvieron para posteriores análisis.

SNP	Cambio (Alelo1, Alelo 2)	Localización (efecto)	Posición	CR (%)	Pacientes genotipados (n)			Controles genotipados (n)			HWE pacientes	HWE controles	MAF pacientes	MAF controles
					1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2				
rs2249105	A>G	Intrón	65287896	99.5	242	297	93	121	173	67	0.932	0.747	0.382	0.425
rs2241161	C>A	Intrón	65290842	99.6	498	131	4	270	85	6	0.217	1.000	0.110	0.134
rs7572857	G>A	Exón 2 (Gly74Ser)	65296798	99.5	496	129	10	268	90	5	0.448	0.288	0.156	0.223
rs10496123	A>G	Intrón 5	65309296	99.6	54	243	333	22	137	202	0.375	1.000	0.280	0.251
rs1228	T>C	3'UTR	65311555	100	288	280	67	145	167	51	1.000	0.882	0.326	0.371

Tabla 39: Medidas de los controles de calidad para los SNP genotipados del gen *CEP68*. Se han mostrado los SNP que superaron los controles de calidad. HWE: p-valor para el test del equilibrio de Hardy-Weinberg; MAF: Frecuencia alélica menor.

Tras la imputación, considerando un valor umbral de FDR del 5% ($q\text{-valor} < 5E-02$), de los 53 SNP testados, encontramos un total de 17 SNP (32%) asociados con NIUA (Figura 16, Tabla 40, Tabla S4). Entre ellos, la variante no sinónima rs7572857 (Gly74Ser), previamente asociada con NERD ($p = 1.67E-05$) [138]. El mayor valor de asociación encontrado fue para el SNP rs1050675 ($p = 1.13E-06$).

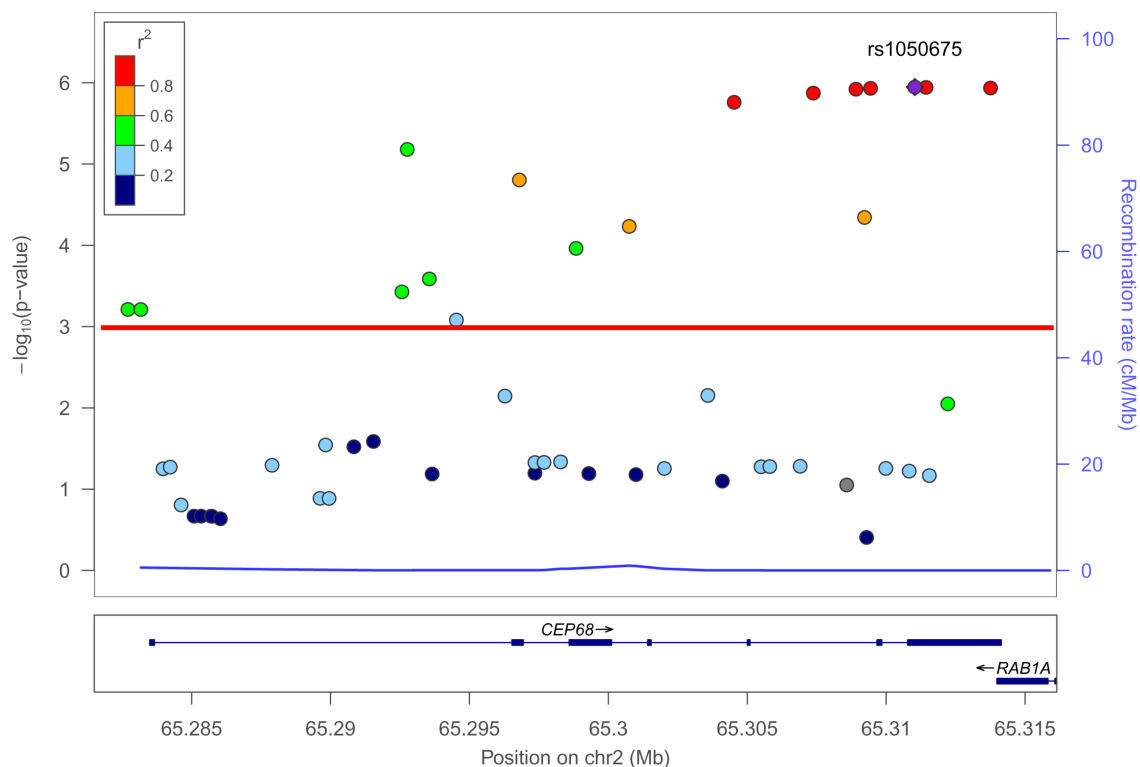


Figura 16: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *CEP68* ordenados por posición cromosómica. El número del SNP mostrado en el gráfico denota el resultado obtenido para el SNP más significativo para este gen y los resultados restantes donde el color indica su disequilibrio de ligamiento con este SNP basándose en los valores pairwise r^2 del Proyecto 1000 Genomas. Las tasas de recombinación estimadas del Proyecto 1000 Genomas también fueron representadas en el gráfico en el eje vertical reflejando la estructura local de disequilibrio de ligamiento. La línea roja horizontal indica un p-valor de $9.4E-10$.

SNP	Alelos (M, m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
NIUA vs controles sanos						
rs6728523	G,C	0.27	0.59	0.59 (0.43-0.80)	6.15E-04	6.13E-03
rs2302647	G,A	0.27	0.59	0.59 (0.43-0.80)	6.17E-04	6.13E-03
rs2249105	A,G	0.4	-	0.78 (0.63-0.96)	1.75E-02	1.69E-01
rs2540945	A,G	0.35	0.75	0.75 (0.59-0.97)	2.86E-02	1.26E-01
rs2241161	C,A	0.38	-	0.75 (0.54-1.03)	1.70E-02	1.29E-01
rs2241160	A,G	0.38	0.64	0.73 (0.56-0.96)	2.59E-02	1.21E-01
rs2901749	G,T	0.19	0.57	0.51 (0.35-0.74)	3.74E-04	4.24E-03
rs2080385	G,T	0.22	0.54	0.43 (0.30-0.62)	6.61E-06	1.39E-04
rs75678687	G,A	0.19	0.58	0.51 (0.35-0.73)	2.59E-04	3.16E-03
rs79157909	T,G	0.16	0.42	0.46 (0.29-0.72)	8.30E-04	7.76E-03
rs2252867	T,C	0.34	0.69	0.69 (0.53-0.91)	7.16E-03	5.98E-02
rs7572857	G,A	0.14	-	0.55 (0.42-0.73)	1.67E-05	2.83E-04
rs2723085	C,G	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.71E-02	1.69E-01
rs2723086	C,T	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.69E-02	1.69E-01
rs2723087	T,A	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.62E-02	1.69E-01
rs17849707	A,G	0.2	0.57	0.49 (0.34-0.70)	1.09E-04	1.44E-03
rs12621608	C,T	0.16	0.49	0.43 (0.29-0.65)	5.85E-05	8.38E-04
rs6546123	C,T	0.32	0.64	0.68 (0.52-0.90)	7.03E-03	5.98E-02
rs76221156	C,T	0.11	0.61	0.34 (0.22-0.53)	1.74E-06	4.50E-05
rs1894874	T,C	0.12	0.59	0.34 (0.22-0.52)	1.34E-06	2.70E-05
rs113359765	C,T	0.11	0.59	0.34 (0.22-0.52)	1.20E-06	2.70E-05
rs6546125	A,C	0.17	0.48	0.44 (0.29-0.65)	4.54E-05	7.16E-04
rs78945874	A,G	0.11	0.58	0.33 (0.22-0.52)	1.17E-06	2.70E-05
rs1050675	A,G	0.11	0.56	0.33 (0.21-0.52)	1.13E-06	2.70E-05
rs1229	G,A	0.11	0.56	0.33 (0.21-0.52)	1.14E-06	2.70E-05
rs1228	T,C	0.3	-	0.78 (0.63-0.96)	2.14E-02	1.69E-01
rs4671638	T,C	0.24	0.57	0.66 (0.48-0.90)	8.93E-03	7.09E-02
rs61758846	G,C	0.12	0.52	0.32 (0.21-0.51)	1.16E-06	2.70E-05

Tabla 40: Resultados de asociación de los SNP de *CEP68* para NIUA. En la tabla se han mostrado los SNP que han mostrado asociación nominal y los correspondientes q-valores obtenidos tras corregir por FDR.

Los efectos funcionales de los SNP asociados estadísticamente con NIUA se muestran en la tabla 41.

SNP	Localización	Posición	Efectos funcionales predichos
rs6728523	5'UTR	65282708	TFBS
rs2302647	5'UTR	65283174	TFBS
rs2901749	Intrón	65292570	*
rs2080385	Intrón	65292762	TFBS
rs75678687	Intrón	65293558	*
rs79157909	Intrón	65294532	
rs7572857	Exon 2 (Gly74Ser)	65296798	nsSNP
rs17849707	Exon 2 (Thr203Thr)	65298839	*
rs12621608	Intrón	65300752	TFBS
rs76221156	Intrón	65304529	*
rs1894874	Intrón	65307379	TFBS
rs113359765	Intrón	65308913	*
rs6546125	Intrón	65309223	*
rs78945874	Intrón	65309439	*
rs1050675	3'UTR	65311031	miRNABS
rs1229	3'UTR	65311438	miRNABS
rs61758846	3'UTR	65313758	miRNABS

Tabla 41: Resultados de asociación y función predicha para los 17 SNP de *CEP68* que se han asociado con NIUA. miRNABS: sitio de unión de micro RNA; nsSNP: SNP no sinónimo; TFBS, sitio de unión de un factor de transcripción.

Este SNP (rs1050675) y los 16 restantes estaban en alto desequilibrio de ligamiento, y una vez que este efecto fue tenido en cuenta, en relación a su asociación con la patología, los 16 SNP restantes dejaron de ser estadísticamente significativos (Tabla 42). De tal modo que, únicamente el SNP rs1050675 se mantuvo asociado de forma estadísticamente significativa.

SNP	<i>p</i> -valor
rs6728523	0.140
rs2302647	0.141
rs2901749	0.244
rs2080385	0.257
rs75678687	0.276
rs79157909	0.312
rs7572857	0.921
rs17849707	0.352
rs12621608	0.111
rs76221156	0.707
rs1894874	0.882
rs113359765	0.967
rs6546125	0.143
rs78945874	0.949
rs1229	0.906
rs61758846	0.905

Tabla 42: Resultados de los análisis de regresión resultante de los SNP que se habían asociado con NIUA en función de rs1050675 (*CEP68*).

A pesar del pequeño tamaño muestral de pacientes respiratorios o mixtos, también comparamos estos grupos con el grupo control sano (Tabla 43)(Tabla S4). En ambos casos, encontramos asociaciones nominales para las reacciones NERD y las reacciones mixtas, con 7 y 8 SNP, respectivamente. Estos SNP estaban entre los 17 SNP asociados con NIUA, y el menor *p*-valor obtenido en ambas entidades fue para el SNP rs61758846 ($p=0.010$ and $p=0.013$, para NERD y reacciones mixtas, respectivamente). Sin embargo, ninguno de estos SNP permaneció siendo significativos después de la corrección por múltiples tests (Tabla 43).

SNP	Alelos (M, m)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
NERD vs controles sanos				Reacciones mixtas vs controles sanos			
rs76221156	C,T	0.46 (0.24-0.87)	1.81E-02	9.61E-02	0.51 (0.28-0.93)	2.80E-02	1.26E-01
rs1894874	T,C	0.45 (0.23-0.86)	1.60E-02	8.77E-02	0.49 (0.27-0.90)	2.52E-02	1.08E-01
rs113359765	C,T	0.44 (0.23-0.86)	1.52E-02	8.65E-02	0.48 (0.26-0.89)	2.01E-02	9.96E-02
rs6546125	A,C				0.55 (0.31-0.96)	3.48E-02	1.45E-01
rs78945874	A,G	0.44 (0.23-0.85)	1.46E-02	8.65E-02	0.48 (0.26-0.89)	1.90E-02	9.75E-02
rs1050675	A,G	0.43 (0.22-0.83)	1.19E-02	8.24E-02	0.46 (0.25-0.86)	1.48E-02	8.65E-02
rs1229	G,A	0.42 (0.22-0.82)	1.13E-02	8.16E-02	0.46 (0.25-0.85)	1.37E-02	8.65E-02
rs61758846	G,C	0.41 (0.21-0.81)	1.06E-02	7.98E-02	0.44 (0.23-0.84)	1.28E-02	8.50E-02

Tabla 43: Resultados de asociación de los SNP de *CEP68* para los grupos comparados NERD y Mixtos. En la tabla se han mostrado los SNP que han mostrado asociación nominal y los correspondientes q-valores obtenidos tras corregir por FDR.

Resultados del estudio de asociación de *RAB1A*

Dado que la secuencia de *CEP68* solapa con la de *RAB1A*, evaluamos mediante tests de asociación si SNP de *RAB1A* se asociaban con NIUA, NERD o las reacciones mixtas. Los resultados, resumidos, se muestran en la tabla 44. Tras este análisis, se determinó que ciertos SNP de *RAB1A* se asociaban con NIUA, pero que ninguno de ellos se asociaba con NERD o las reacciones mixtas.

SNP	Alelos (M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
			NIUA vs controles sanos				NERD vs controles sanos			Reacciones mixtas vs controles sanos		
rs1420185	A.G	0.3	0.66	0.69 (0.41-0.97)	8.47E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.26)	4.33E-01	6,08E-01	0.72 (0.32-1.13)	1.23E-01	3,01E-01
rs112029776	A.G	0.11	0.59	0.35 (0.10-3.33)	3.05E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs113413623	G.A	0.11	0.59	0.35 (0.10-3.34)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.29E-02	9,24E-02
rs113506850	T.G	0.1	0.58	0.34 (0.12-3.44)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.10E-02	8,92E-02	0.48 (0.17-1.12)	2.31E-02	9,24E-02
rs7607025	G.A	0.22	0.54	0.62 (0.29-0.96)	5.70E-03	1,82E-02	0.78 (0.53-1.27)	3.11E-01	5,40E-01	0.67 (0.18-1.15)	9.95E-02	3,01E-01
rs7607039	G.A	0.22	0.54	0.62 (0.29-0.96)	5.70E-03	1,82E-02	0.78 (0.53-1.27)	3.10E-01	5,40E-01	0.67 (0.18-1.15)	9.96E-02	3,01E-01
rs76210337	A.G	0.11	0.59	0.34 (0.10-3.35)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs75263790	G.T	0.11	0.59	0.34 (0.10-3.35)	3.04E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs9784068	C.A	0.11	0.58	0.34 (0.10-3.35)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.29E-02	9,24E-02
rs12472718	A.G	0.3	0.65	0.69 (0.41-0.97)	8.47E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.26)	4.33E-01	6,08E-01	0.72 (0.31-1.13)	1.23E-01	3,01E-01
rs113467506	C.G	0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs75479685	A.G	0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.15-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs111245132	T.G	0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.15-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs13421845	A.G	0.3	0.63	0.68 (0.40-0.97)	8.41E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.27)	4.41E-01	6,08E-01	0.72 (0.31-1.14)	1.24E-01	3,01E-01
rs111778391	G.A	0.11	0.57	0.34 (0.11-3.38)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.05E-02	3,80E-01	0.48 (0.15-1.11)	2.29E-02	9,24E-02
rs60136636	A.G	0.3	0.62	0.68 (0.40-0.97)	8.42E-03	2,19E-02	0.85 (0.63-1.27)	4.41E-01	6,08E-01	0.72 (0.30-1.14)	1.24E-01	3,01E-01
rs10176281	T.A	0.11	0.57	0.34 (0.11-3.39)	3.08E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs113683435	G.A	0.11	0.57	0.34 (0.11-3.39)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs56725299	G.C	0.11	0.57	0.34 (0.12-3.40)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs17029863	T.C	0.11	0.57	0.34 (0.12-3.40)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02

SNP	Alelos (M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
				NIUA vs controles sanos			NERD vs controles sanos			Reacciones mixtas vs controles sanos		
rs13006381	A.G	0.39	0.55	0.66 (0.37-0.95)	5.44E-03	1,82E-02	0.81 (0.60-1.23)	3.33E-01	5,66E-01	0.81 (0.40-1.22)	3.13E-01	4,55E-01
rs13409078	T.C	0.11	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs1558658	A.G	0.11	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.07E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02
rs28392943	T.C	0.89	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.08E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.12)	2.28E-02	9,24E-02
rs13383649	G.C	0.89	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.07E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.12)	2.28E-02	9,24E-02
rs12465024	C.G	0.3	0.61	0.68 (0.39-0.97)	8.44E-03	2,19E-02	0.84 (0.63-1.27)	4.32E-01	6,08E-01	0.72 (0.29-1.14)	1.23E-01	3,01E-01
rs112587259	A.C	0.11	0.55	0.33 (0.13-3.46)	3.07E-06	1,30E-05	0.44 (0.09-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.47 (0.17-1.12)	2.28E-02	9,24E-02
rs58342673	C.T	0.3	0.6	0.68 (0.39-0.97)	8.49E-03	2,19E-02	0.84 (0.62-1.27)	4.30E-01	6,08E-01	0.71 (0.29-1.14)	1.22E-01	3,01E-01
rs10185243	T.G	0.29	0.56	0.64 (0.34-0.95)	4.50E-03	1,63E-02	0.81 (0.59-1.26)	3.66E-01	5,96E-01	0.69 (0.25-1.14)	1.04E-01	3,01E-01
rs3732096	T.C	0.23	0.51	0.65 (0.31-0.99)	1.21E-02	2,93E-02	0.80 (0.55-1.30)	3.91E-01	6,03E-01	0.68 (0.19-1.17)	1.22E-01	3,01E-01
rs2422437	T.G	0.23	0.51	0.65 (0.31-0.99)	1.21E-02	2,93E-02	0.80 (0.55-1.30)	3.92E-01	6,03E-01	0.68 (0.19-1.17)	1.22E-01	3,01E-01
rs61758850	C.T	0.11	0.51	0.32 (0.15-3.58)	3.27E-06	1,30E-05	0.43 (0.07-1.15)	2.12E-02	8,92E-02	0.46 (0.21-1.13)	2.30E-02	9,24E-02
rs6748462	G.T	0.26	0.47	0.56 (0.21-0.90)	8.41E-04	3,20E-03	0.74 (0.48-1.24)	2.37E-01	4,30E-01	0.63 (0.13-1.13)	6.84E-02	2,60E-01

Tabla 44: Asociación de las variantes imputadas de *RAB1A* con la hipersensibilidad a los AINE. Resumen de la (tabla S5) en la que se han incluido sólo los p-valoros significativos tras la corrección por FDR, al menos en alguno de los tres grupos. Los valores de OR se refieren al alelo menor.

En este caso, también se tuvo en cuenta la independencia de estos SNP con respecto al SNP rs1050675 de *CEP68* y los resultados fueron corregidos (Tabla 45). Tras esta corrección, ninguno de los SNP imputados de *RAB1A* se asoció con NIUA.

SNP	Gen	p-valor
rs6728523	<i>CEP68</i>	0.345
rs2302647	<i>CEP68</i>	0.346
rs2901749	<i>CEP68</i>	0.149
rs2080385	<i>CEP68</i>	0.276
rs75678687	<i>CEP68</i>	0.158
rs79157909	<i>CEP68</i>	0.155
rs7572857	<i>CEP68</i>	0.800
rs17849707	<i>CEP68</i>	0.209
rs12621608	<i>CEP68</i>	0.076
rs76221156	<i>CEP68</i>	0.276
rs1894874	<i>CEP68</i>	0.344
rs113359765	<i>CEP68</i>	0.375
rs6546125	<i>CEP68</i>	0.143
rs78945874	<i>CEP68</i>	0.664
rs1229	<i>CEP68</i>	0.996
rs61758846	<i>CEP68</i>	0.872
rs112029776	<i>RAB1A</i>	0.677
rs113413623	<i>RAB1A</i>	0.787
rs113506850	<i>RAB1A</i>	0.831
rs76210337	<i>RAB1A</i>	0.707
rs75263790	<i>RAB1A</i>	0.644
rs9784068	<i>RAB1A</i>	0.808
rs113467506	<i>RAB1A</i>	0.695
rs75479685	<i>RAB1A</i>	0.692
rs111245132	<i>RAB1A</i>	0.810
rs111778391	<i>RAB1A</i>	0.827
rs10176281	<i>RAB1A</i>	0.763
rs113683435	<i>RAB1A</i>	0.833
rs56725299	<i>RAB1A</i>	0.698
rs17029863	<i>RAB1A</i>	0.689
rs13409078	<i>RAB1A</i>	0.706
rs1558658	<i>RAB1A</i>	0.722
rs28392943	<i>RAB1A</i>	0.757
rs13383649	<i>RAB1A</i>	0.736
rs112587259	<i>RAB1A</i>	0.723
rs61758850	<i>RAB1A</i>	0.665

Tabla 45: Resultados del análisis de asociación de *CEP68* y *RAB1A* para NIUA en función del SNP rs1050675 de *CEP68*.

Estudio de asociación a nivel de genoma completo.

En este estudio llevamos a cabo un GWAS en dos grupos bien caracterizados de pacientes NIUA Españoles y chinos de la etnia Han. Con este trabajo pretendemos analizar las similitudes y las diferencias en cuanto a susceptibilidad genética de padecer NIUA. Este estudio, no solo es el primer GWAS que se realiza en pacientes con NIUA, sino que además; por primera vez, se han analizado y comparado dos poblaciones étnicamente diferentes. Los resultados obtenidos se describen a continuación:

Características de la población de estudio

Incluimos un total de 232 pacientes (112 de España y 120 de Taiwán) con NIUA y 225 controles sanos no relacionados (124 de España y 101 de Taiwán). No se encontraron diferencias significativas en el sexo o la edad entre pacientes y controles en el grupo de los pacientes españoles, mientras que la edad de los controles en la población china de etnia Han fue mayor que la de los pacientes (Tabla 46). Considerando los AINE implicados, los derivados del ácido propiónico fueron los medicamentos más comúnmente responsables de estos episodios tanto en población española como china (39.4% (122 episodios) y 32.3% (133 episodios), respectivamente) (Tabla 46).

Variable	Población española			Población de chinos Han		
	Pacientes	Controles	p-valor	Pacientes	Controles	p-valor
Edad, años (media± SD)	41.1±15.5	39.4±14.5	0.35	40.6±15.2	48.89±13.50	<0.001
Porcentaje de mujeres (%)	64 (57.1)	65 (52.4)	0.47	76 (62.8)	71 (70.3)	0.24
Número de episodios	3.2±1.4	NA		3.4±1.0	NA	
AINE involucrados / Número de episodios (%)						
Derivados de ácido propiónico	122 (39.4)	NA		133 (32.6)	NA	
ASA	80 (25.8)	NA		69 (16.9)	NA	
Pirazolonas	51 (16.5)	NA		50 (12.3)	NA	
Otros	57 (18.3)	NA		156 (38.2)	NA	
Los pacientes españoles presentaron un total de 310 episodios y los chinos de la etnia Han 408.						

Tabla 46: Datos clínicos y demográficos de pacientes y controles sanos analizados en el GWAS.

Controles de calidad de los datos

La tasa media de completado para cada individuo genotipado fue superior al 95%. Los resultados de sexo de todos los pacientes determinado por el GWAS fueron consistentes con los datos recopilados.

De un total de 868.153 SNP en los autosomas, finalmente 644.046 (74.2%) en el grupo de los españoles y 589.460 (67.9%) en la población china pasaron los filtros de control de calidad y presentaron una tasa de completado por encima del 99.8 + 0.4%. Los resultados del análisis de componentes principales no mostraron diferencias significativas para la estratificación poblacional entre pacientes y controles ($p > 0.05$), y entre poblaciones ($p < 0.001$).

Resultados del análisis de asociación en la población española

Los análisis de GWAS para la población española se llevaron a cabo en un total de 112 pacientes con NIUA y 124 controles sanos (Figura 17). Aunque ningún SNP consiguió la significación a nivel de GWAS tras la corrección por Bonferroni, los resultados revelaron que 37 SNP presentaron asociación nominal ($10^{-8} < p < 10^{-5}$) con NIUA.

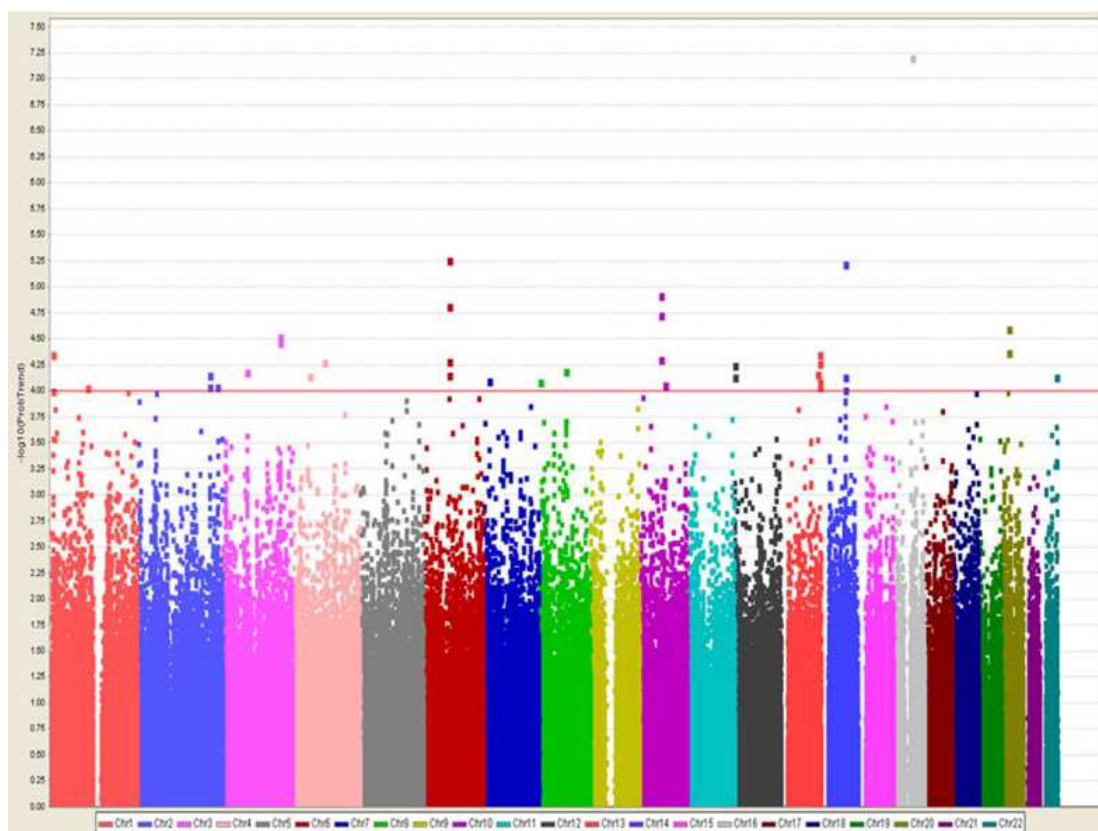


Figura 17: GWAS para NIUA en población Española. Los resultados expresados como p-valores en $-\log_{10}$ y ordenados en función del orden en los cromosomas, se muestran la figura. La línea horizontal indica p-valores de 10^{-4} .

Chr.	SNP	Posición	Alelos	Alelo de riesgo	FAR controles	FAR NIUA	ΔF	p-valor	OR (95% IC)
1	rs2796483	7463932	G/A	G	0.3629	0.5405	0.1776	9.70×10^{-5}	2.07 (1.43-2.99)
1	rs1750849	7474913	G/C	G	0.4113	0.5982	0.1869	4.30×10^{-5}	2.13 (1.48-3.08)
1	rs4601631	105522486	A/C	A	0.4106	0.5864	0.1758	8.93×10^{-5}	2.04 (1.41-2.94)
2	rs6756429	206250172	T/C	C	0.4274	0.6027	0.1753	8.76×10^{-5}	2.03(1.41-2.93)
3	rs9857691	68148585	G/C	G	0.2419	0.4241	0.1822	6.32×10^{-5}	2.31 (1.56-3.42)
3	rs6441417	163132046	G/A	G	0.0605	0.192	0.1315	3.32×10^{-5}	3.69 (1.99-6.85)
3	rs6441418	163132210	A/C	A	0.0605	0.1909	0.1304	2.91×10^{-5}	3.67 (1.97-6.82)
4	rs13114836	48190334	C/G	C	0.125	0.2723	0.1473	6.91×10^{-5}	2.62 (1.62-4.22)
4	rs6532150	90405782	A/G	G	0.9113	0.9911	0.0798	5.13×10^{-5}	10.81 (2.51-46.50)
6	rs2249625	72963474	C/T	C	0.3821	0.5804	0.1982	5.3×10^{-6}	2.24 (1.55-3.24)
6	rs2463749	72974869	C/G	C	0.3659	0.5402	0.1743	6.8×10^{-5}	2.04 (1.41-2.95)
6	rs2254147	72977664	G/C	G	0.3669	0.5446	0.1777	5.04×10^{-5}	2.06 (1.43-2.98)
7	rs4721564	17056487	T/C	T	0.3065	0.482	0.1755	7.68×10^{-5}	2.11 (1.44-3.07)
8	rs7842758	75870217	C/T	T	0.7863	0.9196	0.1334	6.25×10^{-5}	3.11(1.76-5.50)
10	rs3125447	60296240	C/T	C	0.1250	0.2857	0.1607	4.77×10^{-5}	2.80 (1.74-4.50)
10	rs282674	60313342	G/A	G	0.1169	0.2857	0.1688	1.17×10^{-5}	3.02 (1.86-4.90)
10	rs282673	60313623	T/C	T	0.1179	0.2838	0.1659	1.82×10^{-5}	2.96 (1.83-4.82)
10	rs4747095	72183278	T/C	T	0.1371	0.2857	0.1486	8.37×10^{-5}	2.52 (1.58-4.00)
12	rs12426509	1227911	C/A	C	0.2886	0.4595	0.1708	7.17×10^{-5}	2.10 (1.43-3.07)
13	rs3935930	104499737	T/C	T	0.0121	0.0946	0.0825	6.64×10^{-5}	8.53 (2.51-29.02)
13	rs2225777	109477471	A/T	T	0.4677	0.6518	0.184	5.29×10^{-5}	2.13 (1.47-3.09)
13	rs1335807	109478945	A/G	G	0.4553	0.6384	0.1831	8.89×10^{-5}	2.11 (1.46-3.06)
13	rs1029204	109479213	T/C	C	0.4516	0.6339	0.1823	7.97×10^{-5}	2.10 (1.45-3.04)

Chr.	SNP	Posición	Alelos	Alelo de riesgo	FAR controles	FAR NIUA	ΔF	p-valor	OR (95% IC)
13	rs1335808	109486141	T/A	T	0.3952	0.5804	0.1852	4.26×10^{-5}	2.12 (1.47-3.06)
14	rs3784099	67819680	A/G	A	0.3252	0.5089	0.1837	7.1×10^{-5}	2.15(1.48-3.13)
14	rs8008961	67822396	A/G	A	0.2944	0.5045	0.2101	5.85×10^{-6}	2.44 (1.67-3.56)
14	rs4899241	67934064	T/C	T	0.2500	0.4286	0.1786	9.46×10^{-5}	2.25 (1.52-3.33)
20	rs6075630	20098027	T/C	T	0.1048	0.2589	0.1541	2.45×10^{-5}	2.98 (1.80-4.94)
20	rs6106205	20106867	C/T	C	0.1169	0.2723	0.1554	4.08×10^{-5}	2.83 (1.74-4.60)
22	rs2057204	47453489	A/G	A	0.1992	0.3645	0.1653	7.16×10^{-5}	2.31 (1.51-3.52)

Tabla 47: Resultados del estudio de asociación en la población Española. Chr.: cromosoma, F: frecuencia, FAR: frecuencia del alelo de riesgo, ΔF : diferencia de frecuencias.

De ellos, 30 marcadores se mantuvieron tras la validación con Sequenom, mostrando una tasa de concordancia por encima del 98%. Tras la validación de los SNP con sondas TaqMan, se identificaron tres clusters principales con más de un SNP localizado a 500 kb unos de otros (Tabla 47).

- El primer *locus*, compuesto por rs2249625 ($p= 5.30 \times 10^{-6}$) y rs2496515 ($p= 1.48 \times 10^{-5}$), está localizado en una región intrónica del gen de regulación de la exocitosis-1 de la membrana sináptica (*RIMS1*) en el cromosoma 6 (Figura 18);

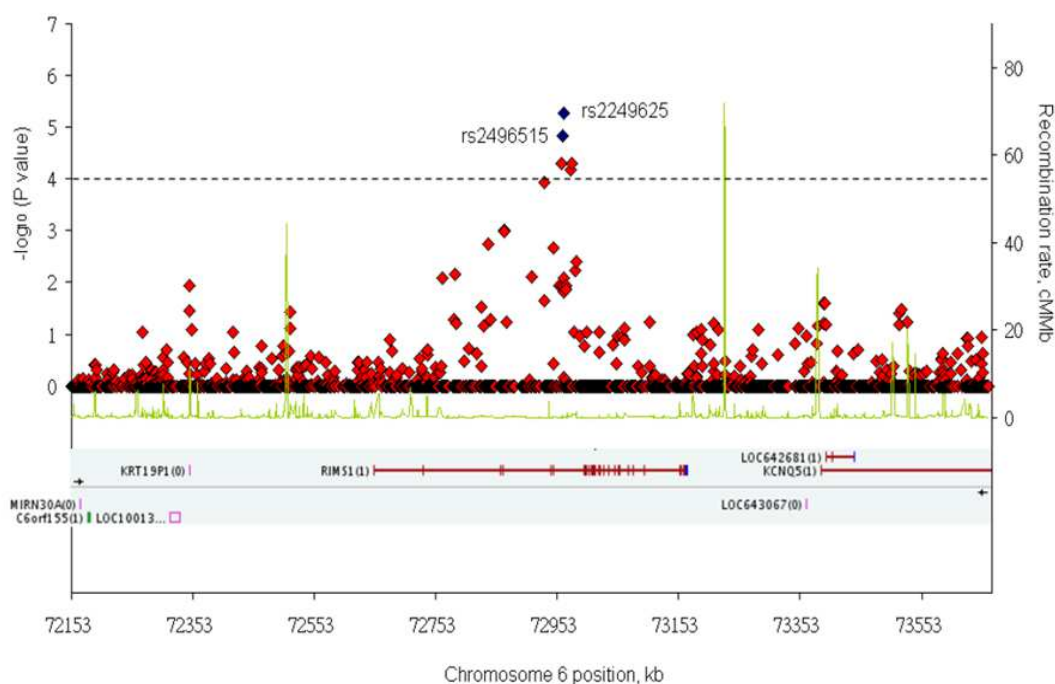


Figura 18: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *RIMS1* ordenados por posición cromosómica.

- el segundo locus contiene 3 SNP, rs282674 ($p = 1.17 \times 10^{-5}$), rs282673 ($p = 1.82 \times 10^{-5}$) y rs3125447 ($p = 4.77 \times 10^{-5}$). Se encuentra localizado aproximadamente a 40kb corriente abajo del gen de la proteína 1 de unión a RNA de la familia BicC (*BICC1*) en el cromosoma 10 (Figura 19);

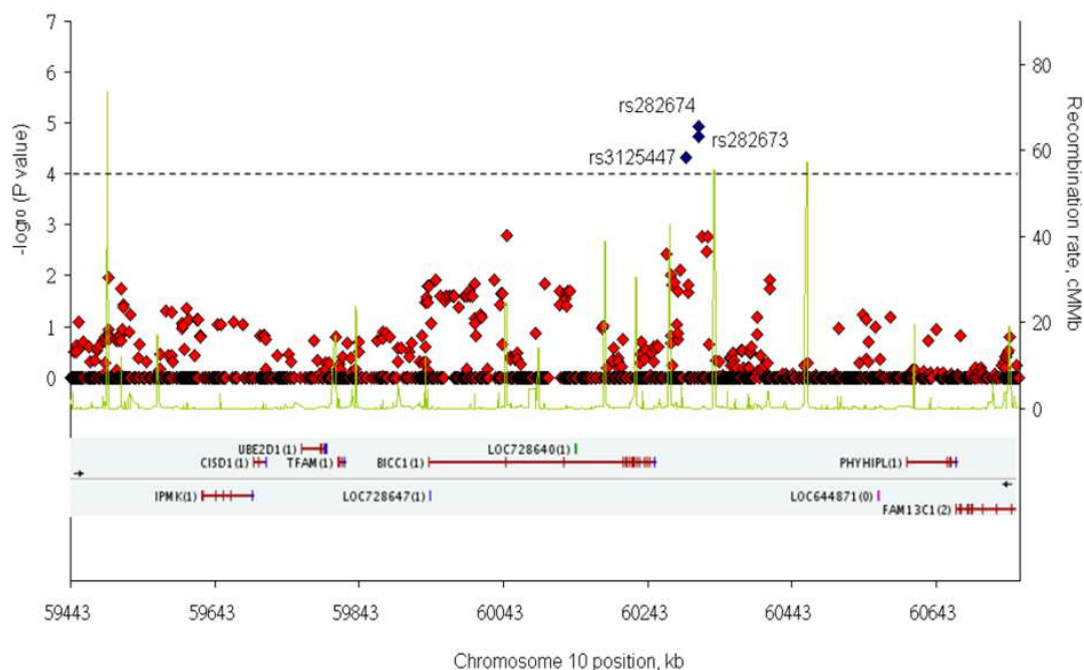


Figura 19: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *BICC1* ordenados por posición cromosómica.

- y el último *locus* consistió en dos SNP, rs8008961 ($p = 5.85 \times 10^{-6}$) y rs3784099 ($p = 7.10 \times 10^{-5}$) que se agrupan en los intrones del gen que codifica para el parálogo B de *RAD51* (*RAD51L1*) en el cromosoma 14 (Figura 20).

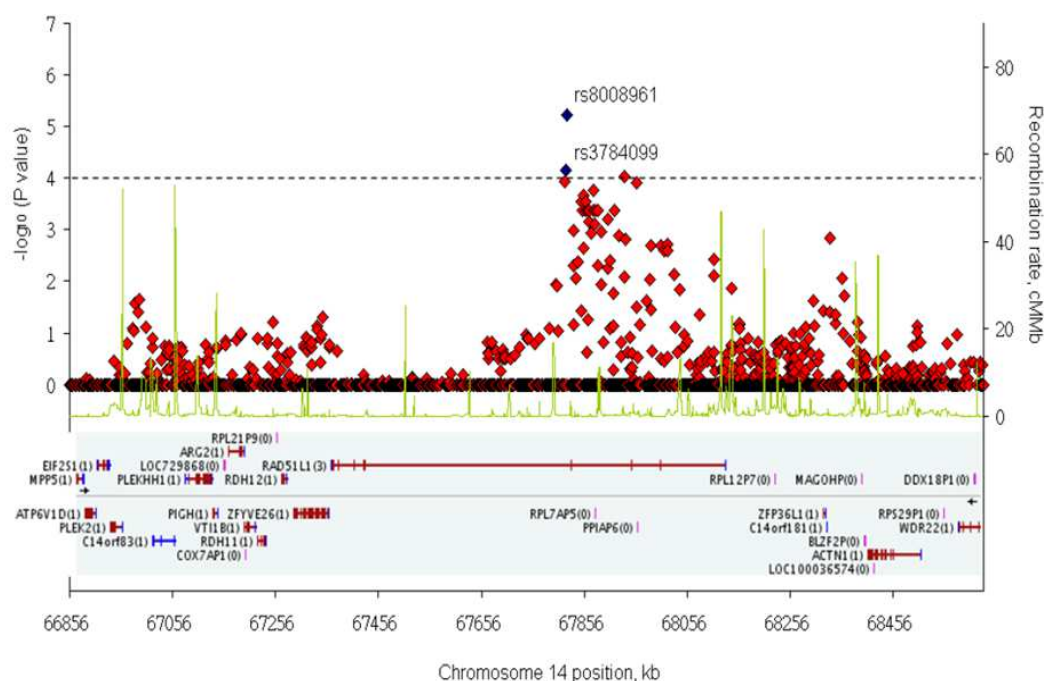


Figura 20: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *RAD51L1* ordenados por posición cromosómica.

Estos tres *loci* están localizados en regiones con alto desequilibrio de ligamiento (LD). Además de los *clusters* de SNP descritos antes, otros 5 SNP también presentaron asociación nominal:

- rs461409 ($p = 2.63 \times 10^{-6}$) que se localiza a 175 kb corriente abajo del dominio del miembro B de la familia RGM (*RGMB*) en el cromosoma 5;
- rs123533497 ($p = 1.04 \times 10^{-5}$) en el intrón 14 de la proteína quinasa 9 de anclaje A (*AKAP9*) en el cromosoma 7;
- rs9314462 ($p = 5.30 \times 10^{-5}$) corriente abajo del gen que codifica para el dominio múltiple de tipo CUB y sushi (*CSMD1*) en el cromosoma 8;
- rs9646303 ($p = 1.15 \times 10^{-5}$) en el intrón 3 del gen *ZCCHC14* que forma parte del dominio 14 de CCHC en el cromosoma 16;
- y rs11673496 ($p = 1.75 \times 10^{-5}$), 60 Kb corriente arriba del gen *ZNF492* en el cromosoma 19.

Excepto para rs6532150 y rs3935930 que presentaron OR superiores 8, todos los demás SNP identificados en este estudio mostraron efectos moderados, con OR entre 2-4 (Tabla 47).

Resultados del análisis de asociación en la población de chinos Han

En un total de 120 pacientes NIUA y 101 controles sanos, se llevaron a cabo los análisis de GWAS para la población de chinos de etnia Han (Figura 21).

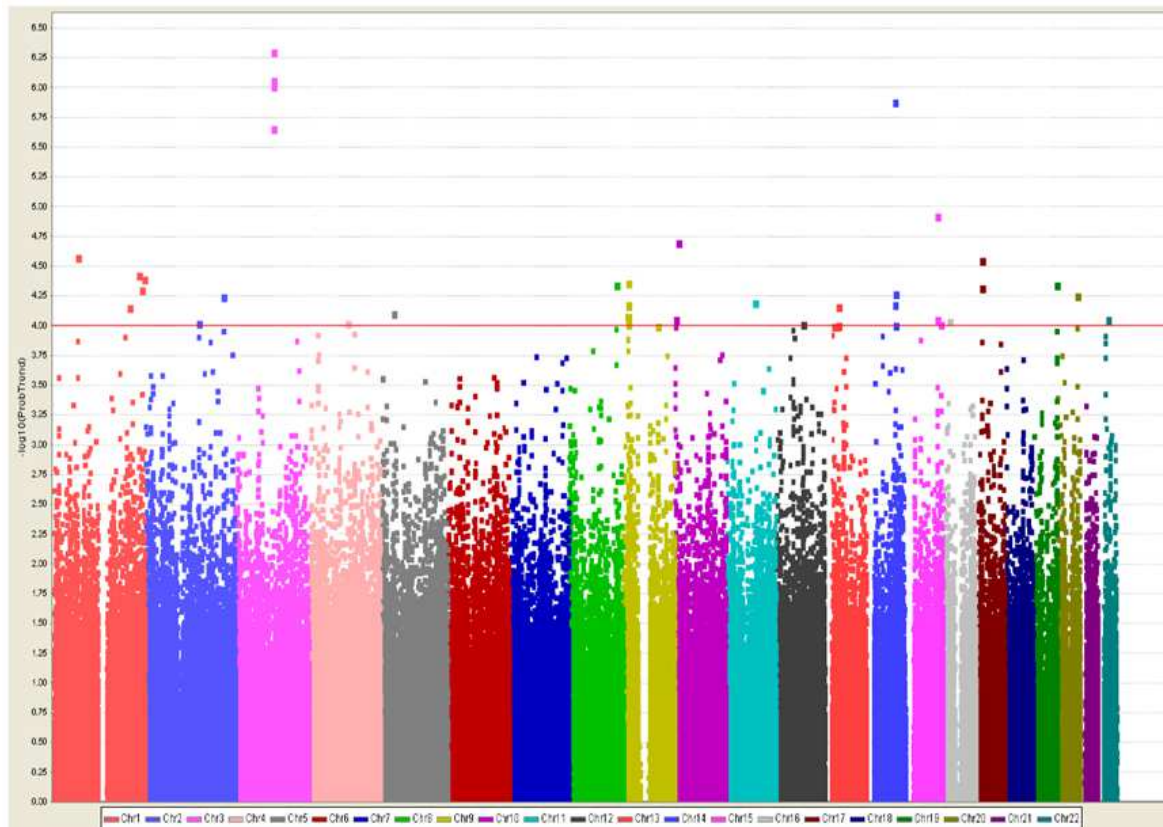


Figura 21: GWAS para NIUA en la población de Chinos Han. Los resultados expresados como p-valores en $-\log_{10}$ y ordenados en función del orden en los cromosomas, se muestran la figura. La línea horizontal indica p-valores de 10^{-4} .

Chr.	SNP	Posición	Alelos	Alelo de riesgo	FAR controles	FAR NIUA	ΔF	p-valor	OR (95% IC)
1	rs2503222	66291285	A/G	A	0.0396	0.1653	0.1257	2.58×10^{-5}	4.80 (2.19–10.52)
1	rs1500963	66302409	T/C	T	0.0396	0.1653	0.1257	2.58×10^{-5}	4.80 (2.19–10.52)
1	rs12028467	204126421	G/C	C	0.685	0.85	0.165	6.86×10^{-5}	2.61 (1.64–4.14)
1	rs1125642	231345972	G/A	G	0.1931	0.376	0.183	3.61×10^{-5}	2.52 (1.63–3.89)
1	rs12143400	238746293	A/G	G	0.6485	0.8058	0.1573	4.87×10^{-5}	2.25 (1.46–3.46)
1	rs1715794	243834835	G/A	G	0.2327	0.4215	0.1888	3.90×10^{-5}	2.40 (1.59–3.64)
2	rs4662366	144536527	C/T	T	0.6386	0.8042	0.1656	9.17×10^{-5}	2.32 (1.51–3.57)
2	rs17737064	211689706	A/T	A	0.2376	0.4256	0.188	5.54×10^{-5}	2.38 (1.57–3.59)
3	rs4928089	102054183	A/G	A	0.1683	0.3636	0.1953	2.12×10^{-6}	2.82 (1.80–4.44)
3	rs12330531	102071633	T/A	T	0.1683	0.3678	0.1995	9.38×10^{-7}	2.87 (1.83–4.52)
3	rs1116931	102072020	A/C	A	0.165	0.3667	0.2017	8.39×10^{-7}	2.93 (1.86–4.62)
3	rs9833094	102073615	T/C	T	0.1683	0.3739	0.2056	4.81×10^{-7}	2.95 (1.88–4.64)
4	rs890448	102651725	C/T	C	0.3564	0.5413	0.1849	9.28×10^{-5}	2.13 (1.45–3.13)
5	rs267759	36173377	T/C	C	0.604	0.7727	0.1688	7.58×10^{-5}	2.23 (1.48–3.37)
8	rs17330462	126680229	C/T	C	0.1238	0.2851	0.1614	4.37×10^{-5}	2.82 (1.71–4.67)
8	rs7017801	126681697	G/A	G	0.1238	0.2851	0.1614	4.37×10^{-5}	2.82 (1.71–4.67)
8	rs10956253	126683551	T/C	T	0.1238	0.2851	0.1614	4.37×10^{-5}	2.82 (1.71–4.67)
9	rs1853232	10471205	T/C	C	0.8119	0.9339	0.122	8.14×10^{-5}	3.27 (1.76–6.07)
9	rs2065746	11387008	A/C	A	0.395	0.5792	0.1842	6.46×10^{-5}	2.11 (1.44–3.09)
9	rs10809464	11398193	T/A	T	0.3861	0.5708	0.1847	6.59×10^{-5}	2.11 (1.44–3.10)
9	rs1335467	11409061	A/C	A	0.3911	0.5702	0.1792	9.42×10^{-5}	2.07 (1.41–3.02)
9	rs1335464	11413524	G/C	G	0.3911	0.5702	0.1792	9.42×10^{-5}	2.07 (1.41–3.02)
9	rs9406426	11427634	C/T	C	0.3911	0.5702	0.1792	8.02×10^{-5}	2.07 (1.41–3.02)

Chr.	SNP	Posición	Alelos	Alelo de riesgo	FAR controles	FAR NIUA	ΔF	p-valor	OR (95% IC)
9	rs6474695	12262803	T/C	C	0.4059	0.5992	0.1932	4.24×10^{-5}	2.19 (1.49–3.20)
9	rs290992	92601130	T/C	C	0.5792	0.7521	0.1729	9.83×10^{-5}	2.20 (1.47–3.30)
10	rs17156347	1468900	T/A	T	0.0792	0.2107	0.1315	8.52×10^{-5}	3.10 (1.71–5.64)
10	rs12774458	7663133	C/T	C	0.1337	0.3099	0.1763	1.92×10^{-5}	2.91 (1.79–4.74)
11	rs1938821	78593423	G/A	G	0.2673	0.4545	0.1872	6.21×10^{-5}	2.28 (1.53–3.41)
12	rs11610328	74211669	C/T	T	0.8564	0.9711	0.1146	9.48×10^{-5}	5.63 (2.41–13.15)
12	rs2700521	74255612	T/C	C	0.8564	0.9711	0.1146	9.48×10^{-5}	5.63 (2.41–13.15)
12	rs2054517	74277713	A/C	C	0.8564	0.9711	0.1146	9.48×10^{-5}	5.63 (2.41–13.15)
13	rs10507385	27894960	C/T	C	0.1337	0.3017	0.168	9.84×10^{-5}	2.80 (1.72–4.57)
13	rs12873765	38937652	C/T	C	0.3663	0.5496	0.1833	9.66×10^{-5}	2.11 (1.44–3.09)
13	rs10492737	38937812	C/T	C	0.3614	0.5496	0.1882	6.65×10^{-5}	2.16 (1.47–3.16)
13	rs10492736	38937932	T/C	T	0.3614	0.5496	0.1882	6.65×10^{-5}	2.16 (1.47–3.16)
13	rs10492735	38938036	A/G	A	0.3614	0.5496	0.1882	6.65×10^{-5}	2.16 (1.47–3.16)
13	rs10492734	38938314	C/T	C	0.3614	0.5496	0.1882	6.65×10^{-5}	2.16 (1.47–3.16)
14	rs9323624	75570056	G/A	A	0.6436	0.8388	0.1953	1.28×10^{-6}	2.88 (1.84–4.51)
14	rs8011069	75631071	T/C	C	0.7525	0.8967	0.1442	6.43×10^{-5}	2.86 (1.69–4.82)
14	rs1544623	78030008	G/A	A	0.4554	0.6446	0.1892	9.57×10^{-5}	2.17 (1.48–3.18)
14	rs10483907	78085918	A/G	G	0.495	0.6942	0.1992	5.22×10^{-5}	2.32 (1.57–3.41)
15	rs1353577	84664915	T/C	T	0.2871	0.4628	0.1757	8.59×10^{-5}	2.14 (1.44–3.18)
15	rs12437556	84665639	A/G	A	0.2376	0.4298	0.1921	1.17×10^{-5}	2.42 (1.60–3.65)
15	rs4310804	94659413	C/G	C	0.3416	0.5331	0.1915	9.34×10^{-5}	2.20 (1.50–3.23)
16	rs1391351	17084822	A/G	A	0.0297	0.1281	0.0984	8.93×10^{-5}	4.80 (1.96–11.75)
17	rs11652573	14482865	T/C	C	0.7376	0.8884	0.1508	2.73×10^{-5}	2.83 (1.70–4.71)

Chr.	SNP	Posición	Alelos	Alelo de riesgo	FAR controles	FAR NIUA	ΔF	p-valor	OR (95% IC)
17	rs16950131	14490367	A/G	G	0.7376	0.8843	0.1467	4.68×10^{-5}	2.72 (1.64–4.50)
19	rs917650	61623484	G/A	A	0.8168	0.9417	0.1248	4.37×10^{-5}	3.62 (1.90–6.91)
20	rs6069674	54264681	C/T	T	0.599	0.7769	0.1778	5.43×10^{-5}	2.33 (1.54–3.52)
22	rs12158991	26508948	A/G	A	0.0103	0.0965	0.0862	8.49×10^{-5}	10.25 (2.38–44.18)

Tabla 48: Resultados del estudio de asociación en la población de Chinos Han. Chr.: cromosoma, F: frecuencia, FAR: frecuencia del alelo de riesgo, ΔF : diferencia de frecuencias.

Como se muestra en la tabla 48, en esta población tampoco se identificó ningún polimorfismo que alcanzase la significación a nivel de genoma completo.

- Aunque, sí se detectó una región principal con 4 SNP, localizados a 500kb unos de otros (rs4928089, rs12330531, rs1116931 y rs9833094) con p-valores de significancia (2.1×10^{-6} , 9.4×10^{-7} , 8.4×10^{-7} , 4.8×10^{-7}) (Tabla 47). Estos SNP se sitúan en el intrón que codifica para el miembro 3 de la familia ABI de proteínas de unión (*ABI3BP*) en el cromosoma 3 (Figura 22).

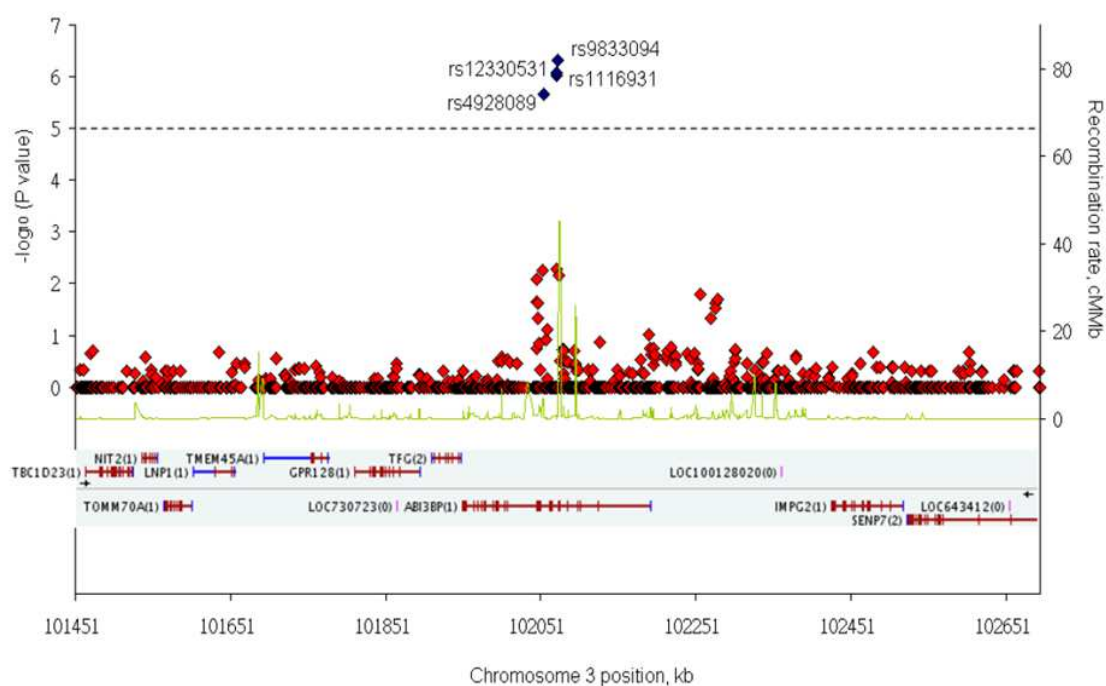


Figura 22: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *ABI3BP* ordenados por posición cromosómica.

Además de los anteriores SNP, algunas otras regiones han mostrado significación nominal.

- El primer *locus* contenía los SNP rs1500963 ($p = 2.58 \times 10^{-5}$) y rs2503222 ($p = 0.58 \times 10^{-5}$), ambos localizados en el intrón de la fosfodiesterasa 4B (*PDE4B*), un gen miembro de la familia PDE relacionado con el AMP cíclico situado en el cromosoma 1 (Figura 23);

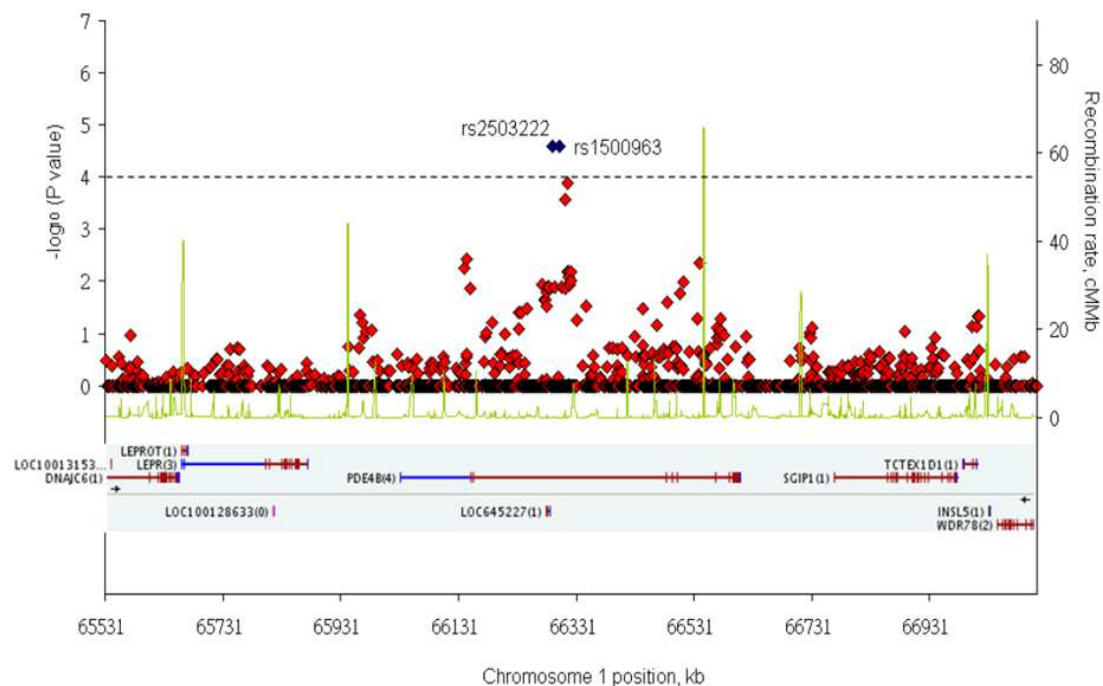


Figura 23: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para *PDE4B* ordenados por posición cromosómica.

- 3 SNP situados en el segundo *locus*, rs17330462 ($p = 4.37 \times 10^{-5}$), rs7017801 ($p = 4.37 \times 10^{-5}$) y rs10956253 ($p = 2.58 \times 10^{-5}$), localizados aproximadamente a 160kb corriente abajo de *TRIB1*, el cual codifica para una proteína inductora de un receptor asociado a proteína G, situado en el cromosoma 8;
- 5 SNP componen el tercer *locus*, rs10809464 ($p = 6.59 \times 10^{-5}$), rs1335464 ($p = 9.42 \times 10^{-5}$), rs1335467 ($p = 9.42 \times 10^{-5}$), rs2065746 ($p = 6.46 \times 10^{-5}$) y rs9406426 ($p = 8.02 \times 10^{-5}$) en el cromosoma 9 (Figura 24). Estos SNP no están localizados en ningún gen conocido o cerca;

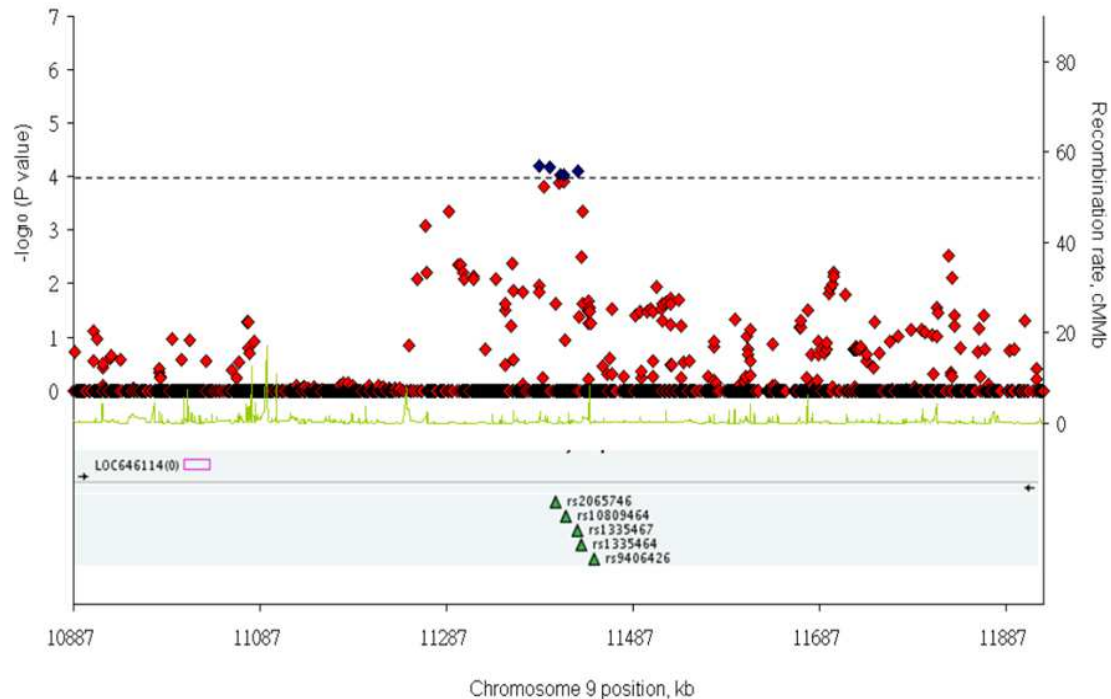


Figura 24: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 9, ordenados por posición cromosómica.

- 3 SNP en el cromosoma 12, rs11610328 ($p = 9.42 \times 10^{-5}$), rs2700521 ($p = 9.42 \times 10^{-5}$), rs2054517 ($p = 9.42 \times 10^{-5}$) localizados en una región intergénica;
- 5 SNP en LD completo en el cromosoma 13, rs12873765, rs10492737, rs10492736, rs10492735, y rs10492734 todos ellos con $p = 9.42 \times 10^{-5}$, localizados en los intrones del gen que codifica para la proteína HMGIC asociada a la fusión de los liposomas (*LHFP*);
- 2 SNP en el cromosoma 14, rs9323624 ($p = 1.28 \times 10^{-6}$) y rs8011069 ($p = 6.43 \times 10^{-5}$), localizado en el intrón del homólogo de transporte intraflagelar 43 (*IFT43*);

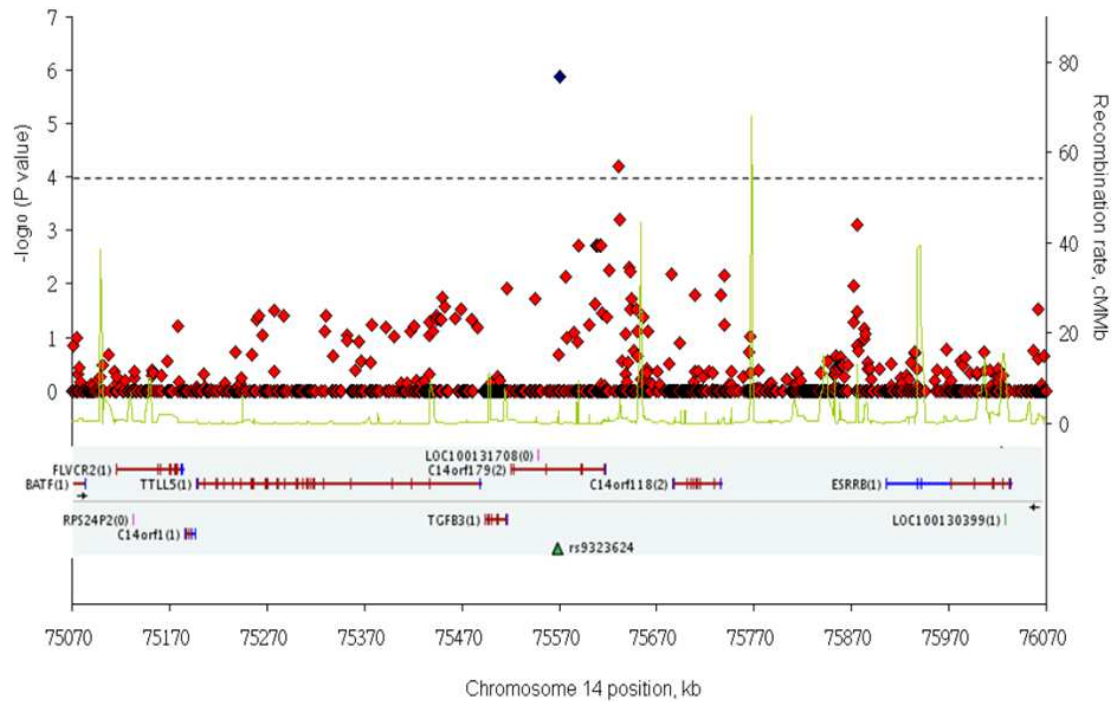


Figura 25: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 14, ordenados por posición cromosómica.

- 2 SNP en el cromosoma 15, rs1353577 ($p = 8.59 \times 10^{-5}$) y rs12437556 ($p = 1.17 \times 10^{-5}$), localizado en los intrones de la proteína de unión a ATP/GTP de tipo 1 (AGBL1);
- el último *loci* consiste en 2 SNP en el cromosoma 17, rs11652573 ($p = 2.73 \times 10^{-5}$) y rs16950131 ($p = 4.68 \times 10^{-5}$), localizados en una región intergénica.

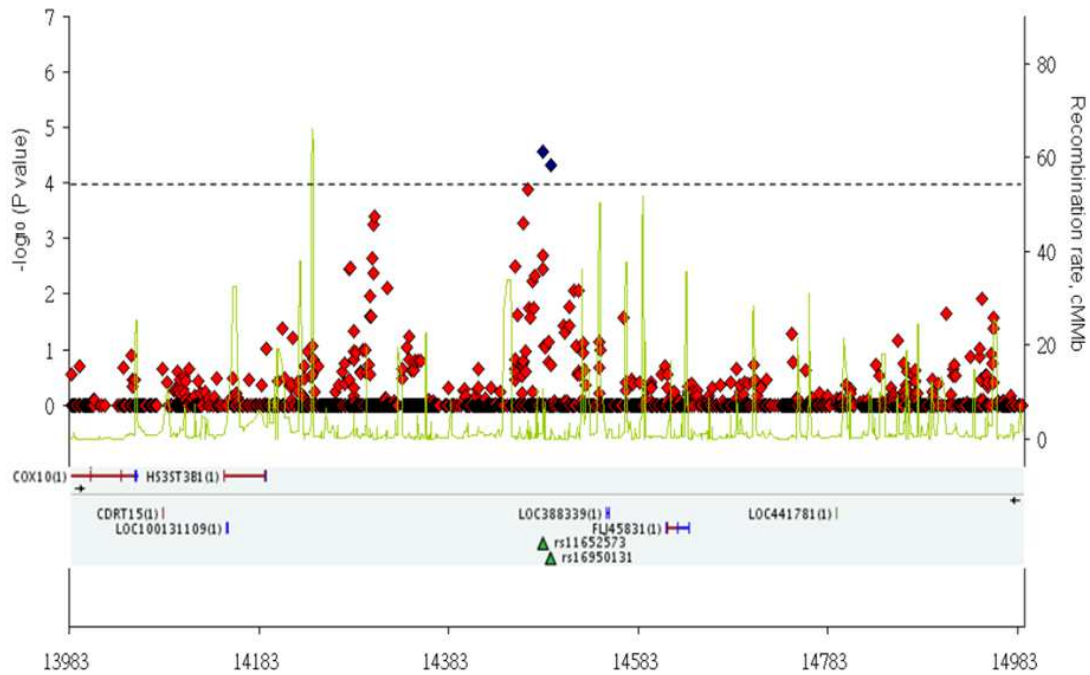


Figura 26: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el cromosoma 17, ordenados por posición cromosómica.

Estos *loci* están también localizados en regiones con alto LD.

El SNP rs12158991 tuvo un OR de 10.25. Además, tres SNP (rs11610328, rs2700521 y rs2054517) mostraron un OR de 5.63. Todos los demás SNP identificados en la población china de etnia Han tuvieron OR menores a 5 (Tabla 48).

Meta-análisis de las dos poblaciones

El meta-análisis se llevó a cabo mediante la combinación de los datos de GWAS de la población española y de chinos de etnia Han (Tabla 49).

Chr.	SNP	Posición	PtrendTaiwan	LogtrendTaiwan	PtrendSpain	LogtrendSpain	pmeta	Log pmeta
1	rs12064888	78578099	2.28×10^{-2}	1.64	1.70×10^{-4}	3.76	5.30×10^{-5}	4.28
1	rs10873740	86236850	6.24×10^{-3}	2.20	1.06×10^{-3}	2.98	8.52×10^{-5}	4.07
1	rs11161717	86237569	6.24×10^{-3}	2.20	1.06×10^{-3}	2.98	8.52×10^{-5}	4.07
1	rs17643861	183706798	5.10×10^{-3}	2.29	1.06×10^{-3}	2.98	7.09×10^{-5}	4.15
1	rs1324713	193643558	1.20×10^{-4}	3.92	1.20×10^{-2}	1.92	2.09×10^{-5}	4.68
1	rs6702266	193643595	1.20×10^{-4}	3.92	2.17×10^{-2}	1.66	3.65×10^{-5}	4.44
1	rs1125642	231345972	4.00×10^{-5}	4.44	2.12×10^{-1}	0.67	9.76×10^{-5}	4.01
1	rs1715794	243834835	4.00×10^{-5}	4.41	3.08×10^{-2}	1.51	1.75×10^{-5}	4.76
2	rs10171541	4322116	4.23×10^{-2}	1.37	1.20×10^{-4}	3.91	6.88×10^{-5}	4.16
2	rs13430861	50181879	1.05×10^{-2}	1.98	4.10×10^{-4}	3.39	5.70×10^{-5}	4.24
2	rs17039291	50183822	1.17×10^{-2}	1.93	5.60×10^{-4}	3.25	8.47×10^{-5}	4.07
2	rs7606758	50211238	1.52×10^{-2}	1.82	3.60×10^{-4}	3.45	7.14×10^{-5}	4.15
2	rs13008902	50212179	1.52×10^{-2}	1.82	1.80×10^{-4}	3.76	3.68×10^{-5}	4.43
2	rs7565078	154597766	2.32×10^{-3}	2.63	1.41×10^{-3}	2.85	4.47×10^{-5}	4.35
2	rs12693918	154670000	2.14×10^{-3}	2.67	3.57×10^{-3}	2.45	9.75×10^{-5}	4.01
3	rs4928089	102054183	2.12×10^{-6}	5.67	4.28×10^{-1}	0.37	1.35×10^{-5}	4.87
3	rs12330531	102071633	9.38×10^{-7}	6.03	1.87×10^{-1}	0.73	2.90×10^{-6}	5.54
3	rs1116931	102072020	8.39×10^{-7}	6.08	2.22×10^{-1}	0.65	3.07×10^{-6}	5.51
3	rs9833094	102073615	4.81×10^{-7}	6.32	1.82×10^{-1}	0.74	1.51×10^{-6}	5.82
4	rs890448	102651725	9.00×10^{-5}	4.03	5.60×10^{-3}	2.25	8.04×10^{-6}	5.09
4	rs10780063	181547198	3.13×10^{-3}	2.5	7.90×10^{-4}	3.10	3.46×10^{-5}	4.46
5	rs11748700	15776346	4.50×10^{-4}	3.34	3.65×10^{-3}	2.44	2.37×10^{-5}	4.63
5	rs4289558	15788014	4.50×10^{-4}	3.34	8.26×10^{-3}	2.08	5.05×10^{-5}	4.3

Chr.	SNP	Posición	PtrendTaiwan	LogtrendTaiwan	PtrendSpain	LogtrendSpain	pmeta	Log pmeta
6	rs2496515	72962462	2.84×10^{-1}	0.55	1.00×10^{-5}	4.83	5.63×10^{-5}	4.25
6	rs2249625	72963474	2.84×10^{-1}	0.55	1.00×10^{-5}	5.28	2.17×10^{-5}	4.66
6	rs2754273	88490584	5.15×10^{-3}	2.29	1.22×10^{-3}	2.91	8.17×10^{-5}	4.09
6	rs1001859	132887621	2.33×10^{-3}	2.63	3.15×10^{-3}	2.50	9.42×10^{-5}	4.03
9	rs6474695	12262803	4.00×10^{-5}	4.37	1.03×10^{-1}	0.99	5.79×10^{-5}	4.24
10	rs11257350	11914760	2.05×10^{-3}	2.69	1.61×10^{-3}	2.79	4.50×10^{-5}	4.35
10	rs282674	60313342	4.51×10^{-1}	0.35	1.00×10^{-5}	4.93	6.92×10^{-5}	4.16
11	rs2199021	80659680	3.78×10^{-3}	2.42	9.40×10^{-4}	3.03	4.79×10^{-5}	4.32
14	rs7148416	67817621	9.92×10^{-3}	2.00	1.20×10^{-4}	3.92	1.74×10^{-5}	4.76
14	rs3784099	67819680	2.19×10^{-2}	1.66	7.00×10^{-5}	4.15	2.23×10^{-5}	4.65
14	rs9323624	75570056	1.28×10^{-6}	5.89	5.84×10^{-2}	1.23	1.30×10^{-6}	5.88
14	rs6575330	92909946	2.92×10^{-3}	2.53	2.51×10^{-3}	2.60	9.40×10^{-5}	4.03
15	rs12437556	84665639	1.00×10^{-5}	4.93	5.91×10^{-1}	0.23	8.91×10^{-5}	4.05
17	rs4617927	50711125	1.72×10^{-3}	2.77	1.50×10^{-4}	3.82	4.22×10^{-6}	5.38
17	rs1477141	50716837	9.55×10^{-3}	2.02	4.50×10^{-4}	3.34	5.79×10^{-5}	4.24
20	rs6075630	20098027	7.65×10^{-2}	1.12	2.00×10^{-5}	4.61	2.66×10^{-5}	4.57
20	rs6106205	20106867	7.65×10^{-2}	1.12	4.00×10^{-5}	4.39	4.27×10^{-5}	4.37
20	rs6094118	43326996	1.00×10^{-3}	3.00	7.30×10^{-4}	3.14	1.11×10^{-5}	4.96

Tabla 49: Resultados del meta-análisis realizado con los datos obtenidos de los GWAS realizado con las poblaciones Española y de chinos Han.

Tras este análisis destacaron una serie de regiones que presentaron incrementos en el p-valor con respecto a los p-valor obtenidos en las poblaciones de forma individual. Todas ellas se detallan a continuación:

- Esta región contiene 2 SNP (rs4617927 y rs1477141) que alcanzaron la significación nominal ($p = 4.21 \times 10^{-6}$ y $p = 5.79 \times 10^{-5}$, respectivamente). Estos SNP están localizados en los intrones del factor de leucemia hepática (*HLF*), que se sitúa en el cromosoma 17 (Figura 27).

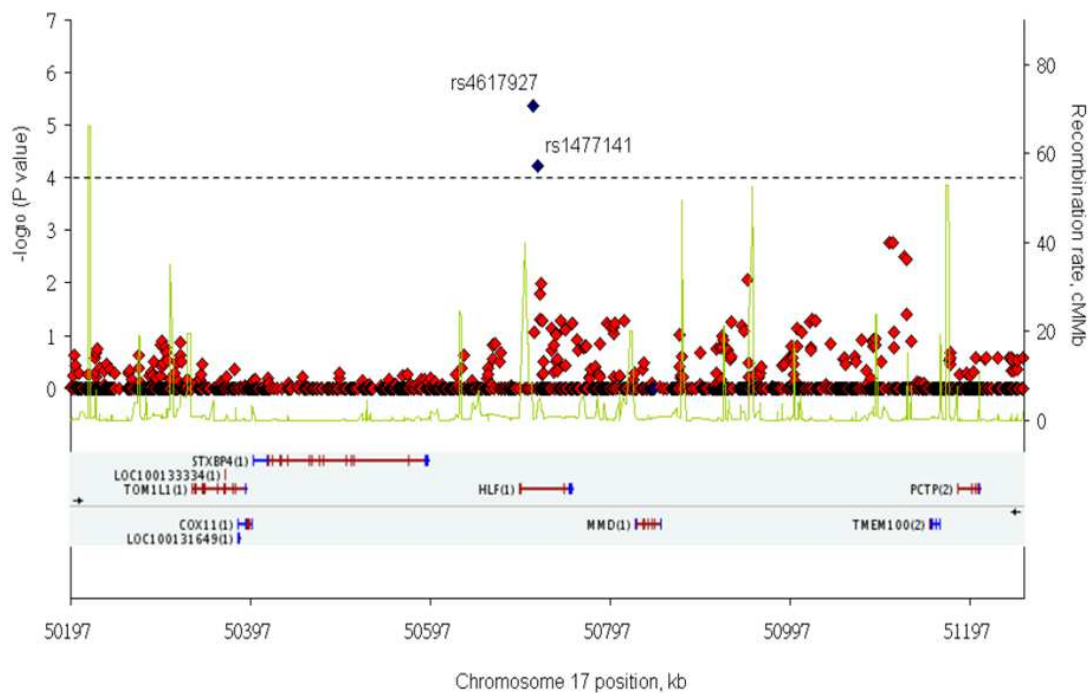


Figura 27: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *HLF*, ordenados por posición cromosómica.

- Otras regiones incluyen: 2 SNP, rs7148416 y rs3784099, en *RAD51L1* ($p = 4.74 \times 10^{-5}$ y $p = 2.23 \times 10^{-5}$, respectivamente);

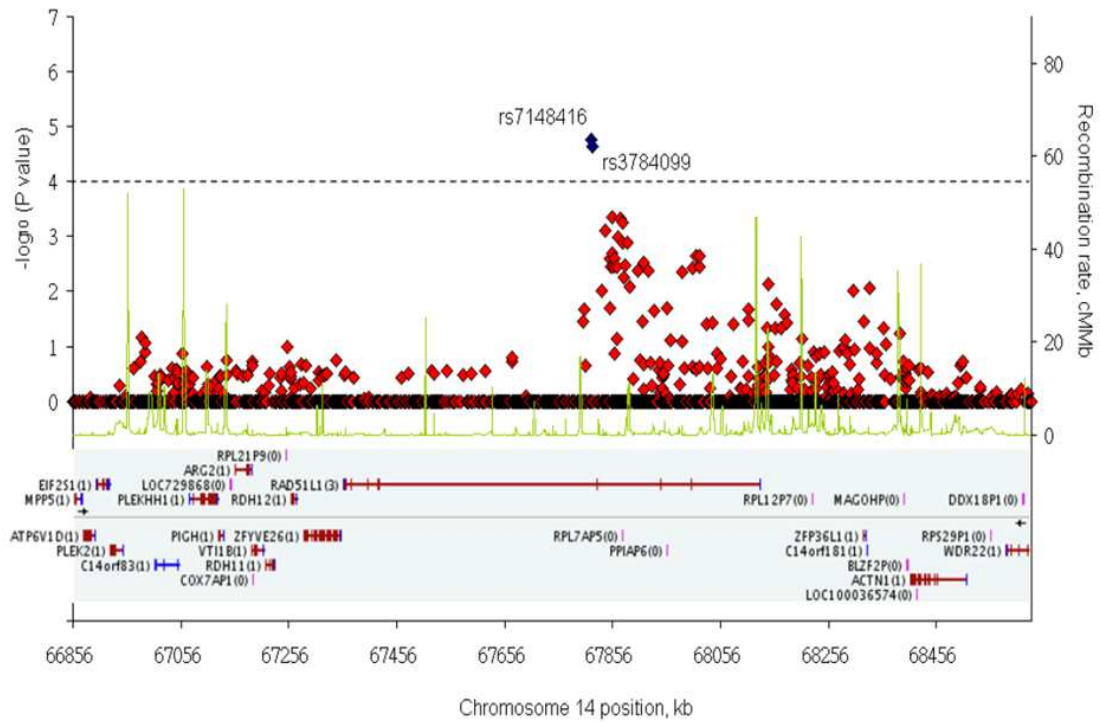


Figura 28: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *RAD51L1*, ordenados por posición cromosómica.

- los SNP rs10873740 y rs11161717 ($p = 8.52 \times 10^{-5}$ para ambos SNP) localizados en el intrón del gen colágeno alfa 1 tipo XXIV (*COL24A1*);

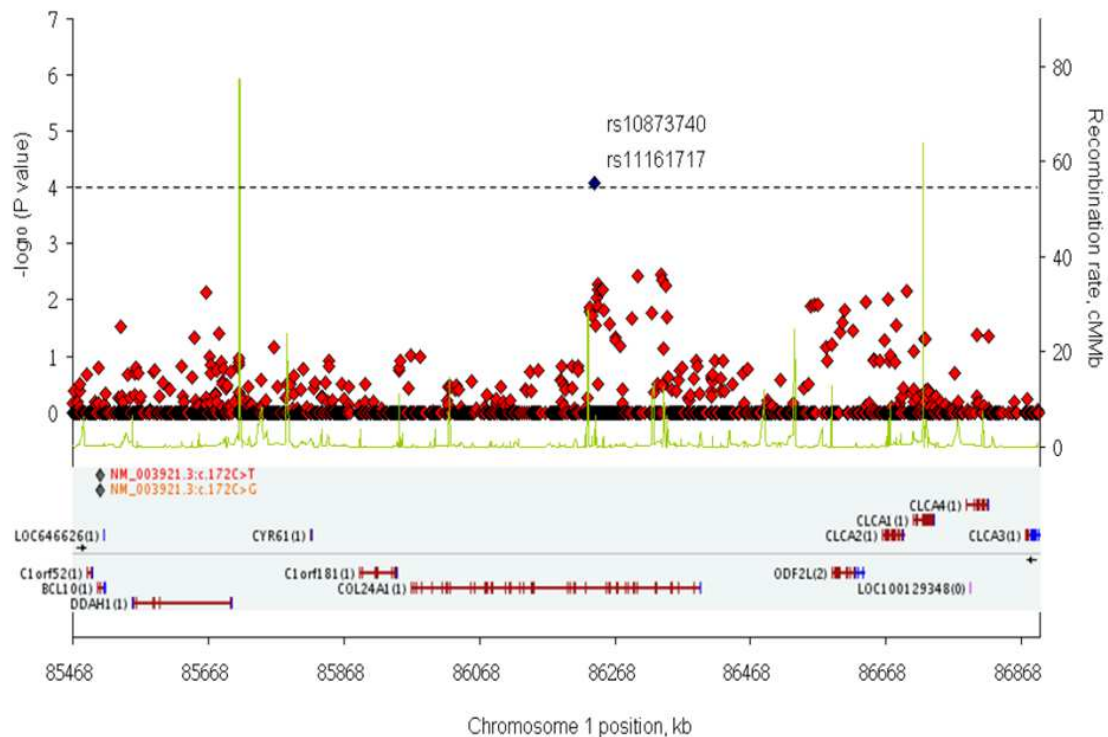


Figura 29: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *COL24A1*, ordenados por posición cromosómica.

- otros 2 SNP (rs1324713 y rs6702266) situados en regiones intergénicas en el cromosoma 1 también mostraron significación nominal ($p = 2.09 \times 10^{-5}$ y $p = 3.65 \times 10^{-5}$, respectivamente);
- 2 SNP (rs7565078 y rs12693918) en el gen que codifica para la UDP-N-acetil-alfa-D-galactosamina: polipéptido Nacetilgalactosaminiltransferasa 13 (*GaINAc-T13*) en el cromosoma 2 con p valores de $p = 4.47 \times 10^{-5}$ y $p = 9.75 \times 10^{-5}$, respectivamente;

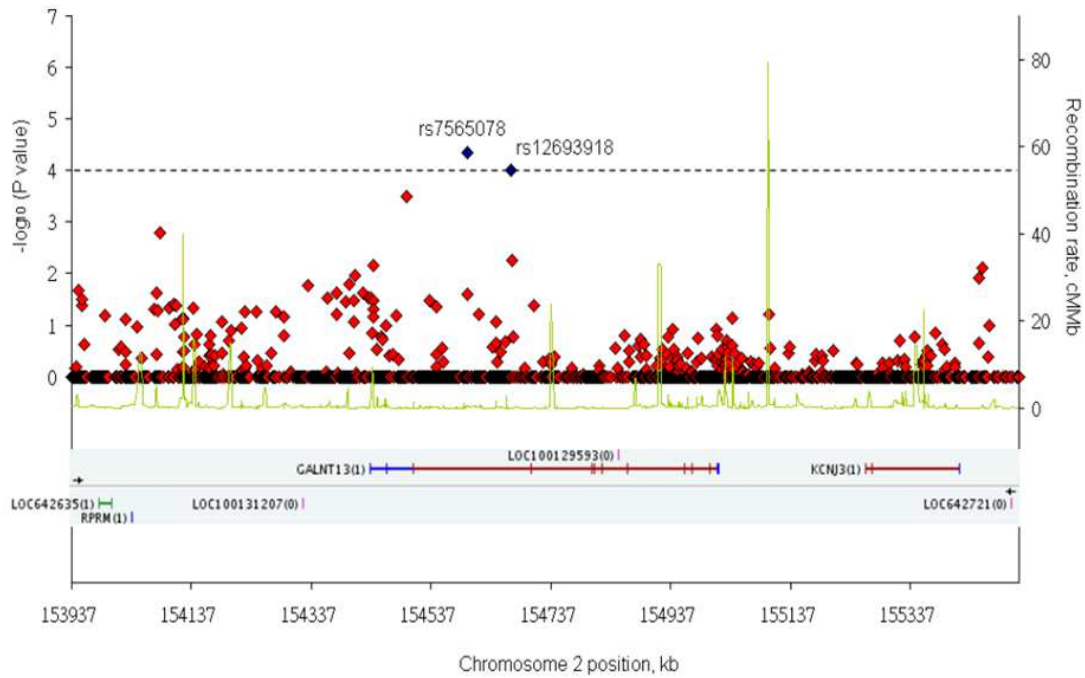


Figura 30: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *GalNAc-T13*, ordenados por posición cromosómica.

- por último, 2 SNP (rs11748700 y rs4289558) en el gen *FBXL7*, localizado en el cromosoma 5, con p -valores de $p = 2.37 \times 10^{-5}$ y $p = 5.05 \times 10^{-5}$, respectivamente (Figura 31).

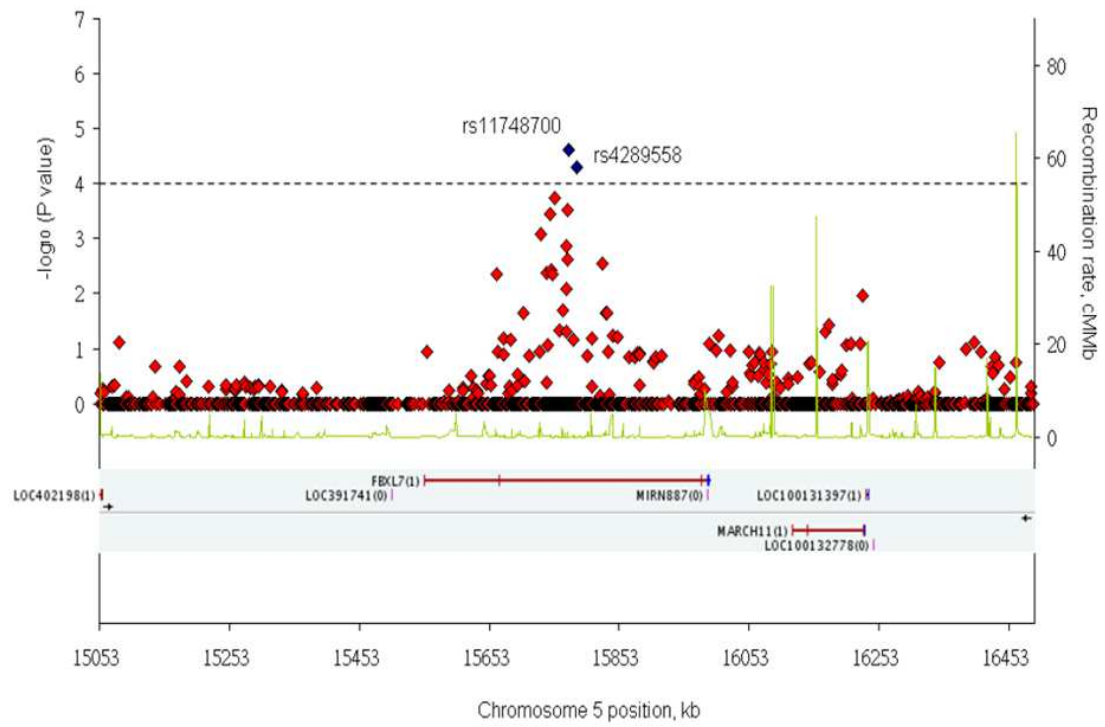


Figura 31: P-valores obtenidos de los resultados de asociación de los SNP estudiados para el gen *FBXL7*, ordenados por posición cromosómica.

Discusión



Los AINE son los medicamentos más prescritos para el tratamiento del dolor, la fiebre y la inflamación en el mundo. De tal modo que, diez millones de individuos consumen dichos medicamentos diariamente [15]. No obstante, su uso no está libre de riesgo, ya que son los principales causantes de las reacciones de hipersensibilidad a fármacos [23].

La hipersensibilidad a los AINE es una enfermedad compleja que se desarrolla tras la ingesta de dichos medicamentos. Se puede manifestar de diferentes formas clínicas, aunque todas ellas se pueden clasificar en 5 entidades diferentes [28]. De estas, destacan las reacciones NERD y NIUA. Estas reacciones están atribuidas a un mecanismo de IC. Los estudios funcionales y mecanicistas *in vitro* son difíciles de llevar a cabo en estas reacciones debido a las limitaciones técnicas que se encuentran hoy en día [39]. Por otro lado, los estudios de asociación genética, la mayoría de ellos enfocados en variaciones en genes relacionados con el metabolismo del AA y pacientes NERD, han permitido avanzar en el conocimiento de este tipo de reacciones de hipersensibilidad [214]. Sin embargo, para profundizar más en el conocimiento de estas reacciones y dilucidar los mecanismos moleculares que subyacen a esta patología, es de vital importancia la combinación tanto de estudios fenotípicos exhaustivos que incluyan perfiles de mediadores inflamatorios como de estudios genéticos.

Análisis del perfil de mediadores inflamatorios derivados de la vía del ácido araquidónico

El mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad a AINE atribuidas a un mecanismo de IC ha sido tradicionalmente asociado con un desbalance en la vía del AA.

El modelo más ampliamente estudiado ha sido el de los pacientes NERD, en ellos se ha descrito que la producción de PGE₂ está disminuida [91]. Dicho déficit de PGE₂ puede ayudar a explicar la sobreproducción de LT observada en estos pacientes ya que esta PG bloquea a la 5-LOX [52]. Este hecho ha sido documentado por muchos estudios en los que los pacientes NERD muestran un incremento en las concentraciones de LTE₄ en orina tanto a nivel basal [103-104], como después de una provocación con ASA [105-106], comparado con los controles sanos y/o ATA (Tabla 7). Estos valores anormales en

los niveles de LT concuerdan con la existencia de un elevado porcentaje de mastocitos y eosinófilos positivos para 5-LOX en biopsias bronquiales de NERD [215] y un aumento de la expresión de *LTC4S* en la mucosa bronquial de pacientes NERD [216]. Este hecho, no es un fenómeno que esté restringido a las vías respiratorias, sino que células circulantes en sangre, como los eosinófilos, también expresan más RNA mensajero para dicha enzima [123,125]. Además, hay estudios que han mostrado variaciones genéticas en los genes relacionados con el metabolismo de eicosanoides asociadas con el fenotipo NERD [140]. Igualmente, aunque las evidencias para NECD son muy limitadas, algunos estudios han mostrado una sobreproducción de PGD₂ y LT similar a las encontradas en NERD [105,108] que también se han asociado con variantes genéticas localizadas en genes implicados en el metabolismo del AA [217]. En lo que respecta a NIUA, este es el primer trabajo que analiza el perfil de excreción de mediadores eicosanoicos en muestras de orina [23].

Nuestros resultados muestran diferencias en el perfil de excreción de eicosanoides entre NERD y NIUA. Estas diferencias están caracterizadas por una hiperleucotrienuria basal para NERD que se ve agravada con la excreción de LTE₄ tras la provocación nasal y además, está acompañada por un incremento en 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂. Estos resultados de LTE₄ están en concordancia con lo descrito anteriormente para pacientes NERD (Tabla 7). Mientras que 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂ es un metabolito primario derivado de la PGE₂ que se forma por la modificación enzimática de la enzima 15-hidroxi PGDH y la 15-oxo-PG Δ^{13} -reductasa y principalmente se localiza en el plasma [218]. 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂ fue analizado en pacientes con dermatitis atópica, pero no se hallaron diferencias estadísticamente significativas que indicasen que estaba relacionado con la patología [219]. En individuos sanos, su producción se reduce a medida que aumenta la concentración del AINE [220]. Sin embargo, esto no es lo que ocurre en nuestro estudio, lo cual da indicios de que existe alguna alteración en la vía del AA en los pacientes NERD.

Además, describimos por primera vez que los pacientes NIUA presentan valores basales normales de LTE₄ en orina, a diferencia de los pacientes NERD [221] y de los NECD [105]. En pacientes NIUA, durante la provocación oral se produce un incremento en 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor-PGE₂ y un descenso en el isoprostano iPF_{2 α} -VI. El

primero es un metabolito derivado de 13,14-dihidro-15-ceto-PGE₂, mientras que el segundo es un producto derivado de la vía oxidativa no enzimática del AA [222-223]. El isoprostano iPF_{2α}-VI es un mediador lipídico producido durante un daño oxidativo [224]. Recientes estudios han mostrado relación entre el estrés oxidativo y la patogénesis de la urticaria aguda [225]. En nuestros pacientes, se observa un aumento de la concentración de este mediador en las primeras horas tras la ingesta del AINE, que luego es seguida por un descenso significativo de dicho mediador. Este hecho indica que se produce un estrés oxidativo en la célula, y que al estar bloqueada la vía enzimática, la sobreproducción de AA deriva en la formación de isoprostanos [224]. Por otro lado, el papel que puede tener el hecho de una rápida eliminación del isoprostano en el desarrollo de NIUA queda por determinar.

Estos resultados concuerdan con los datos de *Campo et al.*, mostrando que puede haber diferentes vías en NERD y NIUA implicadas en el desarrollo de la hipersensibilidad a AINE [109]. El análisis de un mayor número de pacientes podría ayudar a la confirmación de estos datos preliminares, así como la mejora en el conocimiento de los mecanismos implicados en esta patología.

Análisis de asociación entre pacientes NERD y una serie de SNP y CNV de genes implicados en la vía del ácido araquidónico

La patología NERD ha sido el modelo más estudiado de la hipersensibilidad a los AINE, con un extenso número de estudios de asociación de variantes genéticas publicados durante los últimos años. Estos estudios se han centrado fundamentalmente en genes de la vía del AA [140]. Sin embargo, muchos de ellos han sido inconsistentemente replicados y el número de variantes genéticas estudiadas era limitado [140].

En este estudio, se amplió el número de genes y de SNP analizados, así como el número de pacientes. Como resultado, encontramos asociaciones significativas entre NERD y un número de SNP de genes relacionados con la vía del AA, entre los que se incluye *ALOX15* y *PTGS1*. Además, la frecuencia del haplotipo [T-G] del gen *ALOX15*

mostró diferencias estadísticamente significativas entre NERD, ATA y los controles sanos.

Estos genes son importantes en los primeros pasos del metabolismo del AA (Figura 4). Los derivados del AA pueden ser metabolizados por diferentes rutas incluyendo las lipoxigenasas (5-LOX, 15-LOX and 12-LOX), ciclooxigenasas (PTGS1 y PTGS2), citocromo oxidasa y vías no enzimáticas [226].

Con respecto a la vía de las lipoxigenasas, *ALOX15* codifica para la 15-lipoxigenasa (15-LOX), una metaloenzima que une hierro y cataliza la generación de eoxinas proinflamatorias y la lipoxina 15-HETE [227-228]. 15-HETE es un precursor de las lipoxinas activas, cuya función es actuar como antagonistas funcionales de los LT [229]. En presencia de L-ASA, los eosinófilos de pacientes NERD se activan generando niveles elevados de lipoxina 15-HETE y eoxina EXC₄ [230]. Además, estos pacientes presentan mayores niveles de 15-HETE exhalado en comparación con los ATA [231]. Así, la activación de 15-LOX por ASA parece ser un importante paso en la generación de 15-HETE en los pacientes NERD [232]. Por otro lado, 15-LOX cataliza la principal ruta de síntesis de resolvinas, que son mediadores lipídicos caracterizados por sus propiedades antiinflamatorias e inmunoreguladoras [233-234]. Además, bajo el tratamiento con ASA, la enzima COX-2 aumenta la síntesis de resolvinas [235]. En este contexto, los SNP en *ALOX15* podrían actuar modulando la generación de eicosanoides en pacientes NERD. En este trabajo se ha encontrado una asociación entre NERD y el polimorfismo rs3892408 en *ALOX15*, este SNP da lugar a un cambio de aminoácido no sinónimo, Val239Met; localizado en un dominio de unión a metales de la proteína (referencia=<Http://Www.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/Protein/126396>, (March 2014). Futuros estudios funcionales podrían revelar cómo una menor frecuencia, en los pacientes NERD, del alelo T para el SNP rs3892408 (*ALOX15*) influiría en el mecanismo de NERD.

Recientemente, el haplotipo compuesto por varios polimorfismos localizados en la región promotora de *ALOX15* se ha asociado con pacientes NERD coreanos y con un incremento en el infiltrado de eosinófilos en estos pacientes [128]. Sin embargo, hasta donde sabemos, éste es el primer estudio que muestra una asociación entre el polimorfismo no sinónimo rs3892408 en el gen *ALOX15* con NERD.

Aunque algunos SNP estudiados en *ALOX5AP*, *ALOX5* y *ALOX12* han sido asociados previamente con la rinosinusitis crónica y/o asma [236-237], en este estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre NERD, ATA e individuos sanos.

Con respecto a la vía de la ciclooxigenasa, *PTGS1* codifica para la enzima PTGS1 que cataliza la conversión de AA en PG, prostaciclina y TX. Los AINE inhiben esta actividad provocando una sobreproducción de LT en los pacientes NERD, lo cual es considerado como el detonador de la hipersensibilidad a AINE [81]. La isoforma PTGS1 se expresa de forma constitutiva en la mayoría de los tejidos involucrados en procesos de homeostasis [238]. A pesar de esto, algunos estudios han encontrado pequeños incrementos de expresión de dicho gen bajo condiciones inflamatorias [239]. Además, en células del epitelio bronquial de pacientes NERD, se ha encontrado un descenso de la expresión de PTGS1 [240]. Adicionalmente, se ha sugerido que una alteración en la regulación de *PTGS1* en pólipos nasales de pacientes NERD puede contribuir a los bajos niveles de PGE₂ detectados en estos pacientes [241]. Hay que añadir, que la vía de la ciclooxigenasa da lugar a la formación de otras PG. Así, se han descrito elevadas concentraciones de PGD₂ en esputos de pacientes NERD comparado con ATA y controles sanos [103]. Por lo tanto, los SNP de *PTGS1* podrían contribuir al mecanismo patológico de NERD. En este estudio, describimos una asociación del polimorfismo rs10306135 con NERD. Este SNP se localiza cerca de la región promotora de *PTGS1*, y por lo tanto es susceptible de afectar a la expresión génica [242]. Para el polimorfismo rs5789 de *PTGS1*, se encontró que el alelo C es menos frecuente en pacientes NERD que en ATA y controles sanos. Este alelo ha sido relacionado con una disminución de la función enzimática [243]. Por lo tanto, estos polimorfismos podrían conducir a una alteración en la función de PTGS1 en los pacientes NERD, que podría a su vez, contribuir al desbalance de eicosanoides de dichos pacientes.

Los LT contribuyen a la inflamación y son causantes de los síntomas que caracterizan a los pacientes NERD [28]. Por ello, en este trabajo analizamos diferentes polimorfismos en los genes *LTC4S*, *CYSLTR1* y *CYSLTR2*. Aunque el SNP rs730012 en *LTC4S* ha sido asociado previamente con NERD tanto en población polaca como japonesa [122,125], no encontramos esa asociación en nuestra población de estudio, al igual que ha

ocurrido en otros estudios llevados a cabo en diferentes grupos étnicos [119,126]. Los efectos de los LT pueden ser modulados por las variaciones genéticas en sus receptores. Así, el polimorfismo rs912278 en *CYSLTR2*, que afecta a la transcripción y estabilidad del RNA mensajero *CYSLTR2*, se ha asociado con NERD en población coreana [120]. Sin embargo, no encontramos esta asociación en nuestro estudio.

Con respecto a los receptores de PG, se han detectado asociaciones con variantes en *PTGER2*, *PTGER3* y *PTGER4* en población japonesa y coreana [130-131,244]. En este trabajo se analizaron estos SNP y otros polimorfismos funcionales [245-247], pero no encontramos asociación con nuestra población. Considerando el SNP rs3753380 de *PTGFR*, se detectó que el alelo T era más frecuente en pacientes NERD. Este alelo está relacionado con una disminución en la actividad transcripcional del gen *PTGFR* [247]. Sin embargo, cuando se realizó un ajuste con un test de comparaciones múltiples, esta asociación dejó de ser estadísticamente significativa.

Finalmente, se analizaron los CNV en *PTGS1-2*, *LTC4S*, *ALOX5* y *PTGER1-4*. Por lo que sabemos, esta es la primera vez que se han estudiado CNV en genes de la vía del AA en pacientes con hipersensibilidad a AINE. Se encontró una asociación entre CNV en *ALOX5* y NERD. *ALOX5* cataliza la producción de LT y LX, por lo que podría tener un papel central en la patogénesis de NERD [229]; sin embargo, son necesarios más estudios para investigar el potencial efecto funcional de la pérdida de una copia de esta región de *ALOX5*.

Las asociaciones que hemos descrito entre SNP en genes de la vía del AA y NERD, en cierta medida difieren a las previamente descritas en pacientes NIUA españoles. Aunque, si estas diferencias genéticas entre NERD y NIUA pueden corresponderse con variaciones en los mecanismos de ambas entidades, es algo que debemos seguir estudiando [141].

Análisis de asociación entre CNV localizados en genes de la vía del ácido araquidónico y NIUA

NIUA es la entidad clínica más frecuente de las reacciones de hipersensibilidad inducidas por AINE [3]. Aunque el mecanismo involucrado en el desarrollo de NIUA no ha sido totalmente caracterizado, se piensa que en él está involucrada una desregulación de la vía del AA [28]. Para explorar las bases genéticas de esta entidad clínica, llevamos a cabo un estudio de asociación génica de tipo caso-control en el que analizamos CNV con potenciales efectos en 8 genes involucrados en la vía del AA en pacientes con NIUA. Los resultados obtenidos confirmaron que existen CNV en los genes de la vía del AA, y que algunas de estas variaciones están asociadas con NIUA. La gran mayoría de los estudios de asociación génica previamente llevados a cabo en el estudio de la hipersensibilidad a AINE han analizado SNP en genes candidatos [122,124,131,140-141,248-249] o a nivel de genoma completo [138,140,250]. Sin embargo, aunque los CNV son variantes muy importantes que están implicadas en los mecanismos subyacentes a algunas enfermedades [251-254], hasta la fecha han sido pobremente estudiadas en las reacciones de hipersensibilidad a fármacos. En un estudio con pacientes con hipersensibilidad a los AINE realizado en población española, se analizaron CNV en los genes codificantes de los receptores de histamina, encontrando que la frecuencia de CNV eran del 5%, 1.1% y 0.9% para los genes *HRH1*, *HRH2* y *HRH4*, respectivamente [253]. Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, este estudio junto con el del objetivo 2, donde se analizaron estos mismos CNV en pacientes NERD, demostró que existen CNV en los genes relacionados con los mediadores inflamatorios implicados en las reacciones de hipersensibilidad. Además, la frecuencia de los CNV en NIUA es similar a la encontrada en NERD [255].

En este trabajo, se han identificado 19 pacientes (6.8%) con una sola copia en el gen *PTGER1*, mientras que todos los controles sanos presentaron dos. Esta diferencia fue estadísticamente significativa tras el meta-análisis ($p_c=1.22E-04$). Esta delección se localiza en el exón 3, por lo que podría afectar a la secuencia de la proteína PTGER1. En un estudio previo (2º objetivo), identificamos 3 pacientes asmáticos con una sola copia en este gen, aunque las diferencias encontradas no llegaron a ser estadísticamente

significativas [37]. La pérdida de copias en la misma región que hemos estudiado aquí del *PTGER1*, ha sido identificada por otros investigadores. Teniendo en cuenta que el 93.8% de las CNV en individuos sanos son recurrentes (ocurren en la misma posición cromosómica y tienen el mismo tamaño) [256] y que en la población general, el 77.8% de las CNV descritas se han identificado en individuos no relacionados (no emparentados) [256], es bastante probable que las CNV identificadas en este estudio coincidan con algunas de las previamente descritas: nsv833764 [257], nsv817814 [258], nsv470127 [259], y nsv527867 [256] (Tabla S1). Estas CNV incluyen además de *PTGER1*, a otros genes cuya delección podrían también ser importantes para el desarrollo de NIUA, como es *PKN1*, gen que codifica para una proteín-quinasa C relacionada con la apoptosis [260]; *GIPC1*, que codifica para una proteína que regula la expresión y el tráfico de un receptor de la superficie celular [261]; *CD97*, cuya proteína está implicada en el reclutamiento de los leucocitos así como en fenómenos de activación y migración [262]; y *DDX39A*, una RNA helicasa [263]. Curiosamente, aunque en este trabajo se encontró que CNV en *PTGER1* se asociaban con NIUA, los SNP de este gen que han sido analizados en pacientes NERD y NIUA de población Española, no se asociaron con la hipersensibilidad a AINE en estudios previos [37,141]. Este hecho subraya la importancia de estudiar CNV además de los SNP cuando se lleven a cabo estudios de asociación.

En este trabajo, también describimos que 10 pacientes NIUA presentaron una sola copia en el gen *ALOX5*. La pérdida de una copia en este gen ha sido también identificada en pacientes NERD (2º objetivo) [37]. Esta delección se localiza en el exón 1 de *ALOX5*, por lo que puede afectar a la secuencia de la proteína. La pérdida de una copia en este gen, en la misma posición que se ha estudiado en este trabajo ya ha sido descrita previamente. Esta delección (nsv895107) se encuentra en una región que contiene no sólo al gen *ALOX5* sino que también incluye a *MARCH8*, que es un gen implicado en la regulación de transporte vesicular [264]. La sobreexpresión de *MARCH8* está relacionado con la inhibición de la señal inflamatoria y la respuesta inmune gracias a su capacidad de ubiquitinar a la proteína asociada al receptor de IL-1 (IL1RAP) [265]. Así una delección de dicho gen comprometería su función reguladora.

La prostaglandina PGE₂ tiene una función muy importante en la homeostasis de la respuesta inflamatoria debido a su capacidad de inhibir la vía de las lipoxigenasas, a través de su actuación sobre la enzima 5-LOX previniendo su translocación hasta la envuelta nuclear dónde ejerce su función [52]. Esta redistribución de 5-LOX puede influir en la producción de LT [266]. Por este motivo, hipotetizamos que una sola copia en *PTGER1* afectaría a la translocación de 5-LOX y por lo tanto a la síntesis de LT en los pacientes hipersensibles a los AINE con esta variante.

Nuestros resultados muestran también que varios pacientes NIUA con una deleción en *PTGER1* también presentan una deleción en *ALOX5* (Tabla 27), aunque estas diferencias no han llegado a ser estadísticamente significativas. En estos pacientes portadores de dos deleciones, la capacidad enzimática de la 5-LOX podría verse afectada en mayor medida, alterando así la producción de LT.

Además, analizamos la posible asociación de CNV en genes codificantes de las enzimas ciclooxigenasas; sin embargo, no encontramos CNV en *PTGS1* y *PTGS2* ni en NIUA ni en el grupo control. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en los pacientes NERD (2º objetivo)[37]. Otros genes adicionales fueron analizados, debido a su capacidad para actuar en la inhibición de 5-LOX y la regulación de la respuesta de mediadores inflamatorios (*PTGER2*, *PTGER3* y *PTGER4*). Ninguno de estos genes presentó CNV en los pacientes NIUA. Sin embargo, hubo un control sano que presentó una copia en *PTGER3* y otro que presentó una copia en *PTGER4*. Estos casos indican que estas variaciones existen en nuestra población en una muy baja frecuencia y no están asociadas con NIUA. El último gen estudiado aquí fue *LTC4S*, debido a su importancia en la síntesis de LT. Aunque han sido descritos al menos 15 CNV en este gen (Tabla S1), no encontramos variaciones en este gen ni en pacientes ni en controles sanos, aunque previamente haya sido descrita en pacientes asmáticos españoles (2º objetivo)[37].

Como conclusión, en este trabajo, mostramos que la pérdida de una copia en *ALOX5* y/o *PTGER1* está asociada con NIUA y que la presencia de la pérdida de una copia en uno de los genes puede estar acompañada por la pérdida de una copia en el otro gen. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios para establecer la asociación en

otras poblaciones y para dilucidar la posible implicación funcional de estos CNV sobre el metabolismo lipídico de los mediadores inflamatorios derivados de la vía del AA.

Análisis de asociación entre SNP en genes involucrados en la vía de activación del mastocito y NIUA

En cuanto a las bases genéticas de las reacciones NIUA, la mayoría de los estudios previos se han centrado en los genes implicados en el metabolismo del AA [140-141]. Actualmente, existen evidencias genéticas que sugieren que podría haber otros mecanismos adicionales implicados en la patogénesis de esta entidad [138,248,250]. Teniendo en cuenta esto, en este estudio analizamos por primera vez SNP en genes involucrados en la activación del mastocito en una gran serie de pacientes con NIUA.

En este trabajo, describimos una asociación entre el polimorfismo rs12746200 del gen *PLA2G4A* con los pacientes NIUA. Se ha determinado que el alelo G es más frecuente entre los pacientes con NIUA que en los controles sanos y esta diferencia fue estadísticamente significativa cuando nos centramos en el subgrupo de pacientes que presentó sólo urticaria. También, encontramos asociación con el polimorfismo rs2228246 del gen *PLCG1*, con una frecuencia menor para el genotipo homocigoto más baja en los pacientes con angioedema que en los controles. Además, el genotipo T/C de polimorfismo rs1805034 para el gen *TNFRS11A* mostró una asociación estadísticamente significativa con el subgrupo fenotípico que presentó urticaria+angioedema.

Adicionalmente, analizamos la posible asociación entre los pacientes NIUA y los haplotipos más frecuentes conformados con los SNP estudiados. De tal modo que, encontramos una diferencia significativa en la frecuencia de los haplotipos [C-G] rs753381-rs2228246 (*PLCG1*) y [C-T] rs1805034-rs35211496 (*TNFRS11A*) entre los pacientes con NIUA y los sujetos control. Sin embargo, estos resultados no mostraron un riesgo mayor entre los portadores de estos haplotipos y aquellos con un solo SNP. Lo cual indica que la asociación de los haplotipos de *PLCG1* y *TNFRS11A* se debe

únicamente a la presencia de los SNP rs2228246 y rs1805034; respectivamente, más que a una combinación particular de estas variantes genéticas.

El polimorfismo rs12746200 del gen *PLA2G4A* se localiza en el intrón 3 de dicho gen. La variante alélica G de este SNP está asociada con una menor expresión génica de *PLA2G4A* [267], aunque aún se desconoce cómo influye este SNP en la expresión de *PLA2G4A*. Dado que el AA es liberado de la membrana celular por *PLA2G4A* y metabolizado por 5-LOX para sintetizar LT [268], estos resultados sugieren que los pacientes con NIUA que presentan urticaria podrían movilizar menos eficientemente el AA, provocando así una producción de LT alterada, tal y como ha sido sugerido en el caso de los NECD [108].

Hasta el momento, no hay estudios que analicen el efecto del SNP rs2228246 (Ser279Gly) del gen *PLCG1* sobre su función, ni el efecto del SNP rs1805034 (Ala192Val) en *TNFRS11A*. Sin embargo, el análisis de la secuencia muestra que la primera variante se localiza en un dominio EF, que es necesario para la función de PLC γ_1 [190], mientras que la última, está localizada en un dominio estructural de *TNFRS11A* [190]. Aunque potencialmente la presencia de estos polimorfismos podría provocar una disfunción de la proteína, son necesarios estudios funcionales para dilucidar el efecto de estos SNP.

Se ha descrito que la expresión de *SYK* es mayor en pacientes con urticaria crónica idiopática que en controles [269]. En este trabajo, analizamos la asociación del SNP rs290986, situado en una región reguladora del promotor y asociado con una desregulación de su expresión [186]. Además, estudiamos el SNP rs7140 de *LAT*, situado en una región entre -350 y -390 pb crucial para la unión del factor de transcripción Elf-1, implicado en la regulación de la expresión de *LAT* [149]. Sin embargo, nuestros resultados no han mostrado asociación alguna de estos SNP con NIUA.

El gran tamaño muestral y el hecho de que estas asociaciones se hayan mantenido siendo estadísticamente significativas tras las correcciones por múltiples test (FDR), avalan estos resultados. Sin embargo, un estudio de replicación independiente sería

deseable con el objetivo de investigar las diferencias entre poblaciones y aportar más robustez a estos resultados.

Este trabajo contribuye a apoyar la idea de que mecanismos adicionales a la teoría de la COX podrían estar involucrados en el origen de NIUA [248-250]. Estos resultados, también muestran la necesidad de un fenotipo detallado de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE [30,270]. Así, una clasificación más minuciosa de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE podría mejorar los estudios fármaco-genéticos para comprender los mecanismos que subyacen a estas reacciones.

Análisis de asociación entre SNP en *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR* y NIUA

Este es el primer estudio llevado a cabo para evaluar la asociación entre variantes en los genes *TSLP*, *IL7R* y *TSLPR* y el desarrollo de NIUA. La citoquina TSLP puede actuar a través de la activación de los mastocitos estimulando la liberación de citoquinas de tipo Th2, algunas de las cuales están implicadas en la regulación de la vía del AA [155,271]. Diversas variantes genéticas de *TSLP* han sido analizadas para identificar su asociación con enfermedades respiratorias [173,178-179,191] o cutáneas [171-172]. Su asociación con el desarrollo de NERD también ha sido analizada previamente [170], aunque no se ha asociado con la patología. En este estudio, los SNP de *TSLP* sólo han mostrado asociación genética con NIUA a nivel nominal de dos SNP (rs1816678 y rs764917). Sin embargo, estos indicios podrían sugerir una implicación de *TSLP* en NIUA.

El SNP, rs1816678, se localiza a 9.6 kb (en sentido 5') del inicio del gen *TSLP*. Estudios *in silico* muestran que este SNP altera los motivos reguladores del receptor nuclear activado por lípidos LXR y el factor de transcripción Sp4 [272]. Una alteración en la unión del elemento regulador LXR podría tener efectos sobre la transcripción en procesos implicados en la homeostasis lipídica y la inflamación [273]. Por otro lado, Sp4 es un factor de transcripción que puede reconocer elementos como el NF- κ B que está implicado en neuroinflamación [274].

El segundo SNP, rs764917 se localiza en una región intergénica a 5.3kb en el extremo 5' de *TSLP*. Este SNP se ha estudiado recientemente en un reducido grupo de pacientes con NERD, pero no ha mostrado asociación con la patología [170]. Se ha propuesto que este SNP está implicado en mecanismos de regulación transcripcional [179]. De hecho, estudios *in silico* ponen de manifiesto que este SNP altera 5 motivos reguladores para Barhl1, CCNT2, GATA, HDAC2 y Hmx-2 [272], los cuales podrían alterar la regulación de *TSLP*. Barhl1 es un regulador transcripcional [275] y CCNT2 es una subunidad del factor de elongación transcripcional (TEFb) que forma parte de la RNA polimerasa II [276]. Barhl1, CCNT2 y Hmx-2 no han sido previamente asociados con NIUA u otras enfermedades alérgicas. Sin embargo, GATA constituye una superfamilia de factores de transcripción implicados en la regulación de la diferenciación celular de importantes células inmunológicas como los basófilos [277], o eosinófilos [278]. Específicamente, GATA-3 está implicado en el desarrollo de la respuesta Th2 en dermatitis alérgica [279-280] y en reacciones selectivas inducidas por un único AINE [281]. Además, se ha sugerido que el bloqueo con corticoesteroides de GATA-3 podría ser usado como tratamiento para las alergias debido a la inhibición de la respuesta de tipo Th2 [282]. Son necesarios más estudios para comprender cómo el SNP rs764917 del gen *TSLP* podría afectar a la regulación de GATA.

HDAC2 (Forma 2 de la histona desacetilasa) es un miembro de un complejo represor de la transcripción que está involucrado en la regulación de la transcripción, la progresión del ciclo celular, eventos del desarrollo embrionario y juega un papel central en el desarrollo del asma y otras enfermedades alérgicas [283-284]. Además, se ha asociado con el asma en niños [285] y con la enfermedad pulmonar de obstrucción crónica (COPD)[286]. En estudios genéticos previos, rs764917 se asoció con un efecto protector en pacientes con rinosinusitis crónica y poliposis nasal [179]. Hasta la fecha, la relación entre la alteración en la unión de HDAC2 por rs764917 en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE no ha sido aún analizada.

En el caso del gen *TSLPR*, analizamos tres SNP candidatos (rs36139698 (P196L), rs36177645 (X201W), rs36133495 (A238V)) [171,191]. Aunque hemos confirmado la presencia de estos polimorfismos en nuestra población, estos no pasaron los controles de calidad debido a que el CR fue inferior al 90%. Para *IL7R*, a pesar de que algunos

SNP han sido asociados con otras enfermedades cutáneas, tales como la dermatitis atópica [171] o lupus eritematoso [287], no encontramos ninguna asociación entre SNP en este gen y NIUA.

La principal posible razón por la cual no encontramos asociación significativa tras la corrección por comparaciones múltiples entre *TSLP* o *IL7R* y NIUA, podría ser el bajo poder estadístico debido al pequeño tamaño muestral. Por lo tanto, sería necesario llevar a cabo más estudios, incluyendo una muestra de replicación, para verificar estas asociaciones nominales encontradas con *TSLP*.

En resumen, en este estudio no hemos encontrado asociaciones genéticas estadísticamente significativas tras los ajustes por comparaciones múltiples entre *TSLP*, *IL7R* e *TSLPR* y NIUA. Sin embargo, las asociaciones nominales de los SNP rs1816678 y rs764917 de *TSLP* podrían sugerir una implicación de este gen en NIUA. Esta posible asociación merece ser evaluada en mayor profundidad.

Análisis de asociación entre SNP en *CEP68* y la hipersensibilidad a los AINE

Para identificar nuevos mecanismos implicados en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE, se han llevado a cabo dos GWAS analizando pacientes con NERD [138-139]. Uno de estos estudios asoció a varios SNP de *CEP68* con NERD [138]. De todos ellos, destaca el polimorfismo no sinónimo rs7572857 (Gly74Ser) del gen *CEP68*, ya que se ha asociado con cambios en los valores de FEV₁ tras la administración de ASA [138]. Este *locus* se encuentra en alto desequilibrio de ligamiento con *RAB1A*, que posteriormente también ha mostrado asociación con NERD [213]. Aquí, hemos evaluado el potencial papel de variantes génicas comunes en *CEP68* con la susceptibilidad a NIUA, NERD y reacciones de hipersensibilidad mixtas y la posible implicación de *RAB1A*. Para ello, se identificaron variaciones comunes del gen mediante el genotipado de 6 SNP, incluyendo rs7572857. La imputación del genotipo permitió aumentar hasta 10 veces más el poder de estudio que en el análisis de asociación previa.

El polimorfismo que se asoció con NIUA con mayor significación es rs1050675. Este SNP se localiza en la región 3'UTR de *CEP68* y afecta a la unión de varios factores de transcripción (Evi-1_2, Evi-1_3, PLZF, XBP-1_2, Dbx1) involucrados en procesos de migración celular [288], según estudios *in silico* [272].

En el GWAS que identificó *CEP68* como un *locus* central para la susceptibilidad de NERD [138], la asociación de rs7572857 fue relacionada con su capacidad para afectar a la polaridad de la proteína que codifica y también con su función [138,289]. Anotaciones *in silico* mostraron que este polimorfismo (Gly74Ser) era tolerable en las enfermedades humanas, ya que no es un sitio altamente conservado en mamíferos [138]. Aquí se ha podido replicar a nivel génico con NIUA, aunque los efectos observados en españoles (alelo A fue protector) fueron opuestos a los descritos previamente por los coreanos (alelo A de riesgo) [138]. Debido a esto, el hecho de que muchas otras variantes de esta región hayan mostrado asociación con NIUA además de rs7572857, y el LD existente en esta región génica hace difícil saber si las asociaciones observadas se deben a este SNP por sí mismo o a otras variantes cercanas que estén en LD con estas en ambas poblaciones (Tabla 40). También está la posibilidad de que existan variantes funcionales en diferentes poblaciones, o que las variantes dependan de otros factores genéticos o medioambientales (también diferentes entre poblaciones).

Es importante destacar que hay un gen situado en la región flanqueante 39 (*RAB1A* con variantes en fuerte LD con las variantes de *CEP68*), es posible que algunas variantes de este gen pudieran estar influenciando el resultado obtenido para *CEP68* o que ellas mismas fuesen las verdaderas variantes asociadas con la patología. Esta idea viene fundamentada por el hecho de que *RAB1A* es un gen que codifica para una proteína implicada en el transporte vesicular durante la exocitosis o degranulación [213], por lo que es un buen candidato para estar involucrado en las reacciones de hipersensibilidad a los AINE. Cabe destacar, que las asociaciones más consistentes observadas en NIUA se localizan en los alrededores de esta región (por ejemplo rs61758846). Por lo tanto, para explorar la posibilidad de que algunos SNP de *RAB1A* contaran sobre la asociación detectada de *CEP68*, realizamos un análisis con los datos imputados del gen *RAB1A*. Este análisis permitió la identificación de un total de otras 21 variantes comunes para el gen que fueron asociadas con NIUA al mismo nivel de

significancia declarado para *CEP68*. Sin embargo, esta exploración no reveló ningún otro SNP de *RAB1A* con tan fuerte significación como el SNP rs1050675 de *CEP68*. Además, una vez que los efectos de rs1050675 en *CEP68* fueron estadísticamente considerados para realizar el análisis de regresión condicional, ninguno de los SNP de *RAB1A* permanecieron asociados de forma significativa. Sin embargo, en otro estudio realizado únicamente analizando *RAB1A* con pacientes NERD, este gen si mostró asociación estadísticamente significativa con la enfermedad [213]. Esto nos indica que puede tener una mayor implicación en la patología de la que aparentemente muestra cuando se analiza junto a *CEP68*.

En el caso de las reacciones NERD y mixtas, sólo conseguimos identificar 7 y 8 SNP de *CEP68* asociados nominalmente con la patología. Probablemente, un mayor número de pacientes de estos grupos, permitiría identificar asociaciones estadísticamente significativas.

Por otro lado, las funciones de la proteína CEP68 no están suficientemente claras; aparte de su papel en la cohesión del centrosoma [290-291] y en la vía de señalización del factor de crecimiento epidérmico (EGF)[292]. Este último, podría estar implicado en la remodelación de las vías respiratorias durante la respuesta alérgica, por su implicación desencadenando la liberación de ligandos EGF [293] o a través de la activación de sus receptores por LT [294]. Como se deduce de los análisis de redes de interacción proteína-proteína con CEP68, pueden existir otras posibles asociaciones con la hipersensibilidad con el miembro 4 de la familia de transportadores de solutos 1 (SLC1A4), el cual es inhibido por LTD₄ que es un potente broncoconstrictor [295] y la proteína 1 asociada con la filamina A (FILIP1), recientemente asociada con la susceptibilidad de NERD (Figura 32) [296].

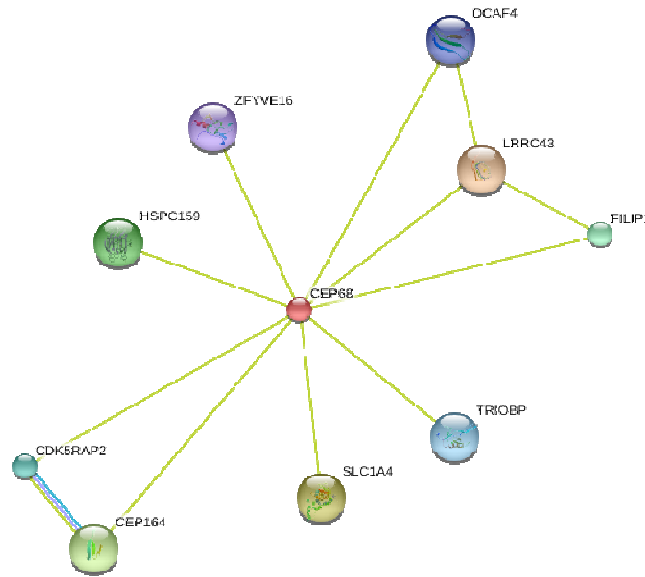


Figura 32: Red de interacciones funcionales de la proteína CEP68. En ella se muestra las interacciones entre CEP68 y otras proteínas. Este análisis se realizó usando la base de datos de STRING (<http://string-db.org/>).

En resumen, en este estudio hemos descrito la asociación de variantes en *CEP68* con NIUA, mostrando que otras variantes diferentes de aquellas involucradas en el metabolismo del AA o en la homeostasis de los mediadores puede ayudar a caracterizar esta patología. En este sentido, los estudios funcionales del SNP rs1050675 y otros como el SNP no sinónimo rs7572857 van a proporcionar pistas importantes para la comprensión de los mecanismos involucrados de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.

Estudio de asociación a nivel de genoma completo

La mayoría de los estudios genéticos de asociación en hipersensibilidad a AINE han seguido una aproximación de gen candidato, y han analizado pacientes asiáticos con implicación de las vías respiratorias (NERD)[297-298]. Únicamente se han llevado a cabo dos GWAS en reacciones de hipersensibilidad a AINE [138-139], pero ninguno ha incluido pacientes NIUA. Teniendo en cuenta estas consideraciones, este objetivo se basó en la realización de un GWAS en pacientes NIUA de dos poblaciones étnicamente diferentes de pacientes con NIUA.

Aunque no se encontró ningún SNP con un p-valor significativo a nivel de genoma completo, en este trabajo describimos 3 *loci* específicamente asociados con NIUA en la población española, localizados en los genes *RIMS1*, *BICC1* y *RAD51L1*, mientras que para los chinos de la etnia Han, la principal región identificada estaba en el gen *ABI3BP*. Después del meta-análisis, identificamos a *RAD51L1* en ambas poblaciones.

RIMS1 juega un papel importante en el inicio de la liberación de neurotransmisores por las neuronas. Este proceso comienza con la apertura de canales de Ca^{2+} [299] y está regulado por proteínas G que son a su vez modulados por *RIMS1* [300]. La asociación con NIUA es interesante debido a que los LT actúan a través de receptores acoplados a proteínas G incrementando el Ca^{2+} intracelular [301-302], y la activación de la PLA_2 por translocación a la membrana nuclear que provoca la liberación de AA, también es mediada por Ca^2 [303]. Por otro lado, la relación entre el sistema inmune y el sistema nervioso a través de diferentes mediadores ha sido bien descrita [304], ejemplo de ello son las interacciones entre neurotransmisores y las células involucradas en la inflamación alérgica cutánea [305].

El Ca^{2+} está también involucrado en un descenso de la síntesis de AMP cíclico (AMPC) por la adenilato ciclasa AC6 [306], este mediador es importante en el mecanismo de transducción de la señal intracelular y en la activación de la vía del AA [307] y los mastocitos [308-309]. Curiosamente este proceso está regulado por *BICC1* [310], cuyo gen está muy asociado con el segundo *cluster* de SNP asociado con NIUA en la población española.

En la población de chinos de la etnia Han, el *locus* con menor p-valor fue el localizado en el gen *ABI3BP*, que se ha asociado con el desarrollo de tumores a través de su interacción con p53 [311]. Aunque su papel en NIUA no ha sido previamente descrito, se sabe que los AINE interaccionan con otros factores de transcripción afectando a la transcripción [312-313], y como P53 es acetilada por la aspirina a concentraciones fisiológicas [314], podría actuar en NIUA en procesos similares.

También se llevó a cabo un meta-análisis entre las dos poblaciones. Así, 5 *loci* fueron identificados tanto en la población española como en la de chinos de la etnia Han: *RAD51L1*, *HLF*, *COL24A1*, *GalNAc-T13* y *FBXL7*.

RAD51L1, también identificada en el grupo de españoles, es el único *locus* que presentó un incremento significativo después del meta-análisis, sugiriendo una

asociación consistente con NIUA. Es un miembro de la familia de proteínas de RAD51, involucrada en la recombinación homóloga y la reparación del DNA [315]. Aunque el papel de los mecanismos de reparación del DNA en NIUA necesitan ser esclarecidos, la actividad y la expresión de RAD51 está afectada por p53 [316] y el Ca^{2+} [317].

HLF es un factor de transcripción relacionado con el desarrollo tumoral [318] y con la detoxificación de xenobióticos [319]. Esta proteína también influencia la expresión de la monooxigenasa mediada por el citocromo P450 en reacciones en las que participa en el metabolismo de los AINE [319-321] y en la síntesis de lípidos bioactivos [322].

El tercer locus de interés identificado fue *COL24A1*, que codifica para un tipo de colágeno. Su importancia ha sido descrita en inflamación [323]. Aunque *GalNAc-T13* no ha sido asociada previamente con las reacciones de hipersensibilidad a los AINE, nuestros hallazgos sugieren un posible papel en las modificaciones post-transcripcionales en NIUA. Está relacionado con la glicosilación de las mucinas, que son expresadas por linfocitos T activados [324], células dendríticas [325] y monocitos [326]. Curiosamente, las mucinas participan en algunas vías de señalización, entre las que se incluye p53 [327] y Ca^{2+} [328].

Por último, dos SNP situados en *FBXL7* también fueron asociados en el meta-análisis. Aunque su participación en las reacciones de hipersensibilidad no está claro, es interesante que un miembro de esta familia de proteínas haya sido descrito como un factor limitante de la inflamación [329], sugiriendo que el sistema del proteasoma mediado por ubiquitinación pueda ser de interés en el estudio de los mecanismos subyacentes en NIUA.

Cabe destacar que ninguno de los SNP más significativamente asociados en las dos cohortes o en el análisis combinado, replicó en la otra. Esto sugiere que la mayoría de los determinantes genéticos para NIUA pueden ser diferentes dependiendo del origen étnico. A pesar de esto, los análisis combinados identificaron efectos genéticos comunes en ambas poblaciones, con mayores efectos que cuando se realiza el análisis de forma individual.

Este estudio presenta algunas limitaciones. Debido a que no se pudo obtener un grupo de replicación, hubo que realizar un meta-análisis entre las dos poblaciones para poder identificar *loci* comunes. A pesar de que los p-valores identificados para los *loci* no alcanzaron significación a nivel de genoma completo, debido al pequeño tamaño

muestral, estos resultados pueden proporcionar nuevos conocimientos sobre los mecanismos de NIUA. Otra limitación común asociada con GWAS es que con esta aproximación no se pueden detectar variantes con bajas frecuencias pero con alto impacto fenotípico [330-331].

NIUA es una entidad clínica originada por mecanismos diferentes y complejos. Las asociaciones nominales que hemos encontrado en este estudio preliminar destacan el papel potencial de variantes en genes relacionados con segundos mensajeros (Ca^{2+} y/o vías de transducción de señales dependientes de AMPc) y abre nuevas posibilidades a otras vías que potencialmente podrían explicar el mecanismo de base de NIUA.

Por lo tanto, son necesarios más estudios con poblaciones diferentes y un mayor tamaño muestral para validar los hallazgos presentados en este estudio. Además, estos estudios necesitan ser completados por la combinación de datos de variantes raras identificadas en el Proyecto 1000 Genomas [185], secuenciación masiva en paralelo y el análisis del transcriptoma. La integración de todos estos datos genómicos usando herramientas de biología de sistemas nos ayudaría no solo a mejorar el conocimiento de los mecanismos patológicos, sino que mejoraría el manejo de los pacientes que sufren NIUA.

Conclusiones

1. Los pacientes con NERD presentan alteraciones estadísticamente significativas en los niveles basales de LTE_4 y en los niveles de LTE_4 y 13,14-dihidro-15-ceto- PGE_2 tras la provocación nasal con L-ASA. En los pacientes con NIUA, a nivel basal, los valores de los mediadores inflamatorios medidos no difieren con respecto a los controles sanos. Sin embargo, tras la provocación oral con ASA, estos pacientes presentan diferencias estadísticamente significativas en la concentración en orina de 13,14-dihidro-15-ceto-tetranor- PGE_2 e $iPF_{2\alpha}$ -VI. Así, ambas entidades clínicas presentan diferencias en el patrón de liberación de mediadores derivados de la vía del AA.
2. SNP en los genes *ALOX15* (rs3892408) y *PTGS1* (rs5789, rs10306135), ambos codificantes para enzimas implicadas en la vía del AA, se han asociado con NERD. Además, la pérdida de una copia de una región codificante en el gen *ALOX5* también se ha asociado con NERD.
3. La pérdida de una copia de una región codificante en los genes *ALOX5* y *PTGER1* se ha asociado con NIUA.
4. La subclasificación del grupo de pacientes NIUA en sus diferentes entidades clínicas ha permitido la identificación de la asociación entre los SNP de *PLA2G4A* (rs12746200) con la urticaria, de *PLCG1* (rs2228246) con el angioedema y de *TNFRS11A* (rs1805034) con la urticaria+angioedema.
5. La asociación nominal descrita entre los SNP rs1816678 y rs764917 de *TSLP* y NIUA sugiere que adicionales mecanismos inflamatorios podrían estar relacionados con el mecanismo de NIUA.
6. En el gen *CEP68* se ha identificado una asociación entre el polimorfismo rs1050675 y NIUA. Además, se ha descrito una asociación a nivel nominal entre varios SNP de *CEP68* y pacientes con reacciones mixtas y NERD. Estos hechos muestran diferentes mecanismos involucrados en el desarrollo de las reacciones de hipersensibilidad a los AINE.
7. El análisis de asociación a nivel de genoma completo, incluyendo pacientes españoles y chinos de etnia Han, ha permitido la identificación de nuevas variantes asociadas nominalmente con NIUA. Estas se encuentran localizadas

en los genes *RAD51L1*, *HLF*, *COL24A1*, *GalNAc-T13* y *FBXL7* y podrían proporcionar indicios de mecanismos adicionales implicados en NIUA.

Anexos



ANEXO 1: Conceptos generales de los estudios de asociación

Dado que la mayoría de los avances en el conocimiento de las bases moleculares de la hipersensibilidad a AINE, se está llevando a cabo usando una aproximación genética. Es importante aclarar aquí una serie de conceptos generales de los estudios de asociación genética.

El genotipo de los individuos se puede determinar por diferentes aproximaciones genéticas cuyo uso va a depender del tipo de variación genética que se quiera detectar. Así se diferencian dos grandes grupos de marcadores, por un lado están los marcadores asociados a variaciones debidas al número de repeticiones en su secuencia (como microsatélites, minisatélites o variaciones en el número de copias (CNV)) y por otro lado, están los marcadores que detectan cambios puntuales en la secuencia (RFLP, AFLP, SNP, etc). En este trabajo hemos presentado variaciones de ambos tipos (CNV y SNP). Estas han sido analizadas para llevar a cabo estudios de asociación genética (Figura 33).

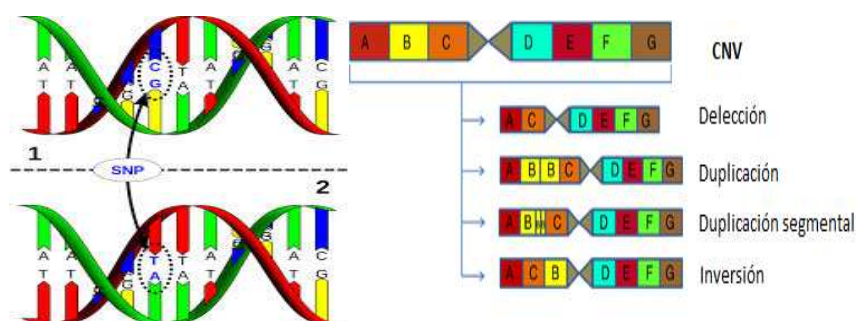


Figura 33: Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y variaciones en el número de copias (CNV). En el caso de los SNP, un nucleótido es sustituido por otro. En el caso de las CNV, son regiones de tamaño variable que pueden ser deletionadas, duplicadas, duplicadas en parte o encontrarse invertidas.

Las variantes genéticas más estudiadas en los estudios de asociación, son los SNP [332]. Un SNP describe un cambio en una sola base. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer al menos en el 1% de la población. Sin embargo las CNV han sido mucho menos estudiadas. Estas variaciones se pueden presentar como ganancias o pérdidas de regiones de DNA de un tamaño que puede variar desde unas pocas kilobases hasta regiones de megabases y pueden ser clasificadas como recurrentes o no recurrentes dependiendo de si se localizan

siempre en un mismo punto del genoma y de si el tamaño es siempre el mismo o no [333]. Las CNV han contribuido en gran medida a la diversidad genética existente [334] y los efectos fenotípicos puede ser debidos a modificaciones en los patrones de expresión, porque afecte directamente al cambio en la dosis génica, o indirectamente a través de su cambio en la localización en el genoma [334]. Además se ha visto que en la base de muchas enfermedades o en la susceptibilidad a enfermedades complejas están las CNV [252,335-337]. Hoy en día, existen varias bases de datos públicas dónde se encuentran catalogadas las variaciones estructurales presentes en la población general, como es el caso de Database of Genomic Variants [338], y las presentadas por diferentes entidades clínicas, como son el Consorcio ISCA [339], DECIPHER [340], ECARUCA [341] o ClinVar [196]. Las bases de datos de Database of Genomic Variants y ClinVar contienen información de deleciones y duplicaciones de genes implicados en la vía del AA como pueden ser; *ALOX5*, *LTC4S*, *PTGS1*, *PTGS2*, *PTGER1*, *PTGER2*, *PTGER3* y *PTGER4* en individuos aparentemente sanos (es decir, sin malformaciones genéticas graves), pero también se han encontrado CNV en alguno de estos genes que se han asociado con enfermedades mentales severas [251-252]. Sin embargo, estos genes a menudo se encuentran en regiones variantes que están compartidas con otros genes, lo que complica la identificación del gen causal de la patología. Hasta la fecha, no han sido estudiadas en relación con la hipersensibilidad a AINE y su posible implicación como marcador genético de NERD o NIUA.

Los estudios de asociación genética pretenden detectar asociaciones entre uno o más polimorfismos genéticos y se pueden clasificar atendiendo a diversos criterios como podemos ver en la Tabla 50. En ella se resumen los principales criterios que se van a tener en cuenta en este trabajo.

Estudios de asociación génica	
Estudios	Poblacionales
	Familiares
Estudios	de genes candidatos
	de todo el genoma completo
Asociación	Directa
	Indirecta

Tabla 50: Tipos de estudios de asociación génica.

A) En primer lugar, existen dos aproximaciones a los estudios de asociación génica;

- Estudios poblacionales: Son estudios de tipo caso-control en los que se comparan individuos no relacionados entre sí. Se comparan las frecuencias genotípicas y/o alélicas en ambos grupos para identificar variantes asociadas con la enfermedad objeto de estudio.
- Estudios basados en familias: Emplean información de miembros de una misma familia. Se comparan las frecuencias de alelos transmitidos vs. no transmitidos.

B) En función del número de SNP analizados y de la hipótesis de partida podemos distinguir:

- Estudios de genes candidatos: Se analizan aquellos genes sobre los que existe una hipótesis *a priori* acerca de la funcionalidad, de modo que existe una cierta evidencia experimental de que una determinada ruta biológica puede estar involucrada en el desarrollo de una enfermedad. Normalmente se seleccionan varios SNP para cada gen. Para la selección de SNP se emplea el concepto de desequilibrio de ligamiento (LD), que se refiere a la asociación entre alelos de diferentes *loci* en uno de los cromosomas homólogos. El concepto de LD es fundamental en los estudios de asociación genética, ya que implica que no hay que llegar a genotipar la variante causal para detectar asociación, simplemente tenemos que genotipar muy cerca de la verdadera variante.
- Estudios de asociación a nivel de genoma completo o Genome Wide Association Studies (GWAS). Son estudios de asociación de todo el genoma. En este caso no hay hipótesis previa. Se emplean chips de genotipado genéricos que cubren parte o la totalidad del genoma, se puede capturar gran parte de la variabilidad del genoma mediante el concepto de bloques de desequilibrio de ligamiento.

C) En función del conocimiento sobre el tema, se pueden realizar dos tipos de asociación:

- Asociación directa: En este caso se establece una relación directa entre la patología y la variante causal. Este tipo de análisis son más fáciles de analizar y tienen mayor poder, pero es difícil la identificación *a priori* de los polimorfismos candidatos. Normalmente se trata de polimorfismos situados en regiones codificantes que llevan a un cambio de aminoácido. Sin embargo, muchas de las variantes responsables de la heredabilidad de las enfermedades complejas más comunes se encuentran en regiones no codificantes. Por ejemplo, variantes relacionadas con la regulación génica, la expresión o bien un *splicing* diferencial [342].
- Asociación indirecta: Son más difíciles de analizar y su poder es menor que en el caso de la asociación directa. Se basan en la asociación de marcadores relacionados con la enfermedad presentes en la población, pero que no son ellos los causantes de las mismas, sino otros polimorfismos cercanos. El proyecto HapMap ha permitido avanzar en este tipo de estudios [342].

En los estudios de asociación génica hay que tener en cuenta que los SNP genotipados deben encontrarse en equilibrio Hardy-Weinberg, ya que desviaciones en este equilibrio en los controles, pueden ser indicativos de errores de genotipado o bien de la existencia de factores que podrían afectar a las frecuencias alélicas (por ejemplo, migración reciente) diferentes del rasgo en estudio.

Otros conceptos que hay que destacar son los modelos de herencia genética [332,343]:

- **Modelo dominante**: este modelo supone que una copia del alelo considerado dominante es suficiente para modificar el riesgo y que ser portador de 2 copias modifica el riesgo en igual magnitud; es decir, que los heterocigotos y los homocigotos para la variante presentan el mismo riesgo de padecer la enfermedad [332,343].

- Modelo recesivo: este modelo asume que son necesarias las 2 copias de la variante para modificar el riesgo de padecer la enfermedad, así, los heterocigotos y los homocigotos para el alelo más frecuente presentan el mismo riesgo [332,343].
- Modelo aditivo: en este modelo se asume que cada copia del alelo variante (menos frecuente) modifica el riesgo de padecer la enfermedad, en una cantidad aditiva, que se va sumando. De esta forma, los homocigotos para la variante presentan el doble de riesgo que los heterocigotos. El riesgo asociado al heterocigoto es intermedio entre los dos homocigotos [332,343].
- Modelo codominante: este modelo es el más general. En él cada genotipo proporciona un riesgo de padecer la enfermedad diferente y no aditivo. En este modelo se van a comparar los heterocigotos y los homocigotos para la variante con los homocigotos para el alelo más frecuente [332].

ANEXO 2: Criterios de selección de los SNP de los genes implicados en la vía de activación del mastocito

rs2307198 (*PLA2G4A*): este SNP codifica para un cambio de aminoácido no sinónimo (Lys651Arg). La frecuencia descrita en la población europea (HapMap-CEU) es del 4%. Además, se ha descrito que este SNP está asociado con un ligero incremento en la actividad de *PLA2G4A* [187].

rs12746200 (*PLA2G4A*): este SNP se localiza en el intrón 3. La frecuencia descrita para la población europea (HapMap-CEU) es del 8%. A pesar de que este SNP no se localiza en una región codificante, se ha descrito que ejerce efecto sobre los niveles de expresión de *PLA2G4A* [267].

rs12749354 (*PLA2G4A*): este SNP se localiza en el intrón 3, cerca de la región codificante para el dominio C2. Este dominio funcional está involucrado en la movilización de Ca^{2+} , cuyo paso es crucial para la función proteica. Además se ha sugerido que este SNP está asociado con la alteración de la actividad de la proteína *PLA2G4A* [189]. La frecuencia descrita para la población europea (HapMap-CEU) es del 17.7%.

rs753381 (*PLCG1*): este SNP de pérdida de sentido resulta en un cambio de isoleucina a treonina (Ile813Thr). Además, se ha asociado con cambios lipoprotéicos en un síndrome metabólico como la dislipidemia aterogénica [344]. La *PLCG1* juega un papel importante en la transducción intracelular de la señal, mediada por activadores tirosín-quinasa a través del metabolismo de mediadores lipídicos [345]. Así, la pequeña alteración en la estructura de la *PLCG1* provocada por este SNP puede contribuir a alteraciones en la activación del mastocito. La frecuencia de este SNP en población europea (HapMap-CEU) es del 45.6%.

rs2228246 (*PLCG1*): La frecuencia descrita en la población europea (HapMap-CEU) es del 16.5%. Este SNP codifica para un cambio de aminoácido (Ser279Gly). Éste cambio de aminoácido se localiza en una región que codifica para un dominio EF. Esta región adopta una estructura consistente en un núcleo de cuatro hélices α necesarias para el

funcionamiento de la enzima [346]. A pesar de no haber estudios previos enfocados en el efecto de este SNP en la función proteica, consideramos que debido a su posición y a su frecuencia podría ser un candidato para el estudio de asociación génica entre *PLCG1* y NIUA.

rs7140 (*LAT*): este SNP se localiza en la región 5' de *LAT*, dentro de la secuencia diana del factor de transcripción Elf-1, que juega un papel esencial en la regulación de la expresión de *LAT* [149]. Además, recientemente, se ha descrito que este SNP ejerce un efecto sobre la expresión génica de *LAT* [347]. La frecuencia descrita para la población europea (HapMap-CEU) es del 27.5%.

rs290986 (*SYK*): esta variante se localiza en la región 5' de *SYK*, podría influenciar la regulación génica y ha sido asociada con una enfermedad de origen inflamatorio como es la esclerosis múltiple [186]. Además, esta asociación ha sido validada a través de un estudio que utiliza una herramienta que evalúa la interacción proteína-proteína [348]. Sin embargo, no existen estudios que analicen cómo esta variante génica ejerce su efecto. La frecuencia descrita para la población europea (HapMap-CEU) es del 23.7%.

rs1805034 (*TNFRS11A*): el polimorfismo rs1805034 es una variante sin sentido (Ala192Val) localizada en el exón 6. Más específicamente, se encuentra dentro de un dominio rico en cisteínas, que es un motivo estructural [346]. La frecuencia en la población europea (HapMap-CEU) es del 46.9%. Este SNP también se ha asociado con un desorden metabólico de los huesos [349].

rs35211496 (*TNFRS11A*): Este SNP es una variante no sinónima (His141Tyr) localizada en el exón 4. Se localiza en el tercer dominio rico en cisteínas, que es un dominio estructural [346]. La frecuencia en la población europea (HapMap-CEU) es del 15.8%. Este SNP también se ha asociado con un desorden metabólico de los huesos [349].

ANEXO 3: Tablas de resultados complementarios

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
10	45636866	45928822	nsv895105	Ganancia	ALOX5 , LOC100133308, LOC338579, MIR3156-1, OR13A1		
10	45850299	45953767	nsv895107	Pérdida	ALOX5 , MARCH8		
10	42335305	60284876	nsv531214	Pérdida	ALOX5 , ANK3, CHAT, ERCC6, GDF2, GDF10, HNRNPF, MBL2, MSMB, NPY4R, PRKG1, MAPK8, RBP3, RET, CXCL12, SLC18A3, TFAM, UBE2D1, ZNF22, ZNF32, ZNF33B, CCDC6, NCOA4, ZNF239, PARG, GPRIN2, BMS1, C10orf10, ZWINT, DKK1, CSTF2T, PTPN20B, A1CF, FXD4, CSGALNACT2, OGDHL, CISD1, ASAH2, WDFY4, ARHGAP22, PCDH15, OR13A1, BICC1, SYT15, RASSF4, PHYHIPL, ZFAND4, C10orf71, ZNF488, AGAP4, FRMPD2, FAM170B, C10orf128, VSTM4, SLC16A9, FAM13C, MARCH8, C10orf25, ZNF485, RASGEF1A, IPMK, FAM21C, SGMS1, PGBD3, C10orf53, FAM21A, AGAP6, LRRC18, AGAP9, TMEM72, FAM25E, FAM25C, DRGX, ANXA8, AGAP7P, ASAH2B, ANXA8L1, AGAP10, FAM25G, TIMM23, MTRNR2L5	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]
5	178951105	179350387	nsv883270	Pérdida	C5orf45, C5orf60, CANX, CBY3, HNRNPH1, LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229, RUFY1, SQSTM1, TBC1D9B		
5	179176014	179335596	nsv483062	Pérdida	C5orf45, LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229, SQSTM1, TBC1D9B		
5	179184830	179360191	nsv469579	Pérdida	C5orf45, LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229, SQSTM1, TBC1D9B		
5	179186396	179350387	dgv6400n71	Pérdida	C5orf45, LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229, SQSTM1, TBC1D9B		
5	179193597	179267783	nsv883275	Pérdida	C5orf45, LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229, SQSTM1		
5	179193597	179227286	nsv518964	Pérdida	LTC4S , MAML1, MGAT4B, MIR1229		
5	179213323	179251243	nsv823361	Pérdida	LTC4S , MGAT4B, MIR1229, SQSTM1		
5	179214817	179250500	dgv6401n71	Pérdida	LTC4S , MGAT4B, MIR1229, SQSTM1		
5	179214817	179238794	nsv883278	Pérdida	LTC4S , MGAT4B, MIR1229, SQSTM1		
5	179220009	179238794	dgv6402n71	Pérdida	LTC4S , MGAT4B, MIR1229, SQSTM1		
5	179220637	179231681	dgv6403n71	Pérdida	LTC4S , MGAT4B, MIR1229		
5	175889986	180793986	nsv530581	Ganancia	CANX, CLTB, DBN1, F12, FGFR4, FLT4, GRK6, GRM6, HK3, HNRNPAB, HNRNPH1, LTC4S , MGAT1, MAPK9, PROP1, SLC34A1, SNCB, ZNF354A, SQSTM1, PDLIM7, ADAMTS2, MAML1, GFPT2, RGS14, LMAN2, MGAT4B, B4GALT7, RNF44, TBC1D9B, N4BP3, FAF2, ZNF346, TSPAN17,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					PRELID1, ZNF354C, C5orf45, DDX41, NOP16, UIMC1, RAB24, FAM193B, TMED9, CDHR2, NHP2, RNF130, , CLK4, CNOT6, NSD1, RMND5B, DOK3, ZFP2, RUFY1, PRR7, MXD3, THOC3, PHYKPL, UNC5A, COL23A1, SCGB3A1, GPRIN1, ZNF354B, OR2Y1, HIGD2A, FAM153B, EIF4E1B, RASGEF1C, FAM153A, ARL10, ZNF454, C5orf60, PFN3, ZNF879, SIMC1, CBY3	morfológicos o del desarrollo anormales significativos	
5	168689326	181269946	nsv530579	Ganancia	BNIP1, CANX, CLTB, NKX2-5, DBN1, DOCK2, DRD1, DUSP1, F12, FGFR4, FOXI1, FLT4, GABRP, GRK6, GRM6, HK3, HNRNPAB, HNRNPH1, HRH2, KCNMB1, LCP2, LTC4S , MGAT1, MSX2, NPM1, MAPK9, PROP1, SLC34A1, SLIT3, SNCB, STK10, ZNF354A, TRP-TGG3-5, TRT-TGT6-1, TRV-AAC1-4, TRV-CAC1-2, STC2, FGF18, SQSTM1, ATP6V0E1, PDLIM7, ADAMTS2, MAML1, GFPT2, USP12P1, GNB2L1, RGS14, CPLX2, BTNL3, LMAN2, MGAT4B, B4GALT7, RNF44, TBC1D9B, N4BP3, FAF2, FBXW11, ZNF346, TSPAN17, OR2V1, PRELID1, TLX3, KCNIP1, ZNF354C, RPL26L1, C5orf45, DDX41, NOP16, UIMC1, RAB24, NEURL1B, FAM193B, TMED9, CDHR2, SPDL1, NHP2, RNF130, , ERGIC1, CLK4, CNOT6, NSD1, RMND5B, RANBP17, BTNL8, DOK3, ZFP2, RUFY1, CPEB4, PRR7, TRIM7, MXD3, THOC3, TRIM52, PHYKPL, UNC5A, TRIM41, BOD1, COL23A1, UBTD2, SCGB3A1, SFXN1, GPRIN1, ZNF354B, C5orf47, C5orf58, OR2Y1, CREBRF, BTNL9, HIGD2A, FAM153B, EIF4E1B, RASGEF1C, EFCAB9, SH3PXD2B, FAM153A, ARL10, OR2V2, ZNF454, C5orf60, PFN3, ZNF879, SIMC1,	Forma facial anormal	[252]
5	160029980	181269805	nsv530578	Ganancia	BNIP1, CANX, CCNG1, CLTB, NKX2-5, DBN1, DOCK2, DRD1, DUSP1, F12, FABP6, FGFR4, FOXI1, FLT4, GABRA1, GABRA6, GABRB2, GABRG2, GABRP, GRK6, GRM6, HK3, HMMR, HNRNPAB, HNRNPH1, HRH2, KCNMB1, LCP2, LTC4S , MGAT1, MSX2, NPM1, MAPK9, PROP1, RARS, SLC34A1, SLIT3, SNCB, STK10, ZNF354A, TRP-TGG3-5, TRT-TGT6-1, TRV-AAC1-4, TRV-CAC1-2, TTC1, STC2, FGF18, SQSTM1, ATP6V0E1, PTTG1, PDLIM7, ADAMTS2, MAML1, GFPT2, USP12P1, GNB2L1, SLU7, RGS14, CPLX2, BTNL3, LMAN2, MGAT4B, B4GALT7, RNF44, TBC1D9B, ATP10B, N4BP3, FAF2, WWCI, FBXW11, ZNF346, TSPAN17, OR2V1, PRELID1, MAT2B, TLX3, KCNIP1, ZNF354C, RPL26L1, C5orf45, DDX41, NOP16, UIMC1, RAB24, NEURL1B, FAM193B, TMED9, CDHR2, SPDL1, NHP2, RNF130, , ERGIC1, CLK4, TENM2, CNOT6, ZBED8, NSD1, RMND5B, RANBP17, CCNJL, PANK3, BTNL8, DOK3, ZFP2, RUFY1, CPEB4, PRR7, TRIM7, MXD3, THOC3, TRIM52, PHYKPL, UNC5A, TRIM41, BOD1, COL23A1, UBTD2, SCGB3A1, SFXN1, GPRIN1, PWWP2A, C1QTNF2, ZNF354B, C5orf47, C5orf58, OR2Y1, NUDCD2, CREBRF, BTNL9, HIGD2A, FAM153B, EIF4E1B, RASGEF1C, EFCAB9, SH3PXD2B, FAM153A, ARL10, OR2V2, ZNF454, C5orf60, PFN3, ZNF879, SIMC1, MIR103A1, MIR146A, ZFP62, SMIM23,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]
5	149714592	181272151	nsv530576	Ganancia	ADRA1B, ANXA6, ATOX1, BNIP1, CAMK2A, CANX, CCNG1, CD74, CDX1, CLTB, CSF1R, NKX2-5, DBN1, DOCK2, DRD1, SLC26A2, DUSP1, EBF1, F12, FABP6, FAT2, FGFR4, FOXI1, FLT4, GABRA1,	Retraso en el desarrollo y/o	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					GABRA6, GABRB2, GABRG2, GABRP, GLRA1, GM2A, GRK6, GPX3, GRIA1, GRM6, HK3, HMMR, HNRNPAB, HNRNPH1, HRH2, NDST1, IL12B, ITK, KCNMB1, LCP2, LTC4S , MFAP3, MGAT1, MSX2, NPM1, PDE6A, PDGFRB, MAPK9, PROP1, RARS, RPS14, RPS20P4, SGCD, SLC6A7, SLC34A1, SLIT3, SNCB, SPARC, STK10, ZNF354A, TCOF1, TRP-TGG3-5, TRT-TGT6-1, TRV-AAC1-4, TRV-CAC1-2, TTC1, STC2, ADAM19, FGF18, SQSTM1, ATP6V0E1, PTTG1, PDLIM7, CNOT8, HAND1, MED7, ADAMTS2, CLINT1, MAML1, GFPT2, USP12P1, G3BP1, TNIP1, GNB2L1, SLU7, RGS14, CPLX2, FAXDC2, FAM114A2, BTNL3, LMAN2, SOX30, MGAT4B, B4GALT7, SYNPO, RNF44, HMGXB3, TBC1D9B, ATP10B, N4BP3, FAF2, WWC1, FBXW11, LARP1, ZNF346, GEMIN5, CCDC69, TSPAN17, OR2V1, HAVCR1, CYFIP2, PRELID1, MAT2B, MRPL22, TLX3, KCNIP1, ZNF354C, RPL26L1, C5orf45, DCTN4, DDX41, NOP16, UIMC1, RAB24, NEURL1B, FAM193B, TMED9, CDHR2, SPDL1, THG1L, GALNT10, NHP2, RBM22, RNF130, NMUR2, , ERGIC1, CLK4, TENM2, CNOT6, ZBED8, NSD1, RMND5B, RANBP17, CCNJL, PANK3, SAP30L, BTNL8, DOK3, ZFP2, RUFY1, CPEB4, PRR7, TRIM7, TIGD6, MXD3, THOC3, TRIM52, HAVCR2, PHYKPL, SMIM3, UNC5A, TRIM41, BOD1, COL23A1, TIMD4, ZNF300, MYOZ3, UBTD2, SCGB3A1, SFXN1, GPRIN1, PWWP2A, C1QTNF2, ZNF354B, C5orf47, PPARGC1B, C5orf58, OR2Y1, LSM11, NUDCD2, UBLCP1, SLC36A2, CREBRF, BTNL9, FAM71B, RNF145, HIGD2A, FAM153B, SLC36A1, EIF4E1B, RASGEF1C, EFCAB9, SH3PXD2B, FAM153A, ARL10, SLC36A3, KIF4B, OR2V2, ZNF454, C5orf60, ARSI, PFN3, ZNF879, IRGM, NIPAL4, SIMC1, MIR103A1, MIR146A, FNDC9, MIR378A, ZFP62, SMIM23, CBY3, SNORA74B, TRK-CTT2-4, FAM196B, C5orf52	otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	
9	125051580	125237719	nsv831716	Ganancia	MRRF, PTGS1		
9	121586837	138179445	nsv532434	Ganancia	ABCA2, ABL1, ABO, AK1, ASS1, C8G, CACNA1B, CCBL1, ENTPD2, CDK9, CEL, COL5A1, CRAT, DBH, SARDH, DNMT1, TOR1A, ENDOG, ENG, FCN1, FCN2, FPG, NR5A1, FUT7, NR6A1, GLE1, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, HSPA5, LCN1, LCN2, LMX1B, NDUFA8, NOTCH1, ODF2, PAEP, PDCL, PBX3, PPP2R4, PPP6C, PSMB7, PTGDS, PTGS1 , RALGDS, RPL7A, RPL12, RXRA, SET, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, TRAF2, TSC1, TTF1, VAV2, ZNF79, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, SSNA1, EDF1, DPM2, FUBP3, CLIC3, GTF3C5, GTF3C4, LHX2, MED27, PTGES, RALGPS1, ADAMTSL2, PPP1R26, SEC16A, SH2D3C, RABEPK, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, AGPAT2, POMT1, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, USP20, SLC27A4, WDR5, C9orf9, ADAMTS13, CACFD1, SLC2A6, RPL35, MAN1B1, DOLK, FNBP1, SETX, ZBTB43, PMPCA, EXOSC2, NCS1, ANGPTL2, NUP188, RABGAP1, CIZ1, NELFB, NSMF, GPSM1, GAPVD1, OR1J4, GBGT1, LHX6, OR1L3, OR1L1, OR1J2, TRUB2, ST6GALNAC4, NDOR1, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, ANAPC2, PKN3, DPP7, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, PRRX2, C9orf114, C9orf78, FBXW5, RC3H2, TBC1D13, TOR4A, EXD3,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					STRBP, RABL6, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, KCNT1, ZBTB26, DENND1A, GPR107, PRDM12, CARD9, DDX31, FAM129B, MRPL41, C9orf16, MAPKAP1, EHMT1, PTGES2, URM1, ARPC5L, AIF1L, UCK1, GARNL3, NTNG2, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, MVB12B, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, UAP1L1, MRRF, RBM18, ARRDC1, DPH7, TMEM203, SLC25A25, ZMYND19, NACC2, C9orf116, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, SLC34A3, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, TTC16, STKLD1, OLFML2A, QSOX2, NAIF1, PHYHD1, MORN5, OR1L4, HMCN2, CRB2, SCAI, C9orf117, LCN12, C9orf142, TPRN, FAM78A, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1, GLT6D1, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8, IER5L, C9orf171, LCN15, C9orf172, LRRC26, TMEM8C, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9, FAM102A, WDR38, LCNL1, C9orf139, FAM166A, SOHLH1, ZBTB34, MIR126, MIR181A2, MIR181B2,		
9	121112395	138075224	nsv529571	Ganancia	ABCA2, ABL1, ABO, AK1, ASS1, C8G, CACNA1B, CCBL1, ENTPD2, CDK9, CEL, COL5A1, CRAT, DBH, SARDH, DNM1, TOR1A, ENDOG, ENG, STOM, FCN1, FCN2, FPG, NR5A1, FUT7, NR6A1, GGTA1P, GLE1, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, GSN, HSPA5, LCN1, LCN2, LMX1B, NDUFA8, NOTCH1, ODF2, PAEP, PDCL, PBX3, PPP2R4, PPP6C, PSMB7, PTGDS, PTGS1, RALGDS, RPL7A, RPL12, RXRA, SET, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, TRAF2, TSC1, TTF1, VAV2, ZNF79, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, SSNA1, EDF1, DPM2, FUBP3, CLIC3, GTF3C5, GTF3C4, LHX2, MED27, PTGES, RALGPS1, ADAMTSL2, PPP1R26, SEC16A, SH2D3C, RABEPK, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, AGPAT2, POMT1, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, USP20, SLC27A4, CNTRL, WDR5, C9orf9, ADAMTS13, CACFD1, SLC2A6, RPL35, MAN1B1, DOLK, FNBP1, SETX, ZBTB43, PMPCA, EXOSC2, NCS1, ANGPTL2, NUP188, RABGAP1, CIZ1, NELFB, NSMF, GSPM1, GAPVD1, OR1J4, GBGT1, LHX6, OR1L3, OR1L1, OR1J2, TRUB2, ST6GALNAC4, NDOR1, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, ANAPC2, PKN3, DPP7, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, PRRX2, C9orf114, RAB14, C9orf78, FBXW5, RC3H2, TBC1D13, TOR4A, EXD3, STRBP, RABL6, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, KCNT1, ZBTB26, DENND1A, GPR107, PRDM12, CARD9, DDX31, FAM129B, MRPL41, C9orf16, MAPKAP1, EHMT1, PTGES2, URM1, ARPC5L, AIF1L, UCK1, GARNL3, NTNG2, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, MVB12B, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, UAP1L1, MRRF, RBM18, ARRDC1, DPH7, TMEM203, SLC25A25, ZMYND19, NACC2, C9orf116, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, SLC34A3, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, TTC16, STKLD1, OLFML2A, QSOX2, NAIF1, PHYHD1, MORN5, OR1L4, HMCN2, CRB2, SCAI, C9orf117, LCN12, C9orf142, TPRN, FAM78A, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					GLT6D1, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8, IER5L, C9orf171, LCN15, C9orf172, LRRC26, TMEM8C, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9, FAM102A, WDR38, LCNL1, C9orf139, FAM166A, SOHLH1		
9	193412	138179445	nsv532406	Ganancia	ABCA1, ABCA2, ABL1, ABO, ACO1, PLIN2, AK1, ALAD, ALDH1A1, ALDH1B1, ALDOB, AMBP, ANXA1, NUDT2, APBA1, AQP3, AQP7, ASS1, AUH, BAAT, BAG1, KLF9, C5, C8G, CA9, CACNA1B, CCIN, CCBL1, TNFSF8, ENTPD2, CD72, CDK9, CDKN2A, CDKN2B, CEL, CKS2, CLTA, CNTFR, COL5A1, COL15A1, SLC31A1, SLC31A2, CRAT, , CTSV, CYLC2, DAPK1, BRINP1, DBH, SARDH, DNM1, DMRT1, ECM2, TOR1A, LPAR1, S1PR3, MEGF9, ELAVL2, ENDOG, ENG, STOM, FANCC, FANCG, FBP1, FKTN, FCN1, FCN2, FOXE1, MLANA, FPG, FXN, NR5A1, FUT7, GALT, GAS1, NR6A1, GCNT1, GGTA1P, B4GALT1, GLDC, GLE1, GNAQ, GNG10, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, GSN, HNRNPK, HSD17B3, DNAJA1, HSPA5, TNC, IARS, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNB1, IFNW1, IL11RA, INSL4, JAK2, LCN1, LCN2, LMX1B, MLLT3, MTAP, MUSK, NCBP1, NDUFA8, NDUFB6, NFIB, NFIL3, NFX1, NINJ1, NOTCH1, NPR2, NTRK2, ROR2, ODF2, OMD, OGN, ORM1, ORM2, PAEP, PAPPA, PAX5, PDCL, PBX3, PCSK5, PGM5, PHF2, PPP2R4, PPP3R2, PPP6C, PRKACG, PRSS3, PSMB7, PSMD5, PTCH1, PTGDS, PTGS1, PTPN3, PTPRD, RAD23B, RALGDS, RFX3, RGS3, RLN1, RLN2, RMRP, RORB, RPL7A, RPL12, RPS6, RXRA, CCL19, CCL21, SET, SH3GL2, SHB, SLC1A1, SMARCA2, SNAPC3, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, SYK, TAL2, TEK, TESK1, TGFB1, TLE1, TLE4, TLN1, TLR4, TMOD1, TPM2, TRAF1, TRAF2, TSC1, TTF1, TXN, TYRP1, UGCG, VAV2, VCP, VLDLR, CORO2A, XPA, ZFP37, ZNF79, ZNF189, ZFAND5, NR4A3, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, PIP5K1B, RECK, IKBKAP, CDC14B, TMEFF1, SSNA1, EDF1, CTNNAL1, MPDZ, FBP2, DPM2, FUBP3, CLIC3, PRPF4, KLF4, GTF3C5, GTF3C4, CER1, LHX2, PLAA, GRHRP, FAM189A2, TJP2, MED27, PTGES, ATP6V1G1, GABBR2, GDA, GNA14, RALGPS1, ADAMTSL2, RGP1, TRIM14, MELK, RUSC2, PPP1R26, SEC16A, ZBTB5, KIAA0020, TNFSF15, PTBP3, GNE, SH2D3C, RCL1, TOPORS, RABEPK, SIGMAR1, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, CREB3, UNC13B, SEMA4D, ANP32B, AGPAT2, SPTLC1, POMT1, SMC2, DMRT2, RRAGA, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, CCL27, USP20, ACTL7B, ACTL7A, GADD45G, SPIN1, SEC61B, SLC27A4, SLC35D2, CNTRL, WDR5, C9orf9, ADAMTSL3, CACFD1, PSIP1, INSL6, SLC2A6, PTENP1, AKAP2, RPL35, MAN1B1, DCTN3, FRMPD1, DOLK, ZNF510, HABP4, PTGR1, TRIM32, FNBP1, SETX, ERP44, KDM4C, ZBTB43, SMC5, KANK1, FAM120A, PMPCA, VPS13A, ASTN2, AGTPBP1, BICD2, FKBP15, , , EXOSC2, NCS1, TDRD7, SLC44A1, ANGPTL2, NUP188, CDK20, DDX58, RABGAP1, TMEM2, TMEM245, FRRS1L, SLC24A2, CIZ1, DNAJB5, DCAF12, DFN3B1, NELFB, NIPSNAP3A, NSMF, GPSM1, GAPVD1, PHF19, ZNF658, SPATA31A7, FBXW2, SPAG8, OR1J4, OR2K2, FBXO10,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					<p>GBGT1, LHX6, OSTF1, OR1L3, OR1L1, OR1J2, RANBP6, TRUB2, DNAI1, ST6GALNAC4, INVS, NDOR1, SIT1, SPINK4, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, CD274, ANAPC2, PKN3, DPP7, PSAT1, UBQLN1, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, STOML2, DEC1, PCA3, AK3, EXOSC3, ABHD17B, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, UBAP1, GOLM1, PRRX2, C9orf114, CHMP5, C9orf156, RAB14, TMEM8B, C9orf78, SHC3, POLE3, NANS, FBXW5, MRPL50, RC3H2, EPB41L4B, EQTN, TBC1D13, NUTM2F, DIRAS2, BNC2, HAUS6, ASPN, BSPRY, APTX, TOR4A, CNTLN, TEX10, FOCAD, UBE2R2, EXD3, FAM206A, NMRK1, STX17, NOL8, SPATA6L, C9orf40, TMEM38B, SMU1, RFK, NIPSNAP3B, STRBP, TBC1D2, HEMGN, KIF27, CDC37L1, DENND4C, RABL6, CDK5RAP2, UBAP2, PLGRKT, KLHL9, BARX1, RNF20, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, OR2S2, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, , KCNT1, RIC1, ZBTB26, GBA2, DENND1A, GPR107, SLC46A2, INIP, ZNF462, DMRT3, PRDM12, NAA35, DMRTA1, SLC28A3, CARD9, SUSD1, POLR1E, IPPK, DDX31, FAM129B, LRRC19, MRPL41, NOL6, WNK2, SECISBP2, C9orf16, MAPKAP1, DCAF10, ZCCHC6, GALNT12, EHMT1, MOB3B, CAAP1, CNTNAP3, ERMP1, SVEP1, RMI1, TRPM3, PTGES2, IFT74, FAM214B, GKAP1, PDCD1LG2, AKNA, URM1, ISCA1, DOCK8, ARPC5L, HDHD3, AIF1L, UCK1, ZNF484, FSD1L, CEP78, ZCCHC7, ANKRD20A1, GARNL3, HSDL2, C9orf64, C9orf89, TMEM246, NTNG2, HIATL1, HINT2, C9orf24, PIGO, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, ARHGEF39, C9orf3, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, COL27A1, ALG2, FGD3, MVB12B, TPD52L3, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, IL33, TMEM261, MSANTD3, UAP1L1, SLC25A51, MRRF, RBM18, ARRCDC1, DPH7, ADAMTSL1, TMEM203, KIF12, PALM2, SLC25A25, WDR31, ZNF618, UHRF2, FAM122A, ZMYND19, GRIN3A, TMC1, RNF183, NACC2, C9orf116, C9orf41, C9orf57, C9orf85, C9orf135, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, TAF1L, PTPDC1, ARID3C, RPP25L, C9orf131, OR13C5, OR13C8, OR13C3, OR13C4, OR13F1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, TRPM6, SLC34A3, RNF38, GLIPR2, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, LINGO2, NXNL2, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, RASEF, TTC39B, TRMT10B, TTC16, FAM120AOS, FAM154A, FREM1, , ZNF483, C9orf84, , TSTD2, ZNF782, PRUNE2, STKLD1, KCNV2, OLFML2A, TMEM252, QSOX2, GLIS3, ZNF883, ZNF169, AAED1, ZNF367, C9orf91, C9orf72, CCDC171, NAIF1, FAM219A, CCDC107, ANKS6, SUSD3, CBWD5, CDC26, ANKRD18A, PHYHD1, MORN5, OR1L4, TXNDC8, HMCN2, MAMDC2, FRMD3, C9orf43, FAM205A, CRB2, SCAI, C9orf117, C9orf47, SPATA31E1, LCN12, C9orf142, TPRN, TUSC1, FAM78A, LURAP1L, OR13C9, OR13D1, FOXD4L3, IFNE, ZDHHC21, ACER2, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1, KIF24, IGF1BP1, MURC, FOXD4L4, GLT6D1, ENHO, PTAR1, ERCC6L2, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8, SPATA31A6, SPATA31D4, SPATA31D3, SPATA31D1, C9orf153, IER5L, C9orf171, LCN15, C9orf172, LRRC26, TMEM8C, FAM221B, OR13J1, OR13C2, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9, FAM102A, PTPLAD2, TMEM215, TOMM5, C9orf170, CENPP, C9orf152, SNX30, WDR38, LCNL1,</p>		

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					C9orf139, FAM166A, SOHLH1, PPAPDC2, ZBTB34, MIRLET7A1, MIRLET7D, MIRLET7F1, MIR101-2, MIR126, MIR181A2, MIR181B2, MIR199B, MIR204, MIR23B, MIR24-1, MIR27B, MIR31, MIR32, MIR7-1, C9orf106, IDNK, LCN10, ANKRD20A3, ANKRD20A2, SPATA31C1, NUTM2G, ANKRD18B, C9orf173, NRARP, FOXB2,		
9	193412	138114463	nsv532404	Ganancia	ABCA1, ABCA2, ABL1, ABO, ACO1, PLIN2, AK1, ALAD, ALDH1A1, ALDH1B1, ALDOB, AMBP, ANXA1, NUDT2, APBA1, AQP3, AQP7, ASS1, AUH, BAAT, BAG1, KLF9, C5, C8G, CA9, CACNA1B, CCIN, CCB1, TNFSF8, ENTPD2, CD72, CDK9, CDKN2A, CDKN2B, CEL, CKS2, CLTA, CNTFR, COL5A1, COL15A1, SLC31A1, SLC31A2, CRAT, , CTSV, CYLC2, DAPK1, BRINP1, DBH, SARDH, DNMI1, DMRT1, ECM2, TOR1A, LPAR1, S1PR3, MEGF9, ELAVL2, ENDOG, ENG, STOM, FANCC, FANCG, FBP1, FKTN, FCN1, FCN2, FOXE1, MLANA, FPG, FXN, NR5A1, FUT7, GALT, GAS1, NR6A1, GCNT1, GGTA1P, B4GALT1, GLDC, GLE1, GNAQ, GNG10, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, GSN, HNRNPK, HSD17B3, DNAJA1, HSPA5, TNC, IARS, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNB1, IFNW1, IL11RA, INSL4, JAK2, LCN1, LCN2, LMX1B, MLLT3, MTAP, MUSK, NCBP1, NDUFA8, NDUFB6, NFIB, NFIL3, NFX1, NINJ1, NOTCH1, NPR2, NTRK2, ROR2, ODF2, OMD, OGN, ORM1, ORM2, PAEP, PAPP, PAX5, PDCL, PBX3, PCSK5, PGM5, PHF2, PPP2R4, PPP3R2, PPP6C, PRKACG, PRSS3, PSMB7, PSMD5, PTCH1, PTGDS, PTGS1, PTPN3, PTPRD, RAD23B, RALGDS, RFX3, RGS3, RLN1, RLN2, RMRP, RORB, RPL7A, RPL12, RPS6, RXRA, CCL19, CCL21, SET, SH3GL2, SHB, SLC1A1, SMARCA2, SNAPC3, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, SYK, TAL2, TEK, TESK1, TGFBFR1, TLE1, TLE4, TLN1, TLR4, TMOD1, TPM2, TRAF1, TRAF2, TSC1, TTF1, TXN, TYRP1, UGCG, VAV2, VCP, VLDLR, CORO2A, XPA, ZFP37, ZNF79, ZNF189, ZFAND5, NR4A3, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, PIP5K1B, RECK, IKBKAP, CDC14B, TMEFF1, SSNA1, EDF1, CTNNA1, MPDZ, FBP2, DPM2, FUBP3, CLIC3, PRPF4, KLF4, GTF3C5, GTF3C4, CER1, LHX2, PLAA, GRHRP, FAM189A2, TJP2, MED27, PTGES, ATP6V1G1, GABBR2, GDA, GNA14, RALGPS1, ADAMTSL2, RGP1, TRIM14, MELK, RUSC2, PPP1R26, SEC16A, ZBTB5, KIAA0020, TNFSF15, PTBP3, GNE, SH2D3C, RCL1, TOPORS, RABEPK, SIGMAR1, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, CREB3, UNC13B, SEMA4D, ANP32B, AGPAT2, SPTLC1, POMT1, SMC2, DMRT2, RRAGA, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, CCL27, USP20, ACTL7B, ACTL7A, GADD45G, SPIN1, SEC61B, SLC27A4, SLC35D2, CNTRL, WDR5, C9orf9, ADAMTS13, CACFD1, PSIP1, INSL6, SLC2A6, PTENP1, AKAP2, RPL35, MAN1B1, DCTN3, FRMPD1, DOLK, ZNF510, HABP4, PTGR1, TRIM32, FNBP1, SETX, ERP44, KDM4C, ZBTB43, SMC5, KANK1, FAM120A, PMPCA, VPS13A, ASTN2, AGTPBP1, BICD2, FKBP15, , , EXOSC2, NCS1, TDRD7, SLC44A1, ANGPTL2, NUP188, CDK20, DDX58, RABGAP1, TMEM2, TMEM245, FRRS1L, SLC24A2, CIZ1, DNAJB5, DCAF12, DFNB31, NELFB, NIPSNAP3A,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					NSMF, GPSM1, GAPVD1, PHF19, ZNF658, SPATA31A7, FBXW2, SPAG8, OR1J4, OR2K2, FBXO10, GBGT1, LHX6, OSTF1, OR1L3, OR1L1, OR1J2, RANBP6, TRUB2, DNAI1, ST6GALNAC4, INVS, NDOR1, SIT1, SPINK4, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, CD274, ANAPC2, PKN3, DPP7, PSAT1, UBQLN1, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, STOML2, DEC1, PCA3, AK3, EXOSC3, ABHD17B, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, UBAP1, GOLM1, PRRX2, C9orf114, CHMP5, C9orf156, RAB14, TMEM8B, C9orf78, SHC3, POLE3, NANS, FBXW5, MRPL50, RC3H2, EPB41L4B, EQTN, TBC1D13, NUTM2F, DIRAS2, BNC2, HAUS6, ASPN, BSPRY, APTX, TOR4A, CNTLN, TEX10, FOCAD, UBE2R2, EXD3, FAM206A, NMRK1, STX17, NOL8, SPATA6L, C9orf40, TMEM38B, SMU1, RFK, NIPSNAP3B, STRBP, TBC1D2, HEMGN, KIF27, CDC37L1, DENND4C, RABL6, CDK5RAP2, UBAP2, PLGRKT, KLHL9, BARX1, RNF20, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, OR2S2, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, , KCNT1, RIC1, ZBTB26, GBA2, DENND1A, GPR107, SLC46A2, INIP, ZNF462, DMRT3, PRDM12, NAA35, DMRTA1, SLC28A3, CARD9, SUSD1, POLR1E, IPPK, DDX31, FAM129B, LRRC19, MRPL41, NOL6, WNK2, SECISBP2, C9orf16, MAPKAP1, DCAF10, ZCCHC6, GALNT12, EHMT1, MOB3B, CAAP1, CNTNAP3, ERMP1, SVEP1, RMI1, TRPM3, PTGES2, IFT74, FAM214B, GKAP1, PDCD1LG2, AKNA, URM1, ISCA1, DOCK8, ARPC5L, HDHD3, AIF1L, UCK1, ZNF484, FSD1L, CEP78, ZCCHC7, ANKRD20A1, GARNL3, HSDL2, C9orf64, C9orf89, TMEM246, NTNG2, HIATL1, HINT2, C9orf24, PIGO, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, ARHGEF39, C9orf3, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, COL27A1, ALG2, FGD3, MVB12B, TPD52L3, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, IL33, TMEM261, MSANTD3, UAP1L1, SLC25A51, MRRF, RBM18, ARRCDC1, DPH7, ADAMTSL1, TMEM203, KIF12, PALM2, SLC25A25, WDR31, ZNF618, UHRF2, FAM122A, ZMYND19, GRIN3A, TMC1, RNF183, NACC2, C9orf116, C9orf41, C9orf57, C9orf85, C9orf135, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, TAF1L, PTPDC1, ARID3C, RPP25L, C9orf131, OR13C5, OR13C8, OR13C3, OR13C4, OR13F1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, TRPM6, SLC34A3, RNF38, GLIPR2, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, C9orf66, LINGO2, NXNL2, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, RASEF, TTC39B, TRMT10B, TTC16, FAM120AOS, FAM154A, FREM1, , ZNF483, C9orf84, , TSTD2, ZNF782, PRUNE2, STKLD1, KCN2, OLFML2A, TMEM252, QSOX2, GLIS3, ZNF883, ZNF169, AAED1, ZNF367, C9orf91, C9orf72, CCDC171, NAIF1, FAM219A, CCDC107, ANKS6, SUSD3, CBWD5, CDC26, ANKRD18A, PHYHD1, MORNS, OR1L4, TXNDC8, HMCN2, MAMDC2, FRMD3, C9orf43, FAM205A, CRB2, SCAI, C9orf117, C9orf47, SPATA31E1, LCN12, C9orf142, TPRN, TUSC1, FAM78A, LURAP1L, OR13C9, OR13D1, FOXD4L3, IFNE, ZDHHC21, ACER2, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1, KIF24, IGF1, IGFBP1, MURC, FOXD4L4, GLT6D1, ENHO, PTAR1, ERCC6L2, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8, SPATA31A6, SPATA31D4, SPATA31D3, SPATA31D1, C9orf153, IER5L, C9orf171, LCN15, C9orf172, LRRC26, TMEM8C, FAM221B, OR13J1, OR13C2, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9,		

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					FAM102A, PTPLAD2, TMEM215, TOMM5, C9orf170, CENPP, C9orf152, SNX30, WDR38, LCNL1, C9orf139, FAM166A, SOHLH1, PPAPDC2, ZBTB34, MIRLET7A1, MIRLET7D, MIRLET7F1, MIR101-2, MIR126, MIR181A2, MIR181B2, MIR199B, MIR204, MIR23B, MIR24-1, MIR27B, MIR31, MIR32, MIR7-1, C9orf106, IDNK, LCN10, ANKRD20A3, ANKRD20A2, SPATA31C1, NUTM2G, ANKRD18B, C9orf173, NRARP, FOXB2,		
9	193412	138124532	nsv532403	Ganancia	ABCA1, ABCA2, ABL1, ABO, ACO1, PLIN2, AK1, ALAD, ALDH1A1, ALDH1B1, ALDOB, AMBP, ANXA1, NUDT2, APBA1, AQP3, AQP7, ASS1, AUH, BAAT, BAG1, KLF9, C5, C8G, CA9, CACNA1B, CCIN, CCBL1, TNFSF8, ENTPD2, CD72, CDK9, CDKN2A, CDKN2B, CEL, CKS2, CLTA, CNTFR, COL5A1, COL15A1, SLC31A1, SLC31A2, CRAT, , CTSV, CYLC2, DAPK1, BRINP1, DBH, SARDH, DNMT1, DMRT1, ECM2, TOR1A, LPAR1, S1PR3, MEGF9, ELAVL2, ENDOG, ENG, STOM, FANCC, FANCG, FBP1, FKTN, FCN1, FCN2, FOXE1, MLANA, FPG, FXN, NR5A1, FUT7, GALT, GAS1, NR6A1, GCNT1, GGTA1P, B4GALT1, GLDC, GLE1, GNAQ, GNG10, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, GSN, HNRNPK, HSD17B3, DNAJA1, HSPA5, TNC, IARS, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNB1, IFNW1, IL11RA, INSL4, JAK2, LCN1, LCN2, LMX1B, MLLT3, MTAP, MUSK, NCBP1, NDUFA8, NDUFB6, NFIB, NFIL3, NFX1, NINJ1, NOTCH1, NPR2, NTRK2, ROR2, ODF2, OMD, OGN, ORM1, ORM2, PAEP, PAPPA, PAX5, PDCL, PBX3, PCSK5, PGM5, PHF2, PPP2R4, PPP3R2, PPP6C, PRKACG, PRSS3, PSMB7, PSMD5, PTCH1, PTGDS, PTGS1, PTPN3, PTPRD, RAD23B, RALGDS, RFX3, RGS3, RLN1, RLN2, RMRP, RORB, RPL7A, RPL12, RPS6, RXRA, CCL19, CCL21, SET, SH3GL2, SHB, SLC1A1, SMARCA2, SNAPC3, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, SYK, TAL2, TEK, TESK1, TGFBFR1, TLE1, TLE4, TLN1, TLR4, TMOD1, TPM2, TRAF1, TRAF2, TSC1, TTF1, TXN, TYRP1, UGCG, VAV2, VCP, VLDLR, CORO2A, XPA, ZFP37, ZNF79, ZNF189, ZFAND5, NR4A3, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, PIP5K1B, RECK, IKBKAP, CDC14B, TMEFF1, SSNA1, EDF1, CTNNAL1, MPDZ, FBP2, DPM2, FUBP3, CLIC3, PRPF4, KLF4, GTF3C5, GTF3C4, CER1, LHX2, PLAA, GRHPR, FAM189A2, TJP2, MED27, PTGES, ATP6V1G1, GABBR2, GDA, GNA14, RALGPS1, ADAMTSL2, RGP1, TRIM14, MELK, RUSC2, PPP1R26, SEC16A, ZBTB5, KIAA0020, TNFSF15, PTBP3, GNE, SH2D3C, RCL1, TOPORS, RABEPK, SIGMAR1, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, CREB3, UNC13B, SEMA4D, ANP32B, AGPAT2, SPTLC1, POMT1, SMC2, DMRT2, RRAGA, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, CCL27, USP20, ACTL7B, ACTL7A, GADD45G, SPIN1, SEC61B, SLC27A4, SLC35D2, CNTRL, WDR5, C9orf9, ADAMTS13, CACFD1, PSIP1, INSL6, SLC2A6, PTENP1, AKAP2, RPL35, MAN1B1, DCTN3, FRMPD1, DOLK, ZNF510, HABP4, PTGR1, TRIM32, FNBP1, SETX, ERP44, KDM4C, ZBTB43, SMC5, KANK1, FAM120A, PMPCA, VPS13A, ASTN2, AGTPBP1, BICD2, FKBP15, , , EXOSC2, NCS1, TDRD7, SLC44A1, ANGPTL2, NUP188, CDK20, DDX58, RABGAP1,	Forma facial anormal; Retraso del crecimiento intrauterino	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					<p>TMEM2, TMEM245, FRRS1L, SLC24A2, CIZ1, DNAJB5, DCAF12, DFNB31, NELFB, NIPSNAP3A, NSMF, GPSM1, GAPVD1, PHF19, ZNF658, SPATA31A7, FBXW2, SPAG8, OR1J4, OR2K2, FBXO10, GBGT1, LHX6, OSTF1, OR1L3, OR1L1, OR1J2, RANBP6, TRUB2, DNAI1, ST6GALNAC4, INVS, NDOR1, SIT1, SPINK4, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, CD274, ANAPC2, PKN3, DPP7, PSAT1, UBQLN1, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, STOML2, DEC1, PCA3, AK3, EXOSC3, ABHD17B, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, UBAP1, GOLM1, PRRX2, C9orf114, CHMP5, C9orf156, RAB14, TMEM8B, C9orf78, SHC3, POLE3, NANS, FBXW5, MRPL50, RC3H2, EPB41L4B, EQTN, TBC1D13, NUTM2F, DIRAS2, BNC2, HAUS6, ASPN, BSPRY, APTX, TOR4A, CNTLN, TEX10, FOCAD, UBE2R2, EXD3, FAM206A, NMRK1, STX17, NOL8, SPATA6L, C9orf40, TMEM38B, SMU1, RFK, NIPSNAP3B, STRBP, TBC1D2, HEMGN, KIF27, CDC37L1, DENND4C, RABL6, CDK5RAP2, UBAP2, PLGRKT, KLHL9, BARX1, RNF20, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, OR2S2, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, , KCNT1, RIC1, ZBTB26, GBA2, DENND1A, GPR107, SLC46A2, INIP, ZNF462, DMRT3, PRDM12, NAA35, DMRTA1, SLC28A3, CARD9, SUSD1, POLR1E, IPPK, DDX31, FAM129B, LRRC19, MRPL41, NOL6, WNK2, SECISBP2, C9orf16, MAPKAP1, DCAF10, ZCCHC6, GALNT12, EHMT1, MOB3B, CAAP1, CNTNAP3, ERMP1, SVEP1, RMI1, TRPM3, PTGES2, IFT74, FAM214B, GKAP1, PDCD11G2, AKNA, URM1, ISCA1, DOCK8, ARPC5L, HDHD3, AIF1L, UCK1, ZNF484, FSD1L, CEP78, ZCCHC7, ANKRD20A1, GARNL3, HSDL2, C9orf64, C9orf89, TMEM246, NTNG2, HIATL1, HINT2, C9orf24, PIGO, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, ARHGEF39, C9orf3, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, COL27A1, ALG2, FGD3, MVB12B, TPD52L3, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, IL33, TMEM261, MSANTD3, UAP1L1, SLC25A51, MRRF, RBM18, ARRDC1, DPH7, ADAMTSL1, TMEM203, KIF12, PALM2, SLC25A25, WDR31, ZNF618, UHRF2, FAM122A, ZMYND19, GRIN3A, TMC1, RNF183, NACC2, C9orf116, C9orf41, C9orf57, C9orf85, C9orf135, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, TAF1L, PTPDC1, ARID3C, RPP25L, C9orf131, OR13C5, OR13C8, OR13C3, OR13C4, OR13F1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, TRPM6, SLC34A3, RNF38, GLIPR2, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, C9orf66, LINGO2, NXNL2, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, RASEF, TTC39B, TRMT10B, TTC16, FAM120AOS, FAM154A, FREM1, , ZNF483, C9orf84, , TSTD2, ZNF782, PRUNE2, STKLD1, KCNV2, OLFML2A, TMEM252, QSOX2, GLIS3, ZNF883, ZNF169, AAED1, ZNF367, C9orf91, C9orf72, CCDC171, NAIF1, FAM219A, CCDC107, ANKS6, SUSD3, CBWD5, CDC26, ANKRD18A, PHYHD1, MORN5, OR1L4, TXNDC8, HMCN2, MAMDC2, FRMD3, C9orf43, FAM205A, CRB2, SCAI, C9orf117, C9orf47, SPATA31E1, LCN12, C9orf142, TPRN, TUSC1, FAM78A, LURAP1L, OR13C9, OR13D1, FOXD4L3, IFNE, ZDHHC21, ACER2, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1, KIF24, IGFBP1L, MURC, FOXD4L4, GLT6D1, ENHO, PTAR1, ERCC6L2, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8, SPATA31A6, SPATA31D4, SPATA31D3, SPATA31D1, C9orf153, IER5L, C9orf171, LCN15,</p>		

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.	
					C9orf172, LRRC26, TMEM8C, FAM221B, OR13J1, OR13C2, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9, FAM102A, PTPLAD2, TMEM215, TOMM5, C9orf170, CENPP, C9orf152, SNX30, WDR38, LCNL1, C9orf139, FAM166A, SOHLH1, PPAPDC2, ZBTB34, MIRLET7A1, MIRLET7D, MIRLET7F1, MIR101-2, MIR126, MIR181A2, MIR181B2, MIR199B, MIR204, MIR23B, MIR24-1, MIR27B, MIR31, MIR32, MIR7-1, C9orf106, IDNK, LCN10, ANKRD20A3, ANKRD20A2, SPATA31C1, NUTM2G, ANKRD18B, C9orf173, NRARP, FOXB2			
9	204193	138179445	nsv491859	Ganancia	ABCA1, ABCA2, ABL1, ABO, ACO1, PLIN2, AK1, ALAD, ALDH1A1, ALDH1B1, ALDOB, AMBP, ANXA1, NUDT2, APBA1, AQP3, AQP7, ASS1, AUH, BAAT, BAG1, KLF9, C5, C8G, CA9, CACNA1B, CCIN, CCBL1, TNFSF8, ENTPD2, CD72, CDK9, CDKN2A, CDKN2B, CEL, CKS2, CLTA, CNTFR, COL5A1, COL15A1, SLC31A1, SLC31A2, CRAT, , CTSV, CYLC2, DAPK1, BRINP1, DBH, SARDH, DNM1, DMRT1, ECM2, TOR1A, LPAR1, S1PR3, MEGF9, ELAVL2, ENDOG, ENG, STOM, FANCC, FANCG, FBP1, FKTN, FCN1, FCN2, FOXE1, MLANA, FPG, FXN, NR5A1, FUT7, GALT, GAS1, NR6A1, GCNT1, GGTA1P, B4GALT1, GLDC, GLE1, GNAQ, GNG10, GOLGA1, GOLGA2, GPR21, RAPGEF1, GRIN1, GSN, HNRNPK, HSD17B3, DNAJA1, HSPA5, TNC, IARS, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, IFNA6, IFNA7, IFNA8, IFNA10, IFNA13, IFNA14, IFNA16, IFNA17, IFNA21, IFNB1, IFNW1, IL11RA, INSL4, JAK2, LCN1, LCN2, LMX1B, MLLT3, MTAP, MUSK, NCBP1, NDUFA8, NDUFB6, NFIB, NFIL3, NFX1, NINJ1, NOTCH1, NPR2, NTRK2, ROR2, ODF2, OMD, OGN, ORM1, ORM2, PAEP, PAPP, PAX5, PDCL, PBX3, PCSK5, PGM5, PHF2, PPP2R4, PPP3R2, PPP6C, PRKACG, PRSS3, PSMB7, PSMD5, PTCH1, PTGDS, PTGS1 , PTPN3, PTPRD, RAD23B, RALGDS, RFX3, RGS3, RLN1, RLN2, RMRP, RORB, RPL7A, RPL12, RPS6, RXRA, CCL19, CCL21, SET, SH3GL2, SHB, SLC1A1, SMARCA2, SNAPC3, SNAPC4, SPTAN1, STXBP1, SURF1, SURF2, SURF4, MED22, SURF6, SYK, TAL2, TEK, TESK1, TGFBFR1, TLE1, TLE4, TLN1, TLR4, TMOD1, TPM2, TRAF1, TRAF2, TSC1, TTF1, TXN, TYRP1, UGCG, VAV2, VCP, VLDLR, CORO2A, XPA, ZFP37, ZNF79, ZNF189, ZFAND5, NR4A3, BRD3, NUP214, LHX3, GFI1B, PIP5K1B, RECK, IKBKAP, CDC14B, TMEFF1, SSNA1, EDF1, CTNNA1, MPDZ, FBP2, DPM2, FUBP3, CLIC3, PRPF4, KLF4, GTF3C5, GTF3C4, CER1, LHX2, PLAA, GRHRP, FAM189A2, TJP2, MED27, PTGES, ATP6V1G1, GABBR2, GDA, GNA14, RALGPS1, ADAMTSL2, RGP1, TRIM14, MELK, RUSC2, PPP1R26, SEC16A, ZBTB5, KIAA0020, TNFSF15, PTBP3, GNE, SH2D3C, RCL1, TOPORS, RABEPK, SIGMAR1, LAMC3, TUBB4B, UBAC1, OLFM1, ZER1, CREB3, UNC13B, SEMA4D, ANP32B, AGPAT2, SPTLC1, POMT1, SMC2, DMRT2, Rraga, ZBTB6, NEK6, SDCCAG3, NOXA1, CCL27, USP20, ACTL7B, ACTL7A, GADD45G, SPIN1, SEC61B, SLC27A4, SLC35D2, CNTRL, WDR5, C9orf9, ADAMTSL3, CACFD1, PSIP1, INSL6, SLC2A6, PTENP1, AKAP2, RPL35, MAN1B1, DCTN3, FRMPD1, DOLK, ZNF510, HABP4, PTGR1, TRIM32, FNBP1, SETX, ERP44, KDM4C, ZBTB43, SMC5, KANK1, FAM120A, PMPCA, VPS13A, ASTN2, AGTPBP1, BICD2,	Forma facial anormal; Retraso del crecimiento intrauterino	[251]	

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					FKBP15, , , EXOSC2, NCS1, TDRD7, SLC44A1, ANGPTL2, NUP188, CDK20, DDX58, RABGAP1, TMEM2, TMEM245, FRRS1L, SLC24A2, CIZ1, DNAJB5, DCAF12, DFNB31, NELFB, NIPSNAP3A, NSMF, GPSM1, GAPVD1, PHF19, ZNF658, SPATA31A7, FBXW2, SPAG8, OR1J4, OR2K2, FBXO10, GBGT1, LHX6, OSTF1, OR1L3, OR1L1, OR1J2, RANBP6, TRUB2, DNAI1, ST6GALNAC4, INVS, NDOR1, SIT1, SPINK4, TOR1B, TOR2A, NTMT1, PHPT1, CD274, ANAPC2, PKN3, DPP7, PSAT1, UBQLN1, SLC2A8, OBP2B, OBP2A, ST6GALNAC6, STOML2, DEC1, PCA3, AK3, EXOSC3, ABHD17B, MRPS2, COQ4, CERCAM, EGFL7, UBAP1, GOLM1, PRRX2, C9orf114, CHMP5, C9orf156, RAB14, TMEM8B, C9orf78, SHC3, POLE3, NANS, FBXW5, MRPL50, RC3H2, EPB41L4B, EQTN, TBC1D13, NUTM2F, DIRAS2, BNC2, HAUS6, ASPN, BSPRY, APTX, TOR4A, CNTLN, TEX10, FOCAD, UBE2R2, EXD3, FAM206A, NMRK1, STX17, NOL8, SPATA6L, C9orf40, TMEM38B, SMU1, RFK, NIPSNAP3B, STRBP, TBC1D2, HEMGN, KIF27, CDC37L1, DENND4C, RABL6, CDK5RAP2, UBAP2, PLGRKT, KLHL9, BARX1, RNF20, LRRC8A, INPP5E, NPDC1, OR2S2, BARHL1, SH3GLB2, REXO4, DOLPP1, , KCNT1, RIC1, ZBTB26, GBA2, DENND1A, GPR107, SLC46A2, INIP, ZNF462, DMRT3, PRDM12, NAA35, DMRTA1, SLC28A3, CARD9, SUSD1, POLR1E, IPPK, DDX31, FAM129B, LRRC19, MRPL41, NOL6, WNK2, SECISBP2, C9orf16, MAPKAP1, DCAF10, ZCCHC6, GALNT12, EHMT1, MOB3B, CAAP1, CNTNAP3, ERMP1, SVEP1, RMI1, TRPM3, PTGES2, IFT74, FAM214B, GKAP1, PDCD1LG2, AKNA, URM1, ISCA1, DOCK8, ARPC5L, HDHD3, AIF1L, UCK1, ZNF484, FSD1L, CEP78, ZCCHC7, ANKRD20A1, GARNL3, HSDL2, C9orf64, C9orf89, TMEM246, NTNG2, HIATL1, HINT2, C9orf24, PIGO, PRRC2B, PPAPDC3, ZDHHC12, FAM73B, ARHGEF39, C9orf3, FIBCD1, , SNHG7, TMEM141, COL27A1, ALG2, FGD3, MVB12B, TPD52L3, WDR34, SAPCD2, C9orf69, LRSAM1, IL33, TMEM261, MSANTD3, UAP1L1, SLC25A51, MRRF, RBM18, ARRD1, DPH7, ADAMTSL1, TMEM203, KIF12, PALM2, SLC25A25, WDR31, ZNF618, UHRF2, FAM122A, ZMYND19, GRIN3A, TMC1, RNF183, NACC2, C9orf116, C9orf41, C9orf57, C9orf85, C9orf135, LCN8, FAM69B, PTRH1, PIP5KL1, TAF1L, PTPDC1, ARID3C, RPP25L, C9orf131, OR13C5, OR13C8, OR13C3, OR13C4, OR13F1, OR1L8, OR1N2, OR1N1, ASB6, TRPM6, SLC34A3, RNF38, GLIPR2, DAB2IP, CAMSAP1, C9orf62, C9orf66, LINGO2, NXNL2, C9orf163, MAMDC4, LCN6, AK8, OR1Q1, TTLL11, RASEF, TTC39B, TRMT10B, TTC16, FAM120AOS, FAM154A, FREM1, , ZNF483, C9orf84, , TSTD2, ZNF782, PRUNE2, STKLD1, KCNV2, OLFML2A, TMEM252, QSOX2, GLIS3, ZNF883, ZNF169, AAED1, ZNF367, C9orf91, C9orf72, CCDC171, NAIF1, FAM219A, CCDC107, ANKS6, SUSD3, CBWD5, CDC26, ANKRD18A, PHYHD1, MORN5, OR1L4, TXNDC8, HMCN2, MAMDC2, FRMD3, C9orf43, FAM205A, CRB2, SCAI, C9orf117, C9orf47, SPATA31E1, LCN12, C9orf142, TPRN, TUSC1, FAM78A, LURAP1L, OR13C9, OR13D1, FOXD4L3, IFNE, ZDHHC21, ACER2, GPR144, QRFP, OR1J1, OR1B1, KIF24, IGFBP1L, MURC, FOXD4L4, GLT6D1, ENHO, PTAR1, ERCC6L2, SWI5, C9orf50, PNPLA7, CYSRT1, ENTPD8,		

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					SPATA31A6, SPATA31D4, SPATA31D3, SPATA31D1, C9orf153, IER5L, C9orf171, LCN15, C9orf172, LRRC26, TMEM8C, FAM221B, OR13J1, OR13C2, OR1L6, OR5C1, OR1K1, LCN9, FAM102A, PTPLAD2, TMEM215, TOMM5, C9orf170, CENPP, C9orf152, SNX30, WDR38, LCNL1, C9orf139, FAM166A, SOHLH1, PPAPDC2, ZBTB34, MIRLET7A1, MIRLET7D, MIRLET7F1, MIR101-2, MIR126, MIR181A2, MIR181B2, MIR199B, MIR204, MIR23B, MIR24-1, MIR27B, MIR31, MIR32, MIR7-1, C9orf106, IDNK, LCN10, ANKRD20A3, ANKRD20A2, SPATA31C1, NUTM2G, ANKRD18B, C9orf173, NRARP, FOXB2, CBWD3, C9orf129, PALM2-AKAP2, PAPPAS-AS1, DNAJC25, DNAJC25-GNG10, NRON, FAM163B, RNF224, CBWD6, SPATA31C2, HRCT1, SPATA31A1, FOXD4L6, FOXD4L5, MSMP, RNF208, SPATA31A3, SPATA31A5, CBWD7, DNLZ, CNTNAP3B, ANKRD20A4, FAM166B, CDKN2B-AS1, IZUMO3, RNU6ATAC, MIR181A2HG, MIR2861, CCDC180, TMEM210, MSANTD3-TMEFF1, BANCR		
1	186557452	187500338	nsv872590	Ganancia	PLA2G4A, PTGS2		
1	186642428	186700959	nsv470750	Pérdida	PTGS2		
1	182137726	186931125	nsv532617	Pérdida	DHX9, GLUL, LAMC1, LAMC2, NCF2, PDC, PLA2G4A, PTGS2 , RGS16, RNASEL, RNF2, TPR, SMG7, ARPC5, PRG4, IVNS1ABP, OCLM, NMNAT2, COLGALT2, RGL1, SWT1, C1orf27, EDEM3, NPL, C1orf21, SHCBP1L, TRMT1L, HMCN1, RGS8, TSEN15, FAM129A, TEDDM1	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]
1	179032905	199724897	nsv532616	Pérdida	ABL2, CACNA1E, DHX9, F13B, GLUL, CFH, CFHR1, CFHR2, MR1, LAMC1, LAMC2, NCF2, PDC, PLA2G4A, PTGS2 , QSOX1, PTPRC, RGS1, RGS2, RGS13, RGS16, RNASEL, RNF2, SOAT1, TROVE2, TPR, VDAC1P4, NPHS2, B3GALT2, XPR1, CEP350, SMG7, FAM20B, ARPC5, PRG4, STX6, IVNS1ABP, CFHR4, CFHR3, OCLM, NMNAT2, COLGALT2, RGL1, CRB1, TOR1AIP1, GLRX2, IER5, UCHL5, SWT1, C1orf27, LHX9, , TOR3A, RGS18, CDC73, EDEM3, NPL, CFHR5, C1orf21, SHCBP1L, TRMT1L, HMCN1, ACBD6, RGS8, LHX4, TSEN15, FAM129A, AXDND1, ATP6V1G3, ZNF648, TEDDM1, NEK7, FAM163A, DENND1B, TDRD5, TOR1AIP2, ASPM, BRINP3, KCNT2, RGS1, ZBTB41, C1orf53, APOBEC4, MIR181B1, MIR181A1, RGS21	Forma facial anormal ;retraso global en el desarrollo	[252]
19	14492598	14614873	nsv833764	Pérdida	CD97, DDX39A, GIPC1, PKN1, PTGER1		[257]
19	14512488	14603932	nsv911121	Pérdida	CD97, DDX39A, GIPC1, PKN1, PTGER1		

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
19	14526035	14583772	nsv911122	Pérdida	DDX39A, PKN1, PTGER1		
19	14545541	14590612	nsv470127	Pérdida	GIPC1, PKN1, PTGER1		[259]
19	14561721	14620467	nsv911126	Ganancia	GIPC1, PKN1, PTGER1		
19	14580112	14590612	nsv817814	Pérdida	GIPC1, PKN1, PTGER1		[258]
19	14580112	14583582	nsv911127	Pérdida	PKN1, PTGER1		
19	14580327	14614242	nsv527867	Pérdida	GIPC1, PKN1, PTGER1		[256]
19	12132052	14751798	nsv531624	Ganancia	ASNA1, CACNA1A, CALR, CD97, DHPS, DNASE2, FARSA, GCDH, DNAJB1, JUNB, LYL1, MAN2B1, NDUFB7, NFIX, PRKACA, PKN1, PTGER1 , RAD23A, RFX1, PRDX2, ZNF20, ZNF136, STX10, IL27RA, TECR, IER2, DDX39A, ZNF443, RNASEH2A, KLF1, GIPC1, LPHN1, MAST1, C19orf53, HOOK2, TNPO2, EMR2, WDR83OS, ZNF44, BEST2, CC2D1A, TRMT1, ASF1B, ZNF490, ZSWIM4, C19orf43, C19orf57, PODNL1, ZNF442, CCDC130, RTBDN, MRI1, FBXW9, WDR83, ZNF333, EMR3, SAMD1, DCAF15, GADD45GIP1, ZNF799, ZNF625, NACC1, RLN3, ZNF563, ZNF791, ZNF564, ZNF709, DAND5, SYCE2, NANOS3, PALM3, CLEC17A, MIR181C, MIR23A, MIR24-2	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]
19	13974677	27839676	nsv531626	Ganancia	BST2, CD97, COMP, NCAN, NR2F6, GDF1, DNAJB1, IL12RB1, INSL3, JAK3, JUNB, KCNN1, CYP4F3, RAB8A, MYO9B, NDUFB7, NOTCH3, PDE4C, PIK3R2, PRKACA, PKN1, PTGER1 , RAB3A, UPF1, RFX1, RPL18A, SLC1A6, SLC5A5, TPM4, UBA52, ZNF14, ZNF708, ZNF43, ZNF85, ZNF90, ZNF91, ZNF99, ZNF208, ELL, CYP4F2, RFXANK, AP1M1, F2RL3, LPAR2, CRLF1, MED26, HOMER3, IL27RA, GDF15, TECR, ZNF254, SUGP2, DDX39A, AKAP8, B3GNT3, KLF2, IFI30, CHERP, CERS1, GIPC1, ILVBL, CYP4F8, COPE, LPHN1, UNC13A, MAST3, FCHO1, SIN3B, CRTCL, , BRD4, CASP14, FKBP8, TMEM59L, PGLS, LSM4, FAM32A, OR7A17, OR10H3, OR10H2, OR10H1, OR7C2, OR7A5, OR7C1, AKAP8L, ARRDC2, CPAMD8, BABAM1, EMR2, NDUFA13, GMIP, ISYNA1, TM6SF2, DDX49, GATAD2A, PGPEP1, TMEM161A, C19orf60, MAP1S, KLHL26, ASF1B, USE1, ZNF253, ATP13A1, ZNF492, ANO8, SUGP1, CYP4F11, EPS15L1, WIZ, RASAL3, MRPL34, CYP4F12, DDA1, KXD1, TMEM38A, SMIM7, ABHD8, OCEL1, COLGALT1, EPHX3, SLC35E1, ZNF430, PBX4, , ZNF93, PLVAP, USHBP1, TSSK6, C19orf44, ZNF333, EMR3, GTPBP3, MPV17L2, HSH2D, SYDE1, SAMD1, ZNF486, ZNF682, HAUS8, MVB12A, ARMC6, ZNF101, ZNF257, PGLYRP2, CCDC124, NXNL1, CIB3, RLN3, CALR3, LRRC25, OR111, NR2C2AP, CCDC105, CYP4F22, OR10H4, ANKLE1, CILP2, ZNF98, ZNF714, ZNF681, ZNF676, ZNF100, SSBP4, ZNF431, ZNF675, ZNF626, FAM129C, OR10H5, NWD1, SLC25A42, ZNF493, PALM3, ZNF429, YJEFN3, SLC27A1, CLEC17A, ZNF728, OR7A10, HAPLN4, ZNF506, C19orf67, UCA1, MEF2BNB, ZNF726, ZNF730, ZNF737, TMEM221, MEF2B, ZNF729	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
14	52697232	52894988	nsv832795	Ganancia	PTGDR, PTGER2		
14	50591011	56286919	nsv530041	Pérdida	BMP4, CDKN3, GCH1, GMFB, KTN1, LGALS3, PSMC6, PTGDR, PTGER2 , PYGL, STYX, DLGAP5, CNIH1, CGRRF1, FERMT2, WDHD1, NID2, ATG14, SAMD4A, ERO1L, ATL1, NIN, C14orf166, GNG2, FBXO34, PELI2, TXNDC16, SAV1, GNPAT1, DDHD1, TMX1, MAPK1IP1L, TRIM9, FRMD6, SOCS4, ABHD12B, GPR137C, UBE2L1, TBPL2	Macrocefalia	[252]
1	71481049	71519326	nsv871242	Pérdida	LOC100132618, PTGER3		
1	67239704	71924806	nsv532510	Pérdida	CTH, GADD45A, IL12RB2, PIN1P1, PTGER3 , RPE65, DIRAS3, SRSF11, ZRANB2, HHLA3, SERBP1, LRRC40, DEPDC1, GNG12, LRRC7, WLS, ANKRD13C, IL23R, NEGR1, NEGR1-IT1, ZRANB2-AS2	Aracnodactilia; discapacidad intelectual; Microcefalia	[252]
1	59632500	76730877	nsv532509	Pérdida	ACADM, AK4, CRYZ, CTH, CYP2J2, GADD45A, IL12RB2, JAK1, LEPR, MSH4, NFIA, ROR1, PDE4B, PGM1, PIN1P1, PTGER3 , RABGGTB, RPE65, USP1, FPGT, DIRAS3, SRSF11, ZRANB2, DNAJC6, INSL5, INADL, HHLA3, SLC35D1, ITGB3BP, SERBP1, FOXD3, ANGPTL3, ALG6, TNNT3, HOOK1, L1TD1, LEPROT, RAVER2, FGGY, LRRC40, DEPDC1, GNG12, LRRC7, CACHD1, MIER1, WDR78, WLS, ANKRD13C, TM2D1, SGIP1, EFCAB7, ATG4C, DOCK7, ASB17, TYW3, ERICH3, LRRIQ3, C1orf87, UBE2U, IL23R, KANK4, TCTEX1D1, SLC44A5, ST6GALNAC3, NEGR1, C1orf141, MIR101-1, LHX8	Retraso en el desarrollo global	[252]
1	52595352	76767765	nsv530344	Ganancia	ACADM, AK4, C8A, C8B, CPT2, CRYZ, CTH, CYP2J2, DAB1, GADD45A, DHCR24, DIO1, GPX7, IL12RB2, JAK1, JUN, LEPR, TACSTD2, MAGOH, MSH4, NFIA, ROR1, PDE4B, PGM1, PIN1P1, PRKAA2, PTGER3 , RABGGTB, RPE65, SCP2, SLC1A7, TTC4, USP1, LRP8, BSND, PPAP2B, FPGT, DIRAS3, SRSF11, ZRANB2, TMEM59, DNAJC6, INSL5, INADL, HHLA3, SLC35D1, USP24, ITGB3BP, SSBP3, PARS2, ACOT11, SERBP1, FOXD3, ANGPTL3, ALG6, TNNT3, MRPL37, HOOK1, HSPB11, YIPF1, L1TD1, LEPROT, C1orf123, TTC22, RAVER2, ECHDC2, FGGY, LRRC40, DEPDC1, NDC1, GNG12, LRRC7, CACHD1, MIER1, DMRTB1, COA7, ZYG11B, WDR78, WLS, ANKRD13C, TM2D1, SGIP1, EFCAB7, ATG4C, DOCK7, MYSM1, OMA1, LRRC42, ASB17, TYW3, ERICH3, LRRIQ3, TCEANC2, PODN, C1orf87, UBE2U, GLIS1, IL23R, C1orf177, KANK4, C1orf168, TMEM61, CDCP2, TCTEX1D1, SLC44A5, PCSK9, ST6GALNAC3, NEGR1, FAM151A, FAM159A, MROH7, LDLRAD1, C1orf141, MIR101-1, LHX8, ZYG11A, CYB5RL, FPGT-TNNT3, NEGR1-IT1, ZRANB2-AS2	Aspiración; Fallo en el crecimiento; Retraso global en el desarrollo; neumonía	[252]
5	40662256	40713645	nsv880539	Pérdida	PTGER4 , TTC33		
5	36374107	51103841	nsv530358	Ganancia	C6, C7, C9, DAB2, FGF10, FYB, GDNF, GHR, HMGCS1, LIFR, OXCT1, PRKAA1, PTGER4 , RPL37, SEPP1, SLC1A3, ZNF131, OSMR, NUP155, PAIP1, MRPS30, NNT, TTC33, NIPBL, FBXO4, WDR70, CCL28, C5orf28, C5orf42, PARP8, CARD6, EMB, MROH2B, EGLAM, RICTOR, C5orf51, PLCXD3,	Retraso global del desarrollo	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					HCN1, C5orf34, ANXA2R, CCDC152, EGFLAM-AS2,		
5	35700480	45260029	nsv530357	Ganancia	C6, C7, C9, DAB2, FGF10, FYB, GDNF, GHR, HMGCS1, IL7R, LIFR, OXCT1, PRKAA1, PTGER4 , RPL37, SEPP1, SKP2, SLC1A3, ZNF131, OSMR, NUP155, PAIP1, MRPS30, NNT, TTC33, NIPBL, FBXO4, WDR70, CCL28, C5orf28, C5orf42, SPEF2, CARD6, LMBRD2, MROH2B, EGFLAM, NADK2, UGT3A1, CAPSL, UGT3A2, RANBP3L, RICTOR, C5orf51, PLCXD3, HCN1, C5orf34, ANXA2R, CCDC152, EGFLAM-AS2, EGFLAM-AS4, GDNF-AS1	Forma facial anormal; Morfología cardiaca con anomalías; Craniosinostosis; Dificultad de alimentación en la infancia; Retraso en el crecimiento intrauterino; hipotonía muscular; baja estatura.	[252]
5	26593632	50288555	nsv530356	Ganancia	C6, C7, C9, CDH6, CDH9, DAB2, FGF10, FYB, GDNF, GHR, HMGCS1, IL7R, LIFR, NPR3, OXCT1, PRKAA1, PRLR, PTGER4 , RAD1, RPL37, SEPP1, SKP2, SLC1A3, TARS, ZNF131, OSMR, NUP155, PAIP1, MRPS30, SUB1, PDZD2, NNT, TTC33, AMACR, NIPBL, RAI14, FBXO4, DROSHA, SLC45A2, RXFP3, ZFR, MTMR12, WDR70, BRX1, C5orf22, CCL28, GOLPH3, C5orf28, AGXT2, C5orf42, SPEF2, ADAMTS12, CARD6, LMBRD2, C1QTNF3, MROH2B, EGFLAM, NADK2, UGT3A1, CAPSL, DNAJC21, TTC23L, UGT3A2, RANBP3L, RICTOR, C5orf51, PLCXD3, HCN1, C5orf34, ANXA2R, CCDC152, EGFLAM-AS2, EGFLAM-AS4	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]
5	54839	45649861	nsv530331	Ganancia	ADCY2, C6, C7, C9, CDH6, CDH9, CDH10, CDH12, CDH18, CTNND2, DAB2, DAP, DNAH5, FGF10, FYB, GDNF, GHR, HMGCS1, IL7R, LIFR, MTRR, MYO10, NDUFS6, NPR3, OXCT1, PMCHL1, PRKAA1, PRLR, PTGER4 , RAD1, RPL37, SDHA, SEPP1, SKP2, SLC1A3, SLC6A3, SLC9A3, SRD5A1, TARS, TERT, TRIO, ZNF131, SEMA5A, OSMR, TRIP13, NUP155, PDCD6, MARCH6, BASP1, PAIP1, SLC12A7, MRPS30, SUB1, PAPD7, TPPP, EXOC3, CCT5, PDZD2, FBXL7, , NNT, TTC33, AMACR, NIPBL, RAI14, FBXO4, DROSHA, IRX4, TAS2R1, SLC45A2, RXFP3, ZFR, FAM134B, FAM105A, MTMR12, NSUN2, WDR70, BRX1, C5orf22, CEP72, ANKH, CCL28, PRDM9, AHRH, GOLPH3, C5orf28, AGXT2, MRPL36, C5orf42, BRD9, FASTKD3, IRX1, ZDHHC11, LPCAT1, SPEF2, CLPTM1L, ADAMTS12, ROPN1L, MED10, CARD6, NKD2, OTULIN, ZNF622, LMBRD2, C1QTNF3, C5orf55,	Retraso en el desarrollo y/o otros fenotipos morfológicos o del desarrollo anormales significativos	[252]

Chr	Posición cromosómica inicial	Posición cromosómica final	Nombre del CNV	Tipo de variación	Genes	Asociación con patologías previa (información de ClinVar)	Ref.
					MROH2B , EGFLAM, NADK2, UGT3A1, CAPSL, CCDC127, UBE2QL1, C5orf49, FAM173B, CMBL, DNAJC21, PLEKHG4B, C5orf38, IRX2, TTC23L, UGT3A2, ADAMTS16, RANBP3L, RICTOR, C5orf51, SLC6A19, PLCXD3, SLC6A18, HCN1, C5orf34, LRRC14B, ANXA2R, LINC01194, C5orf17, MARCH11, ANKRD33B, ZDHHC11B, CCDC152, EGFLAM-AS2, EGFLAM-AS4, GDNF-AS1		

Tabla S1: Información sobre los CNV estudiados previamente, localizados en la misma región que se ha analizado en este estudio. En negrita se ha subrayado el gen de interés de nuestro estudio. El resto de los genes son los que han sido duplicados o delecionados en cada una de las variantes. La información fue tomada de la base de datos de UCSC (GRCh37/hg19)[195] y ClinVar [196].Chr: cromosoma. Ref: referencia.

GEN	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p-valor	FDR (%)
TSLP	rs990790	G/A	0.626	0.65	0.79	0.62-2.38	0.053	31.5
TSLP	rs1816678	G/A	0.598	0.58	0.76	0.59-2.33	0.033	31.5
TSLP	rs12517104	T/A	0.648	0.61	1.19	0.93-2.46	0.173	86.7
TSLP	rs991035	A/G	0.621	0.68	0.79	0.63-2.35	0.050	31.5
TSLP	rs1438670	C/T	0.622	0.68	0.79	0.63-2.35	0.052	31.5
TSLP	rs764917	A/C	0.540	0.98	0.81	0.67-2.07	0.024	31.5
TSLP	rs1837253	T/C	0.224	0.98	1.11	0.89-1.57	0.366	91.5
TSLP	rs10061842	A/C	0.116	0.81	1.02	0.74-1.55	0.886	91.7
TSLP	rs4304115	G/C	0.110	0.87	1.05	0.76-1.53	0.786	91.5
TSLP	rs17551370	A/G	0.109	0.87	1.05	0.76-1.53	0.773	91.5
TSLP	rs10455025	A/C	0.556	0.81	1.11	0.90-2.15	0.316	91.5
TSLP	rs3806932	G/A	0.392	1.00	1.08	0.89-1.79	0.455	91.5
TSLP	rs3806933	T/C	0.385	0.96	1.07	0.88-1.78	0.482	91.5
TSLP	rs2289276	C/T	0.724	1.00	0.95	0.77-2.54	0.626	91.5
TSLP	rs1898671	C/T	0.559	0.80	1.11	0.90-2.16	0.318	91.5
TSLP	rs10062929	A/C	0.110	0.90	1.06	0.78-1.52	0.709	91.5
TSLP	rs11466741	C/T	0.723	0.96	0.95	0.77-2.55	0.633	91.5
TSLP	rs11466749	G/A	0.139	0.68	1.08	0.79-1.58	0.626	91.5
TSLP	rs11466750	A/G	0.113	0.86	1.06	0.78-1.53	0.702	91.5
TSLP	rs10073816	A/G	0.394	0.88	1.07	0.88-1.81	0.487	91.5
TSLP	rs11466754	G/C	0.111	0.81	1.06	0.77-1.55	0.721	91.5
TSLP	rs56390548	C/A	0.111	0.81	1.06	0.76-1.55	0.723	91.5
TSLP	rs6594497	T/A	0.398	0.84	1.06	0.87-1.83	0.559	91.5
TSLP	rs12110124	T/C	0.717	0.85	0.94	0.76-2.56	0.616	91.5
TSLP	rs2416259	A/G	0.887	0.97	0.97	0.73-3.23	0.854	91.5
TSLP	rs2416258	T/C	0.887	0.98	0.97	0.73-3.23	0.853	91.5
TSLP	rs897801	T/C	0.887	0.98	0.97	0.73-3.23	0.853	91.5
TSLP	rs897800	A/G	0.719	0.78	0.94	0.75-2.59	0.626	91.5
TSLP	rs146292788	G/A	0.720	0.75	0.94	0.74-2.61	0.630	91.5

Tabla S2: Resultados de imputación y de asociación para los SNP de *TSLP* con NIUA. Freq1; Frecuencia del SNP uno, RSQR; rsq del archivo info, valor de calidad de la imputación que correlaciona los resultados imputados y los genotipados. OR; Odds Ratio, CI; Intervalo de confianza (95%), p-valor; p-valor del likelihood ratio. FDR; p-valor (%) tras la corrección por tasa de falso descubrimiento.

GEN	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p-valor	FDR (%)
IL7R	rs4370302	A/G	0.602	0.99	0.97	0.81-2.19	0.775	77.5
IL7R	rs1494565	T/G	0.602	1.00	0.97	0.81-2.19	0.775	77.5
IL7R	rs34496007	C/A	0.852	0.87	0.86	0.65-3.09	0.294	65.5
IL7R	rs7709291	C/G	0.585	0.91	0.96	0.80-2.17	0.704	76.5
IL7R	rs35588638	T/C	0.852	0.87	0.86	0.65-3.09	0.298	65.5

GEN	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p-valor	FDR (%)
IL7R	rs2361396	A/T	0.824	0.83	1.09	0.84-2.98	0.506	69.6
IL7R	rs62355272	C/A	0.692	0.89	0.91	0.73-2.46	0.359	65.5
IL7R	rs34463936	T/C	0.256	0.87	0.94	0.75-1.62	0.614	75.1
IL7R	rs6879529	A/G	0.404	0.84	1.03	0.84-1.84	0.752	77.5
IL7R	rs57545288	C/T	0.690	0.88	0.91	0.73-2.46	0.360	65.5
IL7R	rs12516866	T/G	0.406	0.85	1.03	0.84-1.84	0.755	77.5
IL7R	rs6890853	A/G	0.256	0.89	0.95	0.76-1.62	0.633	75.4
IL7R	rs35648552	G/T	0.715	0.87	1.15	0.93-2.55	0.203	56.5
IL7R	rs13188960	T/G	0.254	0.89	0.95	0.76-1.62	0.637	75.4
IL7R	rs1494562	T/C	0.713	0.88	1.15	0.93-2.54	0.202	56.5
IL7R	rs2172749	C/G	0.713	0.88	1.15	0.93-2.54	0.201	56.5
IL7R	rs4869492	T/C	0.850	0.88	0.87	0.66-3.08	0.321	65.5
IL7R	rs11567685	T/C	0.690	0.90	0.91	0.74-2.45	0.371	65.5
IL7R	rs11567686	A/G	0.714	0.89	1.15	0.93-2.54	0.205	56.5
IL7R	rs1353252	C/G	0.714	0.89	1.15	0.93-2.54	0.205	56.5
IL7R	rs1353251	C/T	0.827	0.84	1.09	0.84-2.98	0.523	70.1
IL7R	rs1494561	G/C	0.714	0.89	1.15	0.93-2.54	0.205	56.5
IL7R	rs1353250	G/A	0.714	0.89	1.15	0.93-2.54	0.205	56.5
IL7R	rs11567694	G/A	0.251	0.92	0.96	0.77-1.61	0.717	76.5
IL7R	rs10213865	C/A	0.251	0.92	0.96	0.77-1.61	0.717	76.5
IL7R	rs11567697	A/G	0.889	0.98	1.18	0.87-3.30	0.297	65.5
IL7R	rs1389832	G/A	0.714	0.89	1.15	0.93-2.53	0.203	56.5
IL7R	rs11567699	C/G	0.690	0.91	0.91	0.74-2.45	0.369	65.5
IL7R	rs11567701	G/T	0.690	0.91	0.91	0.74-2.45	0.368	65.5
IL7R	rs1494560	G/A	0.714	0.89	1.15	0.93-2.53	0.202	56.5
IL7R	rs1494559	T/C	0.848	0.89	0.88	0.67-3.06	0.369	65.5
IL7R	rs1494558	C/T	0.712	0.89	1.15	0.93-2.53	0.196	56.5
IL7R	rs11567705	G/C	0.251	0.93	0.96	0.77-1.60	0.723	76.5
IL7R	rs969128	A/G	0.849	0.89	0.88	0.67-3.07	0.370	65.5
IL7R	rs969129	G/T	0.716	0.89	1.15	0.93-2.54	0.200	56.5
IL7R	rs7717955	T/C	0.247	0.95	0.96	0.77-1.60	0.738	77.3
IL7R	rs11567714	C/T	0.889	1.00	1.18	0.87-3.29	0.295	65.5
IL7R	rs6451226	G/A	0.714	0.90	1.15	0.93-2.53	0.199	56.5
IL7R	rs6893142	G/A	0.715	0.89	1.15	0.93-2.54	0.197	56.5
IL7R	rs1389830	C/T	0.715	0.89	1.15	0.93-2.54	0.197	56.5
IL7R	rs10044838	T/C	0.714	0.90	1.15	0.93-2.53	0.198	56.5
IL7R	rs11567722	C/T	0.848	0.90	0.89	0.68-3.05	0.376	65.5
IL7R	rs7701111	G/C	0.714	0.90	1.15	0.93-2.53	0.197	56.5
IL7R	rs7720993	A/T	0.714	0.90	1.15	0.93-2.53	0.197	56.5
IL7R	rs6451227	C/T	0.714	0.89	1.15	0.93-2.54	0.196	56.5

GEN	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p-valor	FDR (%)
IL7R	rs6451228	T/C	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.195	56.5
IL7R	rs6451229	A/G	0.537	0.91	0.86	0.71-2.08	0.138	56.5
IL7R	rs6451230	C/T	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.195	56.5
IL7R	rs6891095	T/C	0.846	0.90	0.89	0.68-3.05	0.381	65.5
IL7R	rs7711268	A/G	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.194	56.5
IL7R	rs7711202	G/A	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.194	56.5
IL7R	rs7711208	G/A	0.713	0.90	1.15	0.93-2.53	0.195	56.5
IL7R	rs10058680	A/G	0.847	0.91	0.89	0.68-3.05	0.384	65.5
IL7R	rs1494557	G/C	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.193	56.5
IL7R	rs10461959	T/C	0.825	0.84	1.09	0.84-2.97	0.503	69.6
IL7R	rs11567737	T/C	0.713	0.91	1.15	0.93-2.53	0.193	56.5
IL7R	rs11567738	A/T	0.847	0.92	0.89	0.68-3.04	0.397	65.5
IL7R	rs10074127	T/G	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.193	56.5
IL7R	rs10074095	G/C	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.193	56.5
IL7R	rs1494556	A/C	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.192	56.5
IL7R	rs3777090	T/A	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.192	56.5
IL7R	rs10941267	A/G	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.192	56.5
IL7R	rs1494555	A/G	0.715	0.90	1.15	0.93-2.54	0.191	56.5
IL7R	rs2228141	C/T	0.847	0.93	0.89	0.68-3.04	0.402	65.5
IL7R	rs11567751	C/T	0.689	0.94	0.91	0.74-2.44	0.350	65.5
IL7R	rs11567754	T/A	0.847	0.93	0.89	0.69-3.04	0.404	65.5
IL7R	rs11567761	A/G	0.846	0.93	0.89	0.69-3.04	0.405	65.5
IL7R	rs11567762	G/A	0.873	0.60	1.12	0.79-3.42	0.519	70.1
IL7R	rs1494554	T/G	0.689	0.94	0.91	0.74-2.44	0.351	65.5
IL7R	rs6897932	T/C	0.245	1.00	0.97	0.78-1.59	0.764	77.5
IL7R	rs3822733	T/C	0.690	0.95	0.91	0.74-2.45	0.348	65.5
IL7R	rs987107	G/A	0.691	0.95	0.91	0.75-2.45	0.346	65.5
IL7R	rs3822731	A/G	0.847	0.94	0.90	0.69-3.03	0.416	66.4
IL7R	rs987106	T/A	0.559	0.94	1.06	0.88-2.12	0.548	71.8
IL7R	rs3194051	A/G	0.691	0.95	0.91	0.74-2.45	0.341	65.5
IL7R	rs10063294	A/G	0.566	0.91	1.06	0.87-2.14	0.546	71.8
IL7R	rs9292617	T/A	0.720	0.87	1.16	0.93-2.56	0.198	56.5
IL7R	rs10491434	A/G	0.692	0.96	0.90	0.74-2.44	0.332	65.5
IL7R	rs10053847	G/A	0.848	0.98	0.91	0.70-3.02	0.478	69.6
IL7R	rs7716064	A/G	0.720	0.87	1.16	0.93-2.56	0.199	56.5
IL7R	rs9292618	G/A	0.848	0.99	0.91	0.71-3.02	0.483	69.6
IL7R	rs6451231	C/T	0.719	0.86	1.16	0.93-2.56	0.198	56.5
IL7R	rs6881270	T/C	0.261	0.88	0.96	0.76-1.63	0.700	76.5
IL7R	rs13167136	G/A	0.848	1.00	0.92	0.71-3.02	0.496	69.6
IL7R	rs6881706	T/G	0.261	0.88	0.96	0.76-1.63	0.697	76.5

GEN	Rs	Alelo 1/ Alelo 2	FREQ1	RSQR	OR	CI (95%)	p-valor	FDR (%)
<i>IL7R</i>	rs1053496	T/C	0.694	0.97	0.90	0.74-2.45	0.319	65.5
<i>IL7R</i>	rs700179	A/G	0.697	0.99	0.90	0.74-2.45	0.308	65.5
<i>IL7R</i>	rs1862632	A/G	0.844	0.91	0.91	0.70-3.03	0.505	69.6
<i>IL7R</i>	rs1862634	C/T	0.809	0.48	1.10	0.78-3.18	0.579	72.3
<i>IL7R</i>	rs1494571	G/C	0.663	0.61	0.90	0.70-2.49	0.402	65.5
<i>IL7R</i>	rs1389835	G/A	0.822	0.57	0.93	0.67-3.13	0.634	75.4
<i>IL7R</i>	rs1389834	G/C	0.820	0.54	0.93	0.67-3.14	0.651	76.1
<i>IL7R</i>	rs10058453	T/C	0.884	0.98	0.92	0.69-3.20	0.555	71.8
<i>IL7R</i>	rs10058572	T/G	0.508	0.43	0.90	0.68-2.20	0.460	68.4
<i>IL7R</i>	rs11742240	T/G	0.332	0.46	0.81	0.60-1.86	0.146	56.5
<i>IL7R</i>	rs11742270	A/G	0.331	0.46	0.81	0.60-1.86	0.146	56.5
<i>IL7R</i>	rs11957503	T/G	0.456	0.48	0.90	0.69-2.06	0.446	67.3
<i>IL7R</i>	rs11960511	A/G	0.641	0.46	0.92	0.70-2.52	0.575	72.3
<i>IL7R</i>	rs11954020	C/G	0.456	0.48	0.90	0.69-2.06	0.446	67.3
<i>IL7R</i>	rs10214237	C/T	0.336	0.42	0.80	0.59-1.89	0.149	56.5
<i>IL7R</i>	rs2194226	C/A	0.456	0.48	0.90	0.69-2.06	0.447	67.3
<i>IL7R</i>	rs2194225	T/C	0.456	0.48	0.90	0.69-2.06	0.446	67.3
<i>IL7R</i>	rs10214273	G/T	0.336	0.42	0.80	0.59-1.89	0.149	56.5
<i>IL7R</i>	rs10044883	C/T	0.881	0.86	0.92	0.68-3.25	0.562	71.9
<i>IL7R</i>	rs6871748	C/T	0.336	0.41	0.80	0.59-1.90	0.149	56.5
<i>IL7R</i>	rs16899999	C/G	0.816	0.41	0.93	0.65-3.27	0.718	76.5
<i>IL7R</i>	rs13172065	A/G	0.816	0.41	0.93	0.65-3.27	0.718	76.5
<i>IL7R</i>	rs10043573	G/A	0.816	0.41	0.93	0.65-3.28	0.719	76.5
<i>IL7R</i>	rs67207043	G/A	0.642	0.45	0.93	0.69-2.53	0.596	73.7
<i>IL7R</i>	rs6888699	T/C	0.816	0.40	0.93	0.64-3.28	0.718	76.5

Tabla S3: Resultados de imputación y de asociación para los SNP de *IL7R* con NIUA. Freq1; Frecuencia del SNP uno, RSQR; rsq del archivo info, valor de calidad de la imputación que correlaciona los resultados imputados y los genotipados. OR; Odds Ratio, CI; Intervalo de confianza (95%), p-valor; p-valor del likelihood ratio. FDR; p-valor (%) tras la corrección por la tasa de falso descubrimiento.

SNP	Alelos (M, m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
				NIUA vs controles sanos			NERD vs controles sanos			Reacciones mixtas vs controles sanos		
rs6728523	G,C	0.27	0.59	0.59 (0.43-0.80)	6.15E-04	2,04E-03	0.66 (0.42-1.03)	6.57E-02	2,90E-01	0.87 (0.58-1.32)	5.20E-01	8,65E-01
rs2302647	G,A	0.27	0.59	0.59 (0.43-0.80)	6.17E-04	2,04E-03	0.66 (0.42-1.03)	6.58E-02	2,90E-01	0.87 (0.58-1.32)	5.20E-01	8,65E-01
rs74181299	T,C	0.42	0.87	0.81 (0.65-1.01)	5.61E-02	8,49E-02	0.84 (0.61-1.16)	2.88E-01	5,65E-01	0.91 (0.67-1.25)	5.72E-01	8,68E-01
rs2540949	A,T	0.41	0.9	0.81 (0.65-1.00)	5.35E-02	8,49E-02	0.85 (0.61-1.16)	3.03E-01	5,73E-01	0.92 (0.68-1.24)	5.79E-01	8,68E-01
rs2540948	T,C	0.38	0.78	0.84 (0.67-1.07)	1.57E-01	1,80E-01	0.86 (0.60-1.23)	4.10E-01	5,86E-01	0.94 (0.67-1.32)	7.27E-01	8,75E-01
rs2540947	A,G	0.14	0.33	1.37 (0.83-2.25)	2.15E-01	2,24E-01	1.35 (0.64-2.83)	4.32E-01	5,86E-01	0.93 (0.44-2.00)	8.58E-01	8,91E-01
rs62140397	C,T	0.14	0.33	1.37 (0.83-2.25)	2.15E-01	2,24E-01	1.35 (0.64-2.83)	4.32E-01	5,86E-01	0.93 (0.44-1.99)	8.57E-01	8,91E-01
rs2723080	C,T	0.14	0.33	1.37 (0.83-2.27)	2.15E-01	2,24E-01	1.35 (0.64-2.86)	4.34E-01	5,86E-01	0.93 (0.43-2.01)	8.58E-01	8,91E-01
rs2723081	G,C	0.14	0.33	1.37 (0.83-2.25)	2.16E-01	2,24E-01	1.34 (0.64-2.82)	4.33E-01	5,86E-01	0.93 (0.44-1.99)	8.58E-01	8,91E-01
rs2540946	C,G	0.14	0.34	1.34 (0.83-2.18)	2.31E-01	2,35E-01	1.32 (0.64-2.72)	4.46E-01	5,86E-01	0.93 (0.45-1.94)	8.47E-01	8,91E-01
rs2249105	A,G	0.4	-	0.78 (0.63-0.96)	1.75E-02	4,21E-02	0.89 (0.65-1.20)	4.38E-01	5,86E-01	1.00 (0.75-1.33)	5.90E-01	8,68E-01
rs2723082	C,T	0.32	0.7	0.81 (0.63-1.06)	1.30E-01	1,53E-01	0.91 (0.61-1.35)	6.26E-01	6,50E-01	0.93 (0.63-1.37)	7.10E-01	8,75E-01
rs2540945	A,G	0.35	0.75	0.75 (0.59-0.97)	2.86E-02	6,06E-02	0.87 (0.60-1.26)	4.60E-01	5,86E-01	0.89 (0.62-1.28)	5.33E-01	8,65E-01
rs2723083	C,T	0.32	0.69	0.81 (0.62-1.06)	1.30E-01	1,53E-01	0.92 (0.61-1.37)	6.70E-01	6,82E-01	0.93 (0.63-1.37)	7.07E-01	8,75E-01
rs2241161	C,A	0.38	-	0.75 (0.54-1.03)	1.70E-02	4,21E-02	0.83 (0.52-1.33)	4.44E-01	5,86E-01	0.87 (0.56-1.35)	5.30E-01	8,65E-01
rs2241160	A,G	0.38	0.64	0.73 (0.56-0.96)	2.59E-02	5,71E-02	0.86 (0.58-1.28)	4.65E-01	5,86E-01	0.89 (0.61-1.30)	5.39E-01	8,65E-01
rs2901749	G,T	0.19	0.57	0.51 (0.35-0.74)	3.74E-04	1,41E-03	0.65 (0.38-1.12)	1.18E-01	2,97E-01	0.81 (0.50-1.32)	4.01E-01	8,65E-01
rs2080385	G,T	0.22	0.54	0.43 (0.30-0.62)	6.61E-06	4,37E-05	0.60 (0.35-1.01)	5.45E-02	2,90E-01	0.75 (0.46-1.21)	2.39E-01	6,91E-01
rs75678687	G,A	0.19	0.58	0.51 (0.35-0.73)	2.59E-04	1,05E-03	0.64 (0.38-1.10)	1.06E-01	2,97E-01	0.79 (0.49-1.29)	3.54E-01	8,52E-01
rs62140398	C,T	0.12	0.39	1.60 (0.97-2.64)	6.51E-02	8,55E-02	1.78 (0.87-3.65)	1.18E-01	2,97E-01	1.12 (0.53-2.38)	7.68E-01	8,84E-01

SNP	Alelos (M, m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
				NIUA vs controles sanos			NERD vs controles sanos			Reacciones mixtas vs controles sanos		
rs79157909	T,G	0.16	0.42	0.46 (0.29-0.72)	8.30E-04	2,58E-03	0.62 (0.32-1.20)	1.53E-01	3,24E-01	0.81 (0.44-1.48)	4.95E-01	8,65E-01
rs2252867	T,C	0.34	0.69	0.69 (0.53-0.91)	7.16E-03	1,99E-02	0.84 (0.57-1.25)	4.00E-01	5,86E-01	0.82 (0.56-1.21)	3.24E-01	8,17E-01
rs7572857	G,A	0.14	-	0.55 (0.42-0.73)	1.67E-05	9,83E-05	0.74 (0.50-1.10)	1.35E-01	3,09E-01	0.81 (0.56-1.17)	2.61E-01	6,91E-01
rs2723084	C,T	0.12	0.39	1.60 (0.97-2.64)	6.36E-02	8,55E-02	1.78 (0.87-3.65)	1.15E-01	2,97E-01	1.13 (0.54-2.40)	7.43E-01	8,75E-01
rs2723085	C,G	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.71E-02	8,49E-02	0.89 (0.59-1.33)	5.66E-01	5,99E-01	0.86 (0.58-1.27)	4.44E-01	8,65E-01
rs2723086	C,T	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.69E-02	8,49E-02	0.89 (0.59-1.33)	5.64E-01	5,99E-01	0.86 (0.58-1.27)	4.42E-01	8,65E-01
rs2723087	T,A	0.31	0.68	0.76 (0.57-1.00)	4.62E-02	8,49E-02	0.89 (0.59-1.33)	5.62E-01	5,99E-01	0.86 (0.58-1.27)	4.38E-01	8,65E-01
rs17849707	A,G	0.2	0.57	0.49 (0.34-0.70)	1.09E-04	4,81E-04	0.62 (0.37-1.06)	8.08E-02	2,97E-01	0.75 (0.46-1.22)	2.53E-01	6,91E-01
rs2723088	C,A	0.12	0.39	1.60 (0.97-2.64)	6.43E-02	8,55E-02	1.78 (0.87-3.65)	1.16E-01	2,97E-01	1.14 (0.54-2.41)	7.35E-01	8,75E-01
rs2723089	G,C	0.12	0.39	1.60 (0.97-2.64)	6.44E-02	8,55E-02	1.78 (0.87-3.65)	1.16E-01	2,97E-01	1.14 (0.54-2.41)	7.34E-01	8,75E-01
rs12621608	C,T	0.16	0.49	0.43 (0.29-0.65)	5.85E-05	2,81E-04	0.57 (0.32-1.03)	6.42E-02	2,90E-01	0.57 (0.32-1.00)	5.18E-02	3,05E-01
rs2723090	G,A	0.12	0.39	1.60 (0.97-2.63)	6.62E-02	8,55E-02	1.78 (0.87-3.64)	1.17E-01	2,97E-01	1.14 (0.54-2.42)	7.23E-01	8,75E-01
rs2723091	C,T	0.29	0.66	0.76 (0.58-1.01)	5.57E-02	8,49E-02	0.89 (0.59-1.34)	5.65E-01	5,99E-01	0.76 (0.50-1.14)	1.82E-01	5,67E-01
rs6546123	C,T	0.32	0.64	0.68 (0.52-0.90)	7.03E-03	1,99E-02	0.83 (0.55-1.25)	3.79E-01	5,86E-01	0.72 (0.48-1.08)	1.10E-01	5,30E-01
rs6732556	A,G	0.12	0.39	1.56 (0.95-2.58)	7.97E-02	1,00E-01	1.74 (0.85-3.59)	1.32E-01	3,09E-01	1.15 (0.54-2.44)	7.15E-01	8,75E-01
rs76221156	C,T	0.11	0.61	0.34 (0.22-0.53)	1.74E-06	1,31E-05	0.46 (0.24-0.87)	1.81E-02	1,37E-01	0.51 (0.28-0.93)	2.80E-02	2,12E-01
rs6736728	T,C	0.29	0.68	0.76 (0.58-1.00)	5.30E-02	8,49E-02	0.88 (0.59-1.33)	5.47E-01	5,99E-01	0.75 (0.50-1.13)	1.73E-01	5,67E-01
rs6546124	C,T	0.29	0.68	0.76 (0.58-1.00)	5.27E-02	8,49E-02	0.88 (0.59-1.32)	5.44E-01	5,99E-01	0.75 (0.50-1.13)	1.71E-01	5,67E-01
rs6741255	T,C	0.29	0.69	0.76 (0.58-1.00)	5.23E-02	8,49E-02	0.88 (0.59-1.32)	5.40E-01	5,99E-01	0.76 (0.51-1.13)	1.70E-01	5,67E-01
rs1894874	T,C	0.12	0.59	0.34 (0.22-0.52)	1.34E-06	1,18E-05	0.45 (0.23-0.86)	1.60E-02	1,37E-01	0.49 (0.27-0.90)	2.52E-02	2,12E-01
rs1541576	C,T	0.12	0.39	1.53 (0.94-2.50)	8.88E-02	1,09E-01	1.71 (0.84-3.47)	1.40E-01	3,09E-01	1.16 (0.56-2.41)	6.98E-01	8,75E-01

SNP	Alelos (M, m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)
				NIUA vs controles sanos			NERD vs controles sanos			Reacciones mixtas vs controles sanos		
rs113359765	C,T	0.11	0.59	0.34 (0.22-0.52)	1.20E-06	1,18E-05	0.44 (0.23-0.86)	1.52E-02	1,37E-01	0.48 (0.26-0.89)	2.01E-02	2,12E-01
rs6546125	A,C	0.17	0.48	0.44 (0.29-0.65)	4.54E-05	2,40E-04	0.57 (0.32-1.02)	5.75E-02	2,90E-01	0.55 (0.31-0.96)	3.48E-02	2,30E-01
rs10496123	A,G	0.26	-	0.86 (0.87-1.41)	2.04E-01	2,24E-01	0.76 (0.95-1.85)	9.61E-02	2,97E-01	0.98 (0.84-1.64)	9.17E-01	9,34E-01
rs78945874	A,G	0.11	0.58	0.33 (0.22-0.52)	1.17E-06	1,18E-05	0.44 (0.23-0.85)	1.46E-02	1,37E-01	0.48 (0.26-0.89)	1.90E-02	2,12E-01
rs1420183	C,T	0.29	0.71	0.77 (0.59-1.01)	5.56E-02	8,49E-02	0.87 (0.59-1.29)	4.91E-01	5,99E-01	0.75 (0.51-1.11)	1.52E-01	5,67E-01
rs3732098	T,C	0.12	-	1.10 (0.19-6.31)	9.17E-01	9,17E-01	1.32 (0.09-19.10)	8.37E-01	8,37E-01	1.07 (0.08-13.86)	9.60E-01	9,60E-01
rs1050676	T,A	0.3	0.72	0.78 (0.60-1.01)	6.00E-02	8,55E-02	0.86 (0.59-1.28)	4.64E-01	5,86E-01	0.75 (0.51-1.10)	1.44E-01	5,67E-01
rs1050675	A,G	0.11	0.56	0.33 (0.21-0.52)	1.13E-06	1,18E-05	0.43 (0.22-0.83)	1.19E-02	1,37E-01	0.46 (0.25-0.86)	1.48E-02	2,12E-01
rs1229	G,A	0.11	0.56	0.33 (0.21-0.52)	1.14E-06	1,18E-05	0.42 (0.22-0.82)	1.13E-02	1,37E-01	0.46 (0.25-0.85)	1.37E-02	2,12E-01
rs1228	T,C	0.3	-	0.78 (0.63-0.96)	2.14E-02	2,14E-02	0.87 (0.64-1.20)	3.95E-01	5,86E-01	0.90 (0.67-1.22)	5.09E-01	8,65E-01
rs4671638	T,C	0.24	0.57	0.66 (0.48-0.90)	8.93E-03	5.86E-01	0.74 (0.47-1.18)	2.11E-01	4,30E-01	0.65 (0.41-1.03)	6.75E-02	3,57E-01
rs61758846	G,C	0.12	0.52	0.32 (0.21-0.51)	1.16E-06	1,18E-05	0.41 (0.21-0.81)	1.06E-02	1,37E-01	0.44 (0.23-0.84)	1.28E-02	2,12E-01

Tabla S4: Resultados de asociación de las variantes analizadas de *CEP68* y NIUA, NERD y reacciones mixtas. Los valores de OR se refieren al alelo menor. CI: Intervalo de confianza; MAF: frecuencia alélica menor; M, m: alelo mayor y menor, respectivamente; RSQR: valor de calidad de la imputación que correlaciona los resultados imputados y los genotipados. OR: odds ratio. En negrita se resaltan los p-valores corregidos por FDR, que son estadísticamente significativos.

SNP	Alelos	(M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)		
				NIUA vs controles sanos				NERD vs controles sanos				Reacciones mixtas vs controles sanos			
rs1420184	C.G		0.27	0.69	0.76 (0.48-1.04)	5.52E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.20E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.93E-01	3,01E-01		
rs1420185	A.G		0.3	0.66	0.69 (0.41-0.97)	8.47E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.26)	4.33E-01	6,08E-01	0.72 (0.32-1.13)	1.23E-01	3,01E-01		
rs1055903	A.G		0.27	0.69	0.76 (0.48-1.04)	5.54E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.21E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.93E-01	3,01E-01		
rs112029776	A.G		0.11	0.59	0.35 (0.10-3.33)	3.05E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs7592816	G.A		0.11	0.38	1.54 (1.01-2.06)	1.06E-01	1,10E-01	1.83 (1.45-2.58)	1.14E-01	2,24E-01	1.22 (0.45-1.99)	6.11E-01	6,28E-01		
rs113413623	G.A		0.11	0.59	0.35 (0.10-3.34)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.29E-02	9,24E-02		
rs113506850	T.G		0.1	0.58	0.34 (0.12-3.44)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.10E-02	8,92E-02	0.48 (0.17-1.12)	2.31E-02	9,24E-02		
rs7607025	G.A		0.22	0.54	0.62 (0.29-0.96)	5.70E-03	1,82E-02	0.78 (0.53-1.27)	3.11E-01	5,40E-01	0.67 (0.18-1.15)	9.95E-02	3,01E-01		
rs7607039	G.A		0.22	0.54	0.62 (0.29-0.96)	5.70E-03	1,82E-02	0.78 (0.53-1.27)	3.10E-01	5,40E-01	0.67 (0.18-1.15)	9.96E-02	3,01E-01		
rs6713746	C.G		0.27	0.68	0.76 (0.48-1.04)	5.51E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.20E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.92E-01	3,01E-01		
rs6729273	C.T		0.11	0.38	1.54 (1.02-2.06)	1.06E-01	1,06E-01	1.83 (1.45-2.59)	1.14E-01	2,24E-01	1.22 (0.45-1.99)	6.13E-01	6,28E-01		
rs76210337	A.G		0.11	0.59	0.34 (0.10-3.35)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs75263790	G.T		0.11	0.59	0.34 (0.10-3.35)	3.04E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs9784118	C.T		0.16	0.58	1.35 (0.99-1.72)	1.02E-01	1,06E-01	1.53 (1.26-2.05)	1.10E-01	2,24E-01	1.15 (0.62-1.69)	6.06E-01	6,28E-01		
rs9784068	C.A		0.11	0.58	0.34 (0.10-3.35)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.29E-02	9,24E-02		
rs4671115	T.C		0.16	0.57	1.35 (0.99-1.72)	1.01E-01	1,06E-01	1.53 (1.27-2.05)	1.10E-01	2,24E-01	1.15 (0.61-1.69)	6.06E-01	6,28E-01		
rs17040050	A.G		0.27	0.68	0.76 (0.48-1.04)	5.52E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.20E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.18)	1.93E-01	3,01E-01		
rs6725335	A.C		0.16	0.57	1.35 (0.99-1.72)	1.01E-01	1,06E-01	1.53 (1.26-2.05)	1.10E-01	2,24E-01	1.15 (0.61-1.69)	6.06E-01	6,28E-01		
rs12472718	A.G		0.3	0.65	0.69 (0.41-0.97)	8.47E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.26)	4.33E-01	6,08E-01	0.72 (0.31-1.13)	1.23E-01	3,01E-01		
rs113467506	C.G		0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.14-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs7579489	C.G		0.27	0.67	0.76 (0.48-1.04)	5.55E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.16E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.92E-01	3,01E-01		

SNP	Alelos	(M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)		
				NIUA vs controles sanos				NERD vs controles sanos				Reacciones mixtas vs controles sanos			
rs10195328	A.G		0.16	0.57	1.36 (0.99-1.72)	1.01E-01	1,06E-01	1.53 (1.27-2.06)	1.10E-01	2,24E-01	1.15 (0.61-1.69)	6.06E-01	6,28E-01		
rs12713529	C.G		0.16	0.57	1.36 (0.99-1.72)	1.01E-01	1,06E-01	1.53 (1.27-2.06)	1.10E-01	2,24E-01	1.15 (0.61-1.69)	6.07E-01	6,28E-01		
rs75479685	A.G		0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.15-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs7563866	G.A		0.28	0.65	0.76 (0.48-1.04)	5.66E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.24E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.17)	1.92E-01	3,01E-01		
rs7590690	A.G		0.27	0.67	0.76 (0.48-1.04)	5.55E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.31)	6.21E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.93E-01	3,01E-01		
rs111245132	T.G		0.11	0.58	0.34 (0.11-3.36)	3.09E-06	1,30E-05	0.45 (0.11-1.12)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.15-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs6741843	T.C		0.16	0.57	1.36 (0.99-1.72)	1.01E-01	1,06E-01	1.53 (1.27-2.06)	1.11E-01	2,24E-01	1.15 (0.61-1.69)	6.06E-01	6,28E-01		
rs2302631	G.T		0.27	0.66	0.76 (0.48-1.04)	5.56E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.32E-01	6,41E-01	0.76 (0.35-1.17)	1.94E-01	3,01E-01		
rs10187798	G.A		0.17	0.56	1.36 (1.00-1.73)	9.67E-02	1,06E-01	1.55 (1.28-2.08)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.62-1.70)	5.94E-01	6,28E-01		
rs13005414	A.G		0.27	0.66	0.76 (0.48-1.04)	5.60E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.31E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.18)	1.94E-01	3,01E-01		
rs10165691	G.T		0.17	0.56	1.36 (1.00-1.73)	9.65E-02	1,06E-01	1.55 (1.28-2.08)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.62-1.70)	5.94E-01	6,28E-01		
rs6736982	T.C		0.27	0.66	0.76 (0.48-1.04)	5.59E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.33E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.18)	1.94E-01	3,01E-01		
rs13421845	A.G		0.3	0.63	0.68 (0.40-0.97)	8.41E-03	2,19E-02	0.85 (0.64-1.27)	4.41E-01	6,08E-01	0.72 (0.31-1.14)	1.24E-01	3,01E-01		
rs11885480	C.T		0.17	0.55	1.36 (1.00-1.73)	9.69E-02	1,06E-01	1.55 (1.28-2.08)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.62-1.70)	5.95E-01	6,28E-01		
rs9797989	C.T		0.27	0.66	0.76 (0.48-1.04)	5.56E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.31E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.18)	1.94E-01	3,01E-01		
rs111778391	G.A		0.11	0.57	0.34 (0.11-3.38)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.05E-02	3,80E-01	0.48 (0.15-1.11)	2.29E-02	9,24E-02		
rs10207159	A.G		0.12	0.36	1.56 (1.03-2.09)	9.94E-02	1,06E-01	1.89 (1.50-2.65)	1.04E-01	2,24E-01	1.24 (0.45-2.02)	5.95E-01	6,28E-01		
rs4671116	A.G		0.27	0.66	0.76 (0.48-1.04)	5.59E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.32E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.17)	1.94E-01	3,01E-01		
rs11126028	C.G		0.27	0.65	0.76 (0.48-1.04)	5.58E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.31E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.17)	1.94E-01	3,01E-01		
rs11126029	T.C		0.27	0.65	0.76 (0.47-1.04)	5.58E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.32E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.18)	1.94E-01	3,01E-01		
rs60136636	A.G		0.3	0.62	0.68 (0.40-0.97)	8.42E-03	2,19E-02	0.85 (0.63-1.27)	4.41E-01	6,08E-01	0.72 (0.30-1.14)	1.24E-01	3,01E-01		

SNP	Alelos	(M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)		
				NIUA vs controles sanos				NERD vs controles sanos				Reacciones mixtas vs controles sanos			
rs34374525	G.A		0.17	0.54	1.34 (0.97-1.70)	1.22E-01	1,25E-01	1.53 (1.26-2.06)	1.18E-01	2,24E-01	1.14 (0.59-1.69)	6.41E-01	6,41E-01		
rs62140404	A.C		0.3	0.41	1.22 (0.89-1.15)	2.32E-01	2,32E-01	0.79 (0.53-1.30)	3.64E-01	5,96E-01	1.14 (0.65-1.63)	6.09E-01	6,28E-01		
rs10176281	T.A		0.11	0.57	0.34 (0.11-3.39)	3.08E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.05E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs113683435	G.A		0.11	0.57	0.34 (0.11-3.39)	3.10E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs12472234	G.A		0.17	0.55	1.37 (1.00-1.73)	9.72E-02	1,06E-01	1.55 (1.28-2.09)	1.04E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.70)	5.96E-01	6,28E-01		
rs6756585	A.G		0.27	0.65	0.76 (0.47-1.04)	5.55E-02	8,70E-02	0.90 (0.69-1.32)	6.31E-01	6,41E-01	0.76 (0.34-1.18)	1.94E-01	3,01E-01		
rs56725299	G.C		0.11	0.57	0.34 (0.12-3.40)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs6757520	T.C		0.17	0.55	1.37 (1.00-1.73)	9.69E-02	1,06E-01	1.56 (1.28-2.09)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.70)	5.94E-01	6,28E-01		
rs17029863	T.C		0.11	0.57	0.34 (0.12-3.40)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs13006381	A.G		0.39	0.55	0.66 (0.37-0.95)	5.44E-03	1,82E-02	0.81 (0.60-1.23)	3.33E-01	5,66E-01	0.81 (0.40-1.22)	3.13E-01	4,55E-01		
rs1019303	C.T		0.17	0.55	1.37 (1.00-1.74)	9.67E-02	1,06E-01	1.56 (1.29-2.09)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.71)	5.94E-01	6,28E-01		
rs1019304	G.A		0.12	0.35	1.57 (1.03-2.10)	9.92E-02	1,06E-01	1.89 (1.50-2.66)	1.04E-01	2,24E-01	1.24 (0.45-2.03)	5.96E-01	6,28E-01		
rs1019305	C.T		0.17	0.54	1.37 (1.00-1.74)	9.69E-02	1,06E-01	1.56 (1.29-2.09)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.71)	5.95E-01	6,28E-01		
rs13409078	T.C		0.11	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.06E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs1558658	A.G		0.11	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.07E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.03E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.11)	2.28E-02	9,24E-02		
rs1558659	C.T		0.17	0.54	1.37 (1.00-1.74)	9.70E-02	1,06E-01	1.56 (1.29-2.09)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.71)	5.94E-01	6,28E-01		
rs1558660	T.C		0.17	0.54	1.37 (1.00-1.74)	9.71E-02	1,06E-01	1.56 (1.29-2.09)	1.03E-01	2,24E-01	1.16 (0.61-1.71)	5.94E-01	6,28E-01		
rs28392943	T.C		0.89	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.08E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.12)	2.28E-02	9,24E-02		
rs13383649	G.C		0.89	0.56	0.34 (0.12-3.42)	3.07E-06	1,30E-05	0.45 (0.10-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.48 (0.16-1.12)	2.28E-02	9,24E-02		
rs6546127	G.T		0.11	0.36	1.56 (1.02-2.09)	1.06E-01	1,06E-01	1.87 (1.47-2.64)	1.15E-01	2,24E-01	1.23 (0.43-2.02)	6.13E-01	6,38E-01		
rs12465024	C.G		0.3	0.61	0.68 (0.39-0.97)	8.44E-03	2,19E-02	0.84 (0.63-1.27)	4.32E-01	6,08E-01	0.72 (0.29-1.14)	1.23E-01	3,01E-01		

SNP	Alelos	(M. m)	MAF	RSQR	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)	OR (95% CI)	p-valor	FDR (q-valor)		
				NIUA vs controles sanos				NERD vs controles sanos				Reacciones mixtas vs controles sanos			
rs112587259	A.C		0.11	0.55	0.33 (0.13-3.46)	3.07E-06	1,30E-05	0.44 (0.09-1.13)	2.04E-02	8,92E-02	0.47 (0.17-1.12)	2.28E-02	9,24E-02		
rs2422436	A.G		0.27	0.64	0.75 (0.47-1.04)	5.52E-02	8,70E-02	0.90 (0.68-1.32)	6.20E-01	6,41E-01	0.75 (0.33-1.18)	1.92E-01	3,01E-01		
rs58342673	C.T		0.3	0.6	0.68 (0.39-0.97)	8.49E-03	2,19E-02	0.84 (0.62-1.27)	4.30E-01	6,08E-01	0.71 (0.29-1.14)	1.22E-01	3,01E-01		
rs10209083	G.A		0.42	0.33	0.72 (0.36-1.08)	7.83E-02	1,06E-01	0.88 (0.61-1.41)	6.32E-01	6,41E-01	0.74 (0.21-1.26)	2.50E-01	3,70E-01		
rs62140432	G.A		0.3	0.55	0.75 (0.45-1.05)	6.09E-02	9,02E-02	0.92 (0.70-1.36)	7.11E-01	7,11E-01	0.75 (0.31-1.19)	2.04E-01	3,70E-01		
rs11893423	A.G		0.27	0.63	0.75 (0.47-1.04)	5.55E-02	8,70E-02	0.90 (0.68-1.32)	6.20E-01	6,41E-01	0.75 (0.33-1.18)	1.93E-01	3,01E-01		
rs6730986	T.C		0.27	0.63	0.75 (0.47-1.04)	5.53E-02	8,70E-02	0.90 (0.68-1.32)	6.20E-01	6,41E-01	0.75 (0.33-1.18)	1.93E-01	3,01E-01		
rs17753423	A.G		0.3	0.38	1.24 (0.90-1.15)	2.23E-01	2,25E-01	0.79 (0.51-1.32)	3.73E-01	5,96E-01	1.15 (0.64-1.66)	5.93E-01	6,28E-01		
rs2052261	A.G		0.27	0.63	0.75 (0.47-1.04)	5.54E-02	8,70E-02	0.90 (0.68-1.32)	6.21E-01	6,41E-01	0.75 (0.33-1.18)	1.93E-01	3,01E-01		
rs10208485	G.A		0.11	0.35	1.57 (1.02-2.12)	1.06E-01	1,06E-01	1.89 (1.49-2.68)	1.14E-01	2,24E-01	1.23 (0.42-2.05)	6.12E-01	6,28E-01		
rs10185243	T.G		0.29	0.56	0.64 (0.34-0.05)	4.50E-03	1,63E-02	0.81 (0.59-1.26)	3.66E-01	5,96E-01	0.69 (0.25-1.14)	1.04E-01	3,01E-01		
rs7568994	T.G		0.11	0.35	1.57 (1.02-2.11)	1.06E-01	1,06E-01	1.88 (1.48-2.67)	1.14E-01	2,24E-01	1.23 (0.43-2.04)	6.11E-01	6,28E-01		
rs12713532	C.G		0.27	0.62	0.75 (0.46-1.05)	5.84E-02	8,81E-02	0.90 (0.68-1.33)	6.31E-01	6,41E-01	0.75 (0.32-1.18)	1.96E-01	3,01E-01		
rs3732096	T.C		0.23	0.51	0.65 (0.31-0.99)	1.21E-02	2,93E-02	0.80 (0.55-1.30)	3.91E-01	6,03E-01	0.68 (0.19-1.17)	1.22E-01	3,01E-01		
rs2422437	T.G		0.23	0.51	0.65 (0.31-0.99)	1.21E-02	2,93E-02	0.80 (0.55-1.30)	3.92E-01	6,03E-01	0.68 (0.19-1.17)	1.22E-01	3,01E-01		
rs61758850	C.T		0.11	0.51	0.32 (0.15-3.58)	3.27E-06	1,30E-05	0.43 (0.07-1.15)	2.12E-02	8,92E-02	0.46 (0.21-1.13)	2.30E-02	9,24E-02		
rs6748462	G.T		0.26	0.47	0.56 (0.21-0.90)	8.41E-04	3,20E-03	0.74 (0.48-1.24)	2.37E-01	4,30E-01	0.63 (0.13-1.13)	6.84E-02	2,60E-01		

Tabla S5: Resultados completos de asociación de las variantes imputadas de *RAB1A* y NIUA, NERD y reacciones mixtas. Los p-valores significativos tras la corrección por FDR se han marcado en negrita.

Bibliografía



- 1 Florez MAdCaJ: Reacciones adversas a los medicamentos; Farmacología humana. Barcelona, 1998
- 2 Organization WH: International drug monitoring: The role of the hospital. Genva, The organization, 1966,
- 3 Dona I, Blanca-Lopez N, Cornejo-Garcia JA, Torres MJ, Laguna JJ, Fernandez J, Rosado A, Rondon C, Campo P, Agundez JA, Blanca M, Canto G: Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs: Patterns of response. *Clin Exp Allergy* 2011;41:86-95.
- 4 Zambonino MA, Torres MJ, Munoz C, Requena G, Mayorga C, Posadas T, Urda A, Blanca M, Corzo JL: Drug provocation tests in the diagnosis of hypersensitivity reactions to non-steroidal anti-inflammatory drugs in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24:151-159.
- 5 Rubio M, Bousquet PJ, Gomes E, Romano A, Demoly P: Results of drug hypersensitivity evaluations in a large group of children and adults. *Clin Exp Allergy* 2012;42:123-130.
- 6 Bernstein JA: Nonimmunologic adverse drug reactions. How to recognize and categorize some common reactions. *Postgrad Med* 1995;98:120-122, 125-126.
- 7 Rawlins: Pathogenesis of adverse drug reactions; in DM D (ed): *Textbook of adverse drug reactions*,. Oxford, Oxford University Press, 1977, pp 10.
- 8 El medico interactivo,
- 9 EAACI: Global allergy atlas,
- 10 Thong BY, Tan TC: Epidemiology and risk factors for drug allergy. *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:684-700.
- 11 Gamboa PM: The epidemiology of drug allergy-related consultations in spanish allergology services: Alergologica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009;19 Suppl 2:45-50.
- 12 Liebhart J, Dobek R, Malolepszy J, Wojtyniak B, Pisiewicz K, Plusa T, Gladysz U: The prevalence of allergic diseases in poland - the results of the pmsead study in relation to gender differences. *Adv Clin Exp Med* 2014;23:757-762.
- 13 Motola D, Vaccheri A, Silvani MC, Poluzzi E, Bottoni A, De Ponti F, Montanaro N: Pattern of nsaid use in the italian general population: A questionnaire-based survey. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;60:731-738.
- 14 Fosbol EL, Gislason GH, Jacobsen S, Abildstrom SZ, Hansen ML, Schramm TK, Folke F, Sorensen R, Rasmussen JN, Kober L, Madsen M, Torp-Pedersen C: The pattern of use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) from 1997 to 2005: A nationwide study on 4.6 million people. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2008;17:822-833.
- 15 Abramson SB: Clinical guidelines: Expert recommendations for nsaid use: A user-friendly model? *Nat Rev Rheumatol* 2011;7:133-134.
- 16 N.R. Ortega Rodríguez JQE, J. Fraj Lázaro, L. Palacios Colom: Reacciones adversas a los aine: Alergia, intolerancia; in A. Pélaez Hernández IDG (ed): *Tratado de alergología*, 2007, vol 2
- 17 Bingham S, Beswick PJ, Blum DE, Gray NM, Chessell IP: The role of the cyclooxygenase pathway in nociception and pain. *Semin Cell Dev Biol* 2006;17:544-554.
- 18 Xpudala,
- 19 Pairet M vRJ: Measurement of differential inhibition of cox-1 and cox-2 and the pharmacology of selective inhibitors. *Drugs Today* 1999;35
- 20 Conaghan PG: A turbulent decade for nsaids: Update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. *Rheumatol Int* 2012;32:1491-1502.
- 21 Gomes E, Cardoso MF, Praca F, Gomes L, Marino E, Demoly P: Self-reported drug allergy in a general adult portuguese population. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1597-1601.
- 22 Antunez C, Martin E, Cornejo-Garcia JA, Blanca-Lopez N, R RP, Mayorga C, Torres MJ, Blanca M: Immediate hypersensitivity reactions to penicillins and other betalactams. *Curr Pharm Des* 2006;12:3327-3333.

- 23 Doña I B-LN, Torres MJ, García-Campos J, García-Nuñez I, Gómez F, Salas M, Rondón C, Canto MG, Blanca M.: Drug hypersensitivity reactions: Patterns of responses, drug involved and temporal variation in a large series of patients evaluated. Malaga, Allergy service, 2012,
- 24 Bertazzoni G, Spina MT, Scarpellini MG, Buccelletti F, De Simone M, Gregori M, Valeriano V, Pugliese F, Ruggieri MP, Magnanti M, Susi B, Minetola L, Zulli L, D'Ambrogio F: Drug-induced angioedema: Experience of italian emergency departments. *Intern Emerg Med* 2013
- 25 Messaad D, Sahla H, Benahmed S, Godard P, Bousquet J, Demoly P: Drug provocation tests in patients with a history suggesting an immediate drug hypersensitivity reaction. *Ann Intern Med* 2004;140:1001-1006.
- 26 Chinen J FT, Shearer WT.: The immune system: An overview; in Adkinson Busse B, Holgate, Simons, Lemanske. (ed): Middleton's allergy principles and practice. Philadelphia, Mosby, 2009, pp 1227-1243.
- 27 Kowalski ML, Makowska JS, Blanca M, Bavbek S, Bochenek G, Bousquet J, Bousquet P, Celik G, Demoly P, Gomes ER, Nizankowska-Mogilnicka E, Romano A, Sanchez-Borges M, Sanz M, Torres MJ, De Weck A, Szczeklik A, Brockow K: Hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs (nsaids) - classification, diagnosis and management: Review of the eaaci/enda(#) and ga2len/hanna*. *Allergy* 2011;66:818-829.
- 28 Kowalski ML, Asero R, Bavbek S, Blanca M, Blanca-Lopez N, Bochenek G, Brockow K, Campo P, Celik G, Cernadas J, Cortellini G, Gomes E, Nizankowska-Mogilnicka E, Romano A, Szczeklik A, Testi S, Torres MJ, Wohrl S, Makowska J: Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy* 2013;68:1219-1232.
- 29 Dona I, Blanca-Lopez N, Cornejo-Garcia JA, Torres MJ, Laguna JJ, Fernandez J, Rosado A, Rondon C, Campo P, Agundez JA, Blanca M, Canto G: Characteristics of subjects experiencing hypersensitivity to non-steroidal anti-inflammatory drugs: Patterns of response. *Clin Exp Allergy*;41:86-95.
- 30 Ayuso P, Blanca-Lopez N, Dona I, Torres MJ, Gueant-Rodriguez RM, Canto G, Sanak M, Mayorga C, Gueant JL, Blanca M, Cornejo-Garcia JA: Advanced phenotyping in hypersensitivity drug reactions to nsaids. *Clin Exp Allergy* 2013;43:1097-1109.
- 31 Mastalerz L, Celejewska-Wojcik N, Wojcik K, Gielicz A, Januszek R, Cholewa A, Strek P, Sanak M: Induced sputum eicosanoids during aspirin bronchial challenge of asthmatic patients with aspirin hypersensitivity. *Allergy* 2014;69:1550-1559.
- 32 Szczeklik A, Nizankowska E, Duplaga M: Natural history of aspirin-induced asthma. Aiane investigators. European network on aspirin-induced asthma. *Eur Respir J* 2000;16:432-436.
- 33 Dona I, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Gomez F, Fernandez J, Zambonino MA, Monteseirin FJ, Canto G, Blanca M, Cornejo-Garcia JA: Nsaid-induced urticaria/angioedema does not evolve into chronic urticaria: A 12-year follow-up study. *Allergy* 2014;69:438-444.
- 34 Szczeklik AN-M, Sanak M.: Hypersensitivity to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs; in Adkinson Busse B, Holgate, Simons, Lemanske. (ed): Middleton's allergy principles and practice. Philadelphia, Mosby, 2009
- 35 Dona I, Barrionuevo E, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Fernandez TD, Mayorga C, Canto G, Blanca M: Trends in hypersensitivity drug reactions: More drugs, more response patterns, more heterogeneity. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014;24:143-153; quiz 141 p following 153.
- 36 Yilmaz O, Ertoy Karagol IH, Bakirtas A, Topal E, Celik GE, Demirsoy MS, Turktaş I: Challenge-proven nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity in children. *Allergy* 2013
- 37 Ayuso P P-SM, Blanca-López N, Doña I, Campo P, Canto MG, Laguna JJ, Bartra J, Soriano-Gomis V, Blanca M, Cornejo-García JA, Perkins JR: Genetic variants in arachidonic acid

- pathway genes associated with nsaiDs-exacerbated respiratory disease. *Pharmacogenomics* 2015;(in press)
- 38 Blanca-Lopez N, M JT, Dona I, Campo P, Rondon C, Seoane Reula ME, Salas M, Canto G, Blanca M: Value of the clinical history in the diagnosis of urticaria/angioedema induced by nsaiDs with cross-intolerance. *Clin Exp Allergy* 2013;43:85-91.
- 39 Gomez E, Torres MJ, Mayorga C, Blanca M: Immunologic evaluation of drug allergy. *Allergy Asthma Immunol Res* 2012;4:251-263.
- 40 Ariza A, Fernandez TD, Dona I, Aranda A, Blanca-Lopez N, Melendez L, Canto G, Blanca M, Torres MJ, Mayorga C: Basophil activation after nonsteroidal anti-inflammatory drugs stimulation in patients with immediate hypersensitivity reactions to these drugs. *Cytometry A* 2014;85:400-407.
- 41 Vane JR: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971;231:232-235.
- 42 Harizi H, Corcuff JB, Gualde N: Arachidonic-acid-derived eicosanoids: Roles in biology and immunopathology. *Trends Mol Med* 2008;14:461-469.
- 43 Capra V, Rovati GE, Mangano P, Buccellati C, Murphy RC, Sala A: Transcellular biosynthesis of eicosanoid lipid mediators. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851:377-382.
- 44 Boyce JA: Mast cells and eicosanoid mediators: A system of reciprocal paracrine and autocrine regulation. *Immunol Rev* 2007;217:168-185.
- 45 Reddy ST, Herschman HR: Transcellular prostaglandin production following mast cell activation is mediated by proximal secretory phospholipase a2 and distal prostaglandin synthase 1. *J Biol Chem* 1996;271:186-191.
- 46 Reddy ST, Winstead MV, Tischfield JA, Herschman HR: Analysis of the secretory phospholipase a2 that mediates prostaglandin production in mast cells. *J Biol Chem* 1997;272:13591-13596.
- 47 Bunting S, Gryglewski R, Moncada S, Vane JR: Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin x) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* 1976;12:897-913.
- 48 Merhi-Soussi F, Dominguez Z, Macovschi O, Dubois M, Savany A, Lagarde M, Prigent AF: Human lymphocytes stimulate prostacyclin synthesis in human umbilical vein endothelial cells. Involvement of endothelial cpla2. *J Leukoc Biol* 2000;68:881-889.
- 49 Maugeri N, Evangelista V, Piccardoni P, Dell'Elba G, Celardo A, de Gaetano G, Cerletti C: Transcellular metabolism of arachidonic acid: Increased platelet thromboxane generation in the presence of activated polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 1992;80:447-451.
- 50 Karim S, Habib A, Levy-Toledano S, Maclouf J: Cyclooxygenase-1 and -2 of endothelial cells utilize exogenous or endogenous arachidonic acid for transcellular production of thromboxane. *J Biol Chem* 1996;271:12042-12048.
- 51 Diaz A, Reginato AM, Jimenez SA: Alternative splicing of human prostaglandin g/h synthase mRNA and evidence of differential regulation of the resulting transcripts by transforming growth factor beta 1, interleukin 1 beta, and tumor necrosis factor alpha. *J Biol Chem* 1992;267:10816-10822.
- 52 Luo M, Jones SM, Flamand N, Aronoff DM, Peters-Golden M, Brock TG: Phosphorylation by protein kinase a inhibits nuclear import of 5-lipoxygenase. *J Biol Chem* 2005;280:40609-40616.
- 53 McGee JE, Fitzpatrick FA: Erythrocyte-neutrophil interactions: Formation of leukotriene b4 by transcellular biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:1349-1353.
- 54 Feinmark SJ, Cannon PJ: Endothelial cell leukotriene c4 synthesis results from intercellular transfer of leukotriene a4 synthesized by polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 1986;261:16466-16472.
- 55 Claesson HE, Haeggstrom J: Human endothelial cells stimulate leukotriene synthesis and convert granulocyte released leukotriene a4 into leukotrienes b4, c4, d4 and e4. *Eur J Biochem* 1988;173:93-100.

- 56 Maclouf J, Murphy RC, Henson PM: Transcellular sulfidopeptide leukotriene biosynthetic capacity of vascular cells. *Blood* 1989;74:703-707.
- 57 Feinmark SJ, Cannon PJ: Vascular smooth muscle cell leukotriene c4 synthesis: Requirement for transcellular leukotriene a4 metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1987;922:125-135.
- 58 Edenius C, Heidvall K, Lindgren JA: Novel transcellular interaction: Conversion of granulocyte-derived leukotriene a4 to cysteinyl-containing leukotrienes by human platelets. *Eur J Biochem* 1988;178:81-86.
- 59 Maclouf JA, Murphy RC: Transcellular metabolism of neutrophil-derived leukotriene a4 by human platelets. A potential cellular source of leukotriene c4. *J Biol Chem* 1988;263:174-181.
- 60 Bigby TD, Meslier N: Transcellular lipoxygenase metabolism between monocytes and platelets. *J Immunol* 1989;143:1948-1954.
- 61 Maugeri N, Evangelista V, Celardo A, Dell'Elba G, Martelli N, Piccardoni P, de Gaetano G, Cerletti C: Polymorphonuclear leukocyte-platelet interaction: Role of p-selectin in thromboxane b2 and leukotriene c4 cooperative synthesis. *Thromb Haemost* 1994;72:450-456.
- 62 Lam BK, Penrose JF, Freeman GJ, Austen KF: Expression cloning of a cDNA for human leukotriene c4 synthase, an integral membrane protein conjugating reduced glutathione to leukotriene a4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:7663-7667.
- 63 Reid GK, Kargman S, Vickers PJ, Mancini JA, Leveille C, Ethier D, Miller DK, Gillard JW, Dixon RA, Evans JF: Correlation between expression of 5-lipoxygenase-activating protein, 5-lipoxygenase, and cellular leukotriene synthesis. *J Biol Chem* 1990;265:19818-19823.
- 64 Kanaoka Y, Boyce JA: Cysteinyl leukotrienes and their receptors; emerging concepts. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014;6:288-295.
- 65 Palmantier R, Rocheleau H, Laviolette M, Mancini J, Borgeat P: Characteristics of leukotriene biosynthesis by human granulocytes in presence of plasma. *Biochim Biophys Acta* 1998;1389:187-196.
- 66 Levy BD, Romano M, Chapman HA, Reilly JJ, Drazen J, Serhan CN: Human alveolar macrophages have 15-lipoxygenase and generate 15(s)-hydroxy-5,8,11-cis-13-trans-eicosatetraenoic acid and lipoxins. *J Clin Invest* 1993;92:1572-1579.
- 67 Nassar GM, Morrow JD, Roberts LJ, 2nd, Lakkis FG, Badr KF: Induction of 15-lipoxygenase by interleukin-13 in human blood monocytes. *J Biol Chem* 1994;269:27631-27634.
- 68 Romano M, Chen XS, Takahashi Y, Yamamoto S, Funk CD, Serhan CN: Lipoxin synthase activity of human platelet 12-lipoxygenase. *Biochem J* 1993;296 (Pt 1):127-133.
- 69 Fiore S, Serhan CN: Formation of lipoxins and leukotrienes during receptor-mediated interactions of human platelets and recombinant human granulocyte/macrophage colony-stimulating factor-primed neutrophils. *J Exp Med* 1990;172:1451-1457.
- 70 Serhan CN, Sheppard KA: Lipoxin formation during human neutrophil-platelet interactions. Evidence for the transformation of leukotriene a4 by platelet 12-lipoxygenase in vitro. *J Clin Invest* 1990;85:772-780.
- 71 Claria J, Serhan CN: Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:9475-9479.
- 72 Claria J, Lee MH, Serhan CN: Aspirin-triggered lipoxins (15-epi-lx) are generated by the human lung adenocarcinoma cell line (a549)-neutrophil interactions and are potent inhibitors of cell proliferation. *Mol Med* 1996;2:583-596.
- 73 Serhan CN, Clish CB, Brannon J, Colgan SP, Chiang N, Gronert K: Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med* 2000;192:1197-1204.
- 74 Israel E, Rubin P, Kemp JP, Grossman J, Pierson W, Siegel SC, Tinkelman D, Murray JJ, Busse W, Segal AT, Fish J, Kaiser HB, Ledford D, Wenzel S, Rosenthal R, Cohn J, Lanni C,

- Pearlman H, Karahalios P, Drazen JM: The effect of inhibition of 5-lipoxygenase by zileuton in mild-to-moderate asthma. *Ann Intern Med* 1993;119:1059-1066.
- 75 Dahlen B, Nizankowska E, Szczeklik A, Zetterstrom O, Bochenek G, Kumlin M, Mastalerz L, Pinis G, Swanson LJ, Boodhoo TI, Wright S, Dube LM, Dahlen SE: Benefits from adding the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton to conventional therapy in aspirin-intolerant asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1187-1194.
- 76 Meltzer EO, Malmstrom K, Lu S, Prenner BM, Wei LX, Weinstein SF, Wolfe JD, Reiss TF: Concomitant montelukast and loratadine as treatment for seasonal allergic rhinitis: A randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:917-922.
- 77 Foster HR, Fuerst E, Lee TH, Cousins DJ, Woszczek G: Characterisation of p2y(12) receptor responsiveness to cysteinyl leukotrienes. *PLoS One* 2013;8:e58305.
- 78 Kanaoka Y, Maekawa A, Austen KF: Identification of gpr99 protein as a potential third cysteinyl leukotriene receptor with a preference for leukotriene e4 ligand. *J Biol Chem* 2013;288:10967-10972.
- 79 Spector AA, Kim HY: Cytochrome p epoxygenase pathway of polyunsaturated fatty acid metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851:356-365.
- 80 Hirschberg: Anaphylactoid reaction to aspirin (1902). *Allergy Proc* 1990;11:249-250; discussion 251-242.
- 81 Szczeklik A, Gryglewski RJ, Czerniawska-Mysik G: Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br Med J* 1975;1:67-69.
- 82 Szczeklik A, Gryglewski RJ, Czerniawska-Mysik G: Participation of prostaglandins in pathogenesis of aspirin-sensitive asthma. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1977;297 Suppl 1:S99-10.
- 83 Szczeklik A, Gryglewski RJ, Olszewski E, Dembinska-Kiec A, Czerniawska-Mysik G: Aspirin-sensitive asthma: The effect of aspirin on the release of prostaglandins from nasal polyps. *Pharmacol Res Commun* 1977;9:415-425.
- 84 Szczeklik A: Anti-cyclo-oxygenase agents and asthma. *J Asthma* 1983;20 Suppl 1:23-29.
- 85 Szczeklik A: The cyclooxygenase theory of aspirin-induced asthma. *Eur Respir J* 1990;3:588-593.
- 86 Sladek K, Szczeklik A: Cysteinyl leukotrienes overproduction and mast cell activation in aspirin-provoked bronchospasm in asthma. *Eur Respir J* 1993;6:391-399.
- 87 Sladek K, Dworski R, Soja J, Sheller JR, Nizankowska E, Oates JA, Szczeklik A: Eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid of aspirin-intolerant patients with asthma after aspirin challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:940-946.
- 88 Picado C, Fernandez-Morata JC, Juan M, Roca-Ferrer J, Fuentes M, Xaubet A, Mullol J: Cyclooxygenase-2 mrna is downexpressed in nasal polyps from aspirin-sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:291-296.
- 89 Kupczyk M, Kurmanowska Z, Kuprys-Lipinska I, Bochenska-Marciniak M, Kuna P: Mediators of inflammation in nasal lavage from aspirin intolerant patients after aspirin challenge. *Respir Med*;104:1404-1409.
- 90 Sanak M, Gielicz A, Bochenek G, Kaszuba M, Nizankowska-Mogilnicka E, Szczeklik A: Targeted eicosanoid lipidomics of exhaled breath condensate provide a distinct pattern in the aspirin-intolerant asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:1141-1147 e1142.
- 91 Kowalski ML, Pawliczak R, Wozniak J, Siuda K, Poniatowska M, Iwaszkiewicz J, Kornatowski T, Kaliner MA: Differential metabolism of arachidonic acid in nasal polyp epithelial cells cultured from aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:391-398.
- 92 Szczeklik A: Aspirin-induced asthma as a viral disease. *Clin Allergy* 1988;18:15-20.
- 93 Nakagawa H, Yoshida S, Nakabayashi M, Akahori K, Shoji T, Hasegawa H, Amayasu H: Possible relevance of virus infection for development of analgesic idiosyncrasy. *Respiration* 2001;68:422-424.

- 94 Perez-Novo CA, Kowalski ML, Kuna P, Ptasinska A, Holtappels G, van Cauwenberge P, Gevaert P, Johansson S, Bachert C: Aspirin sensitivity and ige antibodies to staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyposis: Studies on the relationship. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;133:255-260.
- 95 Suh YJ, Yoon SH, Sampson AP, Kim HJ, Kim SH, Nahm DH, Suh CH, Park HS: Specific immunoglobulin e for staphylococcal enterotoxins in nasal polyps from patients with aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1270-1275.
- 96 Bachert C, Gevaert P, Zhang N, van Zele T, Perez-Novo C: Role of staphylococcal superantigens in airway disease. *Chem Immunol Allergy* 2007;93:214-236.
- 97 Erbagci Z: Multiple nsaid intolerance in chronic idiopathic urticaria is correlated with delayed, pronounced and prolonged autoreactivity. *J Dermatol* 2004;31:376-382.
- 98 Ye YM, Nahm DH, Kim SH, Choi JH, Suh CH, Park HS: Circulating autoantibodies in patients with aspirin-intolerant asthma: An epiphenomenon related to airway inflammation. *J Korean Med Sci* 2006;21:412-417.
- 99 Mayorga C: Reacciones alérgicas a fármacos. *Avances y nuevas perspectivas.*, ed 95. 2005.
- 100 Kumlin M, Dahlen B, Bjorck T, Zetterstrom O, Granstrom E, Dahlen SE: Urinary excretion of leukotriene e4 and 11-dehydro-thromboxane b2 in response to bronchial provocations with allergen, aspirin, leukotriene d4, and histamine in asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:96-103.
- 101 O'Sullivan S, Dahlen B, Dahlen SE, Kumlin M: Increased urinary excretion of the prostaglandin d2 metabolite 9 alpha, 11 beta-prostaglandin f2 after aspirin challenge supports mast cell activation in aspirin-induced airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:421-432.
- 102 Kumlin M: Measurement of leukotrienes in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S102-106.
- 103 Higashi N, Taniguchi M, Mita H, Osame M, Akiyama K: A comparative study of eicosanoid concentrations in sputum and urine in patients with aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1484-1490.
- 104 Bochenek G, Nagraba K, Nizankowska E, Szczeklik A: A controlled study of 9alpha,11beta-pgf2 (a prostaglandin d2 metabolite) in plasma and urine of patients with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:743-749.
- 105 Mastalerz L, Setkowicz M, Sanak M, Szczeklik A: Hypersensitivity to aspirin: Common eicosanoid alterations in urticaria and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:771-775.
- 106 Sanak M, Kielbasa B, Bochenek G, Szczeklik A: Exhaled eicosanoids following oral aspirin challenge in asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1899-1904.
- 107 Gaber F, Daham K, Higashi A, Higashi N, Gulich A, Delin I, James A, Skedinger M, Gyllfors P, Nord M, Dahlen SE, Kumlin M, Dahlen B: Increased levels of cysteinyl-leukotrienes in saliva, induced sputum, urine and blood from patients with aspirin-intolerant asthma. *Thorax* 2008;63:1076-1082.
- 108 Setkowicz M, Mastalerz L, Podolec-Rubis M, Sanak M, Szczeklik A: Clinical course and urinary eicosanoids in patients with aspirin-induced urticaria followed up for 4 years. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:174-178.
- 109 Campo P, Ayuso P, Salas M, Plaza MC, Cornejo-Garcia JA, Dona I, Torres MJ, Blanca-Lopez N, Canto G, Gueant JL, Sanak M, Blanca M: Mediator release after nasal aspirin provocation supports different phenotypes in subjects with hypersensitivity reactions to nsaids. *Allergy* 2013;68:1001-1007.
- 110 Fernandez TD, Mayorga C, Gueant JL, Blanca M, Cornejo-Garcia JA: Contributions of pharmacogenetics and transcriptomics to the understanding of the hypersensitivity drug reactions. *Allergy* 2014;69:150-158.

- 111 Adamjee J, Suh YJ, Park HS, Choi JH, Penrose JF, Lam BK, Austen KF, Cazaly AM, Wilson SJ, Sampson AP: Expression of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase pathway enzymes in nasal polyps of patients with aspirin-intolerant asthma. *J Pathol* 2006;209:392-399.
- 112 Shi J, Misso NL, Duffy DL, Bradley B, Beard R, Thompson PJ, Kedda MA: Cyclooxygenase-1 gene polymorphisms in patients with different asthma phenotypes and atopy. *Eur Respir J* 2005;26:249-256.
- 113 Picado C, Bioque G, Roca-Ferrer J, Pujols L, Mullol J, Benitez P, Bulbena O: Nuclear factor-kappaB activity is down-regulated in nasal polyps from aspirin-sensitive asthmatics. *Allergy* 2003;58:122-126.
- 114 Szczeklik W, Sanak M, Szczeklik A: Functional effects and gender association of cox-2 gene polymorphism g-765c in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:248-253.
- 115 Oh SH, Kim YH, Park SM, Cho SH, Park JS, Jang AS, Park SW, Uh ST, Lee YM, Kim MK, Choi IS, Hong CS, Lee YW, Lee JY, Choi BW, Park BL, Shin HD, Park CS: Association analysis of thromboxane synthase 1 gene polymorphisms with aspirin intolerance in asthmatic patients. *Pharmacogenomics* 2011;12:351-363.
- 116 Kim SH, Kim YK, Park HW, Jee YK, Bahn JW, Chang YS, Ye YM, Shin ES, Lee JE, Park HS, Min KU: Association between polymorphisms in prostanoid receptor genes and aspirin-intolerant asthma. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:295-304.
- 117 Cheong HS, Park SM, Kim MO, Park JS, Lee JY, Byun JY, Park BL, Shin HD, Park CS: Genome-wide methylation profile of nasal polyps: Relation to aspirin hypersensitivity in asthmatics. *Allergy* 2011;66:637-644.
- 118 In KH, Asano K, Beier D, Grobholz J, Finn PW, Silverman EK, Silverman ES, Collins T, Fischer AR, Keith TP, Serino K, Kim SW, De Sanctis GT, Yandava C, Pillari A, Rubin P, Kemp J, Israel E, Busse W, Ledford D, Murray JJ, Segal A, Tinkleman D, Drazen JM: Naturally occurring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. *J Clin Invest* 1997;99:1130-1137.
- 119 Choi JH, Park HS, Oh HB, Lee JH, Suh YJ, Park CS, Shin HD: Leukotriene-related gene polymorphisms in asa-intolerant asthma: An association with a haplotype of 5-lipoxygenase. *Hum Genet* 2004;114:337-344.
- 120 Park JS, Chang HS, Park CS, Lee JH, Lee YM, Choi JH, Park HS, Kim LH, Park BL, Choi YH, Shin HD: Association analysis of cysteinyl-leukotriene receptor 2 (cyslr2) polymorphisms with aspirin intolerance in asthmatics. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:483-492.
- 121 Kim SH, Choi JH, Holloway JW, Suh CH, Nahm DH, Ha EH, Park CS, Park HS: Leukotriene-related gene polymorphisms in patients with aspirin-intolerant urticaria and aspirin-intolerant asthma: Differing contributions of alox5 polymorphism in korean population. *J Korean Med Sci* 2005;20:926-931.
- 122 Sanak M, Simon HU, Szczeklik A: Leukotriene c4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997;350:1599-1600.
- 123 Sanak M, Pierzchalska M, Bazan-Socha S, Szczeklik A: Enhanced expression of the leukotriene c(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:290-296.
- 124 Sanchez-Borges M, Acevedo N, Vergara C, Jimenez S, Zabner-Oziel P, Monzon A, Caraballo L: The a-444c polymorphism in the leukotriene c4 synthase gene is associated with aspirin-induced urticaria. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009;19:375-382.
- 125 Kawagishi Y, Mita H, Taniguchi M, Maruyama M, Oosaki R, Higashi N, Kashii T, Kobayashi M, Akiyama K: Leukotriene c4 synthase promoter polymorphism in japanese patients with aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:936-942.
- 126 Van Sambeek R, Stevenson DD, Baldasaro M, Lam BK, Zhao J, Yoshida S, Yandora C, Drazen JM, Penrose JF: 5' flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene c4 synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the united states. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:72-76.

- 127 Lee HY, Kim SH, Ye YM, Choi GS, Park HS: Lack of association of alox12 and alox15 polymorphisms with aspirin-exacerbated respiratory disease in Korean patients. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009;103:84-86.
- 128 Song YS, Yang EM, Kim SH, Jin HJ, Park HS: Effect of genetic polymorphism of alox15 on aspirin-exacerbated respiratory disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;159:157-161.
- 129 Corrigan CJ, Napoli RL, Meng Q, Fang C, Wu H, Tochiki K, Reay V, Lee TH, Ying S: Reduced expression of the prostaglandin e2 receptor e-prostanoid 2 on bronchial mucosal leukocytes in patients with aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1636-1646.
- 130 Jinnai N, Sakagami T, Sekigawa T, Kakihara M, Nakajima T, Yoshida K, Goto S, Hasegawa T, Koshino T, Hasegawa Y, Inoue H, Suzuki N, Sano Y, Inoue I: Polymorphisms in the prostaglandin e2 receptor subtype 2 gene confer susceptibility to aspirin-intolerant asthma: A candidate gene approach. *Hum Mol Genet* 2004;13:3203-3217.
- 131 Park BL, Park SM, Park JS, Uh ST, Choi JS, Kim YH, Kim MK, Choi IS, Choi BW, Cho SH, Hong CS, Lee YW, Lee JY, Park CS, Shin HD: Association of ptger gene family polymorphisms with aspirin intolerant asthma in Korean asthmatics. *BMB Rep* 2010;43:445-449.
- 132 Sousa AR, Parikh A, Scadding G, Corrigan CJ, Lee TH: Leukotriene-receptor expression on nasal mucosal inflammatory cells in aspirin-sensitive rhinosinusitis. *N Engl J Med* 2002;347:1493-1499.
- 133 Mita H, Hasegawa M, Saito H, Akiyama K: Levels of cysteinyl leukotriene receptor mRNA in human peripheral leukocytes: Significantly higher expression of cysteinyl leukotriene receptor 2 mRNA in eosinophils. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1714-1723.
- 134 Kim SH, Oh JM, Kim YS, Palmer LJ, Suh CH, Nahm DH, Park HS: Cysteinyl leukotriene receptor 1 promoter polymorphism is associated with aspirin-intolerant asthma in males. *Clin Exp Allergy* 2006;36:433-439.
- 135 Shin JA, Chang HS, Park SM, Jang AS, Park SW, Park JS, Uh ST, Il Lim G, Rhim T, Kim MK, Choi IS, Chung IY, Park BL, Shin HD, Park CS: Genetic effect of cysltr2 polymorphisms on its mRNA synthesis and stabilization. *BMC Med Genet* 2009;10:106.
- 136 Aleo MD, Doshna CM, Fritz CA: An underlying role for hepatobiliary dysfunction in cyclosporine A nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;230:126-134.
- 137 Kim JM, Park BL, Park SM, Lee SH, Kim MO, Jung S, Lee EH, Uh ST, Park JS, Choi JS, Kim YH, Kim MK, Choi IS, Cho SH, Choi BW, Park HS, Chang HS, Shin HD, Park CS: Association analysis of n-acetyl transferase-2 polymorphisms with aspirin intolerance among asthmatics. *Pharmacogenomics* 2010;11:951-958.
- 138 Kim JH, Park BL, Cheong HS, Bae JS, Park JS, Jang AS, Uh ST, Choi JS, Kim YH, Kim MK, Choi IS, Cho SH, Choi BW, Park CS, Shin HD: Genome-wide and follow-up studies identify CEP68 gene variants associated with risk of aspirin-intolerant asthma. *PLoS One* 2010;5:e13818.
- 139 Park BL, Kim TH, Kim JH, Bae JS, Pasaje CF, Cheong HS, Kim LH, Park JS, Lee HS, Kim MS, Choi IS, Choi BW, Kim MK, Shin S, Shin HD, Park CS: Genome-wide association study of aspirin-exacerbated respiratory disease in a Korean population. *Hum Genet* 2013;132:313-321.
- 140 Park SM, Park JS, Park HS, Park CS: Unraveling the genetic basis of aspirin hypersensitivity in asthma beyond arachidonate pathways. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013;5:258-276.
- 141 Cornejo-García JA JL, Blanca-López N, Doña I, Flores C, Guéant-Rodríguez RM et al: Genetic variants of the arachidonic acid pathway in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced acute urticaria. *Allergy* 2012 2012
- 142 Amin K: The role of mast cells in allergic inflammation. *Respir Med* 2012;106:9-14.
- 143 Nasser S, Christie PE, Pfister R, Sousa AR, Walls A, Schmitz-Schumann M, Lee TH: Effect of endobronchial aspirin challenge on inflammatory cells in bronchial biopsy samples from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Thorax* 1996;51:64-70.
- 144 Gilfillan AM, Beaven MA: Regulation of mast cell responses in health and disease. *Crit Rev Immunol* 2011;31:475-529.



- 145 Liu T, Kanaoka Y, Barrett NA, Feng C, Garofalo D, Lai J, Buchheit K, Bhattacharya N, Laidlaw TM, Katz HR, Boyce JA: Aspirin-exacerbated respiratory disease involves a cysteinyl leukotriene-driven il-33-mediated mast cell activation pathway. *J Immunol* 2015
- 146 MacGlashan D, Jr.: Subthreshold desensitization of human basophils re-capitulates the loss of syk and fcepsilonri expression characterized by other methods of desensitization. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1060-1070.
- 147 Choi SH, Wiesner P, Almazan F, Kim J, Miller YI: Spleen tyrosine kinase regulates ap-1 dependent transcriptional response to minimally oxidized ldl. *PLoS One* 2012;7:e32378.
- 148 Matsuo H, Yokooji T, Morita H, Ooi M, Urata K, Ishii K, Takahagi S, Yanase Y, Hiragun T, Mihara S, Hide M: Aspirin augments ige-mediated histamine release from human peripheral basophils via syk kinase activation. *Allergol Int* 2013;62:503-511.
- 149 Finco TS, Justice-Healy GE, Patel SJ, Hamilton VE: Regulation of the human lat gene by the elf-1 transcription factor. *BMC Mol Biol* 2006;7:4.
- 150 Burke JE, Dennis EA: Phospholipase a2 biochemistry. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:49-59.
- 151 de Castro RO, Zhang J, Jamur MC, Oliver C, Siraganian RP: Tyrosines in the carboxyl terminus regulate syk kinase activity and function. *J Biol Chem*;285:26674-26684.
- 152 Mortaz E, Redegeld FA, Nijkamp FP, Engels F: Dual effects of acetylsalicylic acid on mast cell degranulation, expression of cyclooxygenase-2 and release of pro-inflammatory cytokines. *Biochem Pharmacol* 2005;69:1049-1057.
- 153 Sirinian C, Papanastasiou AD, Zarkadis IK, Kalofonos HP: Alternative splicing generates a truncated isoform of human tnfrsf11a (rank) with an altered capacity to activate nf-kappab. *Gene* 2013;525:124-129.
- 154 Kim SH, Son JK, Yang EM, Kim JE, Park HS: A functional promoter polymorphism of the human il18 gene is associated with aspirin-induced urticaria. *Br J Dermatol* 2011;165:976-984.
- 155 Steinke JW, Payne SC, Borish L: Interleukin-4 in the generation of the aerd phenotype: Implications for molecular mechanisms driving therapeutic benefit of aspirin desensitization. *J Allergy (Cairo)*;2012:182090.
- 156 Liu YJ: Thymic stromal lymphopoietin: Master switch for allergic inflammation. *J Exp Med* 2006;203:269-273.
- 157 Ziegler SF, Liu YJ: Thymic stromal lymphopoietin in normal and pathogenic t cell development and function. *Nat Immunol* 2006;7:709-714.
- 158 Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, Gilliet M, Ho S, Antonenko S, Lauerma A, Smith K, Gorman D, Zurawski S, Abrams J, Menon S, McClanahan T, de Waal-Malefyt Rd R, Bazan F, Kastelein RA, Liu YJ: Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing tslp. *Nat Immunol* 2002;3:673-680.
- 159 Kay AB, Clark P, Maurer M, Ying S: Elevations in th2-initiating cytokines (il-33, il-25, tslp) in lesional skin from chronic spontaneous ("Idiopathic") urticaria. *Br J Dermatol* 2014
- 160 He R, Geha RS: Thymic stromal lymphopoietin. *Ann N Y Acad Sci*;1183:13-24.
- 161 Ziegler SF, Artis D: Sensing the outside world: Tslp regulates barrier immunity. *Nat Immunol*;11:289-293.
- 162 Ziegler SF: The role of thymic stromal lymphopoietin (tslp) in allergic disorders. *Curr Opin Immunol*;22:795-799.
- 163 Watson B, Gauvreau GM: Thymic stromal lymphopoietin: A central regulator of allergic asthma. *Expert Opin Ther Targets* 2014;18:771-785.
- 164 Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, Yoon BR, Brewer A, Chartier S, Paquette N, Ziegler SF, Sarfati M, Delespesse G: Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* 2007;204:253-258.
- 165 Nagarkar DR, Poposki JA, Comeau MR, Biyasheva A, Avila PC, Schleimer RP, Kato A: Airway epithelial cells activate t(h)2 cytokine production in mast cells through il-1 and thymic stromal lymphopoietin. *J Allergy Clin Immunol*

- 166 Park LS, Martin U, Garka K, Gliniak B, Di Santo JP, Muller W, Largaespada DA, Copeland NG, Jenkins NA, Farr AG, Ziegler SF, Morrissey PJ, Paxton R, Sims JE: Cloning of the murine thymic stromal lymphopoietin (tslp) receptor: Formation of a functional heteromeric complex requires interleukin 7 receptor. *J Exp Med* 2000;192:659-670.
- 167 He R, Oyoshi MK, Garibyan L, Kumar L, Ziegler SF, Geha RS: Tslp acts on infiltrating effector t cells to drive allergic skin inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:11875-11880.
- 168 Cheng DT, Ma C, Niewoehner J, Dahl M, Tsai A, Zhang J, Gonsiorek W, Apparsundaram S, Pashine A, Ravindran P, Jung J, Hang J, Allard J, Bitter H, Tribouley C, Narula S, Wilson S, Fuentes ME: Thymic stromal lymphopoietin receptor blockade reduces allergic inflammation in a cynomolgus monkey model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:455-462.
- 169 Gauvreau GM, O'Byrne PM, Boulet LP, Wang Y, Cockcroft D, Bigler J, FitzGerald JM, Boedigheimer M, Davis BE, Dias C, Gorski KS, Smith L, Bautista E, Comeau MR, Leigh R, Parnes JR: Effects of an anti-tslp antibody on allergen-induced asthmatic responses. *N Engl J Med* 2014;370:2102-2110.
- 170 Kurosawa M YT, Hozawa S, Sutoh E.: Single nucleotide polymorphisms in thymic stromal lymphopoietin gene are not associated with aspirin-exacerbated respiratory disease susceptibility - a pilot study in a japanese population. *J Allergy Ther* 2015;6
- 171 Gao PS, Rafaels NM, Mu D, Hand T, Murray T, Boguniewicz M, Hata T, Schneider L, Hanifin JM, Gallo RL, Gao L, Beaty TH, Beck LA, Leung DY, Barnes KC: Genetic variants in thymic stromal lymphopoietin are associated with atopic dermatitis and eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1403-1407 e1404.
- 172 Miyake Y, Hitsumoto S, Tanaka K, Arakawa M: Association between tslp polymorphisms and eczema in japanese women: The kyushu okinawa maternal and child health study. *Inflammation* 2015
- 173 He JQ, Hallstrand TS, Knight D, Chan-Yeung M, Sandford A, Tripp B, Zamar D, Bosse Y, Kozyrskyj AL, James A, Laprise C, Daley D: A thymic stromal lymphopoietin gene variant is associated with asthma and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:222-229.
- 174 Hunninghake GM, Soto-Quiros ME, Avila L, Kim HP, Lasky-Su J, Rafaels N, Ruczinski I, Beaty TH, Mathias RA, Barnes KC, Wilk JB, O'Connor GT, Gauderman WJ, Vora H, Baurley JW, Gilliland F, Liang C, Sylvia JS, Klanderman BJ, Sharma SS, Himes BE, Bossley CJ, Israel E, Raby BA, Bush A, Choi AM, Weiss ST, Celedon JC: Tslp polymorphisms are associated with asthma in a sex-specific fashion. *Allergy* 2010;65:1566-1575.
- 175 Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M: Thymic stromal lymphopoietin gene promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;44:787-793.
- 176 Birben E, Sahiner UM, Karaaslan C, Yavuz TS, Cosgun E, Kalayci O, Sackesen C: The genetic variants of thymic stromal lymphopoietin protein in children with asthma and allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2014;163:185-192.
- 177 Mete F, Ozkaya E, Aras S, Koksall V, Etlik O, Baris I: Association between gene polymorphisms in tim1, tslp, il18r1 and childhood asthma in turkish population. *Int J Clin Exp Med* 2014;7:1071-1077.
- 178 Bunyavanich S, Melen E, Wilk JB, Granada M, Soto-Quiros ME, Avila L, Lasky-Su J, Hunninghake GM, Wickman M, Pershagen G, O'Connor GT, Weiss ST, Celedon JC: Thymic stromal lymphopoietin (tslp) is associated with allergic rhinitis in children with asthma. *Clin Mol Allergy* 2011;9:1.

- 179 Zhang Y, Wang X, Zhang W, Han D, Zhang L, Bachert C: Polymorphisms in thymic stromal lymphopoietin gene demonstrate a gender and nasal polyposis-dependent association with chronic rhinosinusitis. *Hum Immunol* 2013;74:241-248.
- 180 Kaur D, Brightling C: Ox40/ox40 ligand interactions in t-cell regulation and asthma. *Chest*;141:494-499.
- 181 Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, Pizzichini E, Sullivan SD, Wenzel SE, Zar HJ: Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J* 2008;31:143-178.
- 182 Hilberg O, Pedersen OF: Acoustic rhinometry: Recommendations for technical specifications and standard operating procedures. *Rhinol Suppl* 2000;16:3-17.
- 183 Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J: Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319-338.
- 184 Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, Hinds DA, Stuve LL, Gibbs RA, Belmont JW, Boudreau A, Hardenbol P, Leal SM, Pasternak S, Wheeler DA, Willis TD, Yu F, Yang H, Zeng C, Gao Y, Hu H, Hu W, Li C, Lin W, Liu S, Pan H, Tang X, Wang J, Wang W, Yu J, Zhang B, Zhang Q, Zhao H, Zhou J, Gabriel SB, Barry R, Blumenstiel B, Camargo A, Defelice M, Faggart M, Goyette M, Gupta S, Moore J, Nguyen H, Onofrio RC, Parkin M, Roy J, Stahl E, Winchester E, Ziaugra L, Altshuler D, Shen Y, Yao Z, Huang W, Chu X, He Y, Jin L, Liu Y, Sun W, Wang H, Wang Y, Xiong X, Xu L, Waye MM, Tsui SK, Xue H, Wong JT, Galver LM, Fan JB, Gunderson K, Murray SS, Oliphant AR, Chee MS, Montpetit A, Chagnon F, Ferretti V, Leboeuf M, Olivier JF, Phillips MS, Roumy S, Sallee C, Verner A, Hudson TJ, Kwok PY, Cai D, Koboldt DC, Miller RD, Pawlikowska L, Taillon-Miller P, Xiao M, Tsui LC, Mak W, Song YQ, Tam PK, Nakamura Y, Kawaguchi T, Kitamoto T, Morizono T, Nagashima A, Ohnishi Y, Sekine A, Tanaka T, Tsunoda T, Deloukas P, Bird CP, Delgado M, Dermitzakis ET, Gwilliam R, Hunt S, Morrison J, Powell D, Stranger BE, Whittaker P, Bentley DR, Daly MJ, de Bakker PI, Barrett J, Chretien YR, Maller J, McCarroll S, Patterson N, Pe'er I, Price A, Purcell S, Richter DJ, Sabeti P, Saxena R, Schaffner SF, Sham PC, Varilly P, Stein LD, Krishnan L, Smith AV, Tello-Ruiz MK, Thorisson GA, Chakravarti A, Chen PE, Cutler DJ, Kashuk CS, Lin S, Abecasis GR, Guan W, Li Y, Munro HM, Qin ZS, Thomas DJ, McVean G, Auton A, Bottolo L, Cardin N, Eyheramendy S, Freeman C, Marchini J, Myers S, Spencer C, Stephens M, Donnelly P, Cardon LR, Clarke G, Evans DM, Morris AP, Weir BS, Mullikin JC, Sherry ST, Feolo M, Skol A, Zhang H, Matsuda I, Fukushima Y, Macer DR, Suda E, Rotimi CN, Adebamowo CA, Ajayi I, Aniagwu T, Marshall PA, Nkwodimmah C, Royal CD, Leppert MF, Dixon M, Peiffer A, Qiu R, Kent A, Kato K, Niiikawa N, Adewole IF, Knoppers BM, Foster MW, Clayton EW, Watkin J, Muzny D, Nazareth L, Sodergren E, Weinstock GM, Yakub I, Birren BW, Wilson RK, Fulton LL, Rogers J, Burton J, Carter NP, Clee CM, Griffiths M, Jones MC, McLay K, Plumb RW, Ross MT, Sims SK, Willey DL, Chen Z, Han H, Kang L, Godbout M, Wallenburg JC, L'Archeveque P, Bellemare G, Saeki K, An D, Fu H, Li Q, Wang Z, Wang R, Holden AL, Brooks LD, McEwen JE, Guyer MS, Wang VO, Peterson JL, Shi M, Spiegel J, Sung LM, Zacharia LF, Collins FS, Kennedy K, Jamieson R, Stewart J: A second generation human haplotype map of over 3.1 million snps. *Nature* 2007;449:851-861.
- 185 Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA: A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010;467:1061-1073.
- 186 Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, Patsopoulos NA, Moutsianas L, Dilthey A, Su Z, Freeman C, Hunt SE, Edkins S, Gray E, Booth DR, Potter SC, Goris A, Band G, Oturai AB, Strange A, Saarela J, Bellenguez C, Fontaine B, Gillman M, Hemmer B, Gwilliam R, Zipp F, Jayakumar A, Martin R, Leslie S, Hawkins S, Giannoulidou E, D'Alfonso S, Blackburn H, Martinelli Boneschi F, Liddle J, Harbo HF, Perez ML, Spurkland A, Waller MJ, Mycko MP, Ricketts M, Comabella M, Hammond N, Kockum I, McCann OT, Ban M, Whittaker P, Kempainen A, Weston P, Hawkins C, Widaa S, Zajicek J, Dronov S, Robertson N, Bumpstead SJ,

- Barcellos LF, Ravindrarajah R, Abraham R, Alfredsson L, Ardlie K, Aubin C, Baker A, Baker K, Baranzini SE, Bergamaschi L, Bergamaschi R, Bernstein A, Berthele A, Boggild M, Bradfield JP, Brassat D, Broadley SA, Buck D, Butzkueven H, Capra R, Carroll WM, Cavalla P, Celius EG, Cepok S, Chiavacci R, Clerget-Darpoux F, Clysters K, Comi G, Cossburn M, Courneu-Rebeix I, Cox MB, Cozen W, Cree BA, Cross AH, Cusi D, Daly MJ, Davis E, de Bakker PI, Debouverie M, D'Hooghe M B, Dixon K, Dobosi R, Dubois B, Ellinghaus D, Elovaara I, Esposito F, Fontenille C, Foote S, Franke A, Galimberti D, Ghezzi A, Glessner J, Gomez R, Gout O, Graham C, Grant SF, Guerini FR, Hakonarson H, Hall P, Hamsten A, Hartung HP, Heard RN, Heath S, Hobart J, Hoshi M, Infante-Duarte C, Ingram G, Ingram W, Islam T, Jagodic M, Kabesch M, Kermode AG, Kilpatrick TJ, Kim C, Klopp N, Koivisto K, Larsson M, Lathrop M, Lechner-Scott JS, Leone MA, Leppa V, Liljedahl U, Bomfim IL, Lincoln RR, Link J, Liu J, Lorentzen AR, Lupoli S, Macciardi F, Mack T, Marriott M, Martinelli V, Mason D, McCauley JL, Mentch F, Mero IL, Mihalova T, Montalban X, Mottershead J, Myhr KM, Naldi P, Ollier W, Page A, Palotie A, Pelletier J, Piccio L, Pickersgill T, Piehl F, Pobywajlo S, Quach HL, Ramsay PP, Reunanen M, Reynolds R, Rioux JD, Rodegher M, Roesner S, Rubio JP, Ruckert IM, Salvetti M, Salvi E, Santaniello A, Schaefer CA, Schreiber S, Schulze C, Scott RJ, Sellebjerg F, Selmaj KW, Sexton D, Shen L, Simms-Acuna B, Skidmore S, Sleiman PM, Smestad C, Sorensen PS, Sondergaard HB, Stankovich J, Strange RC, Sulonen AM, Sundqvist E, Syvanen AC, Taddeo F, Taylor B, Blackwell JM, Tienari P, Bramon E, Tourbah A, Brown MA, Tronczynska E, Casas JP, Tubridy N, Corvin A, Vickery J, Jankowski J, Villoslada P, Markus HS, Wang K, Mathew CG, Wason J, Palmer CN, Wichmann HE, Plomin R, Willoughby E, Rautanen A, Winkelmann J, Wittig M, Trembath RC, Yaouanq J, Viswanathan AC, Zhang H, Wood NW, Zuvich R, Deloukas P, Langford C, Duncanson A, Oksenberg JR, Pericak-Vance MA, Haines JL, Olsson T, Hillert J, Ivinson AJ, De Jager PL, Peltonen L, Stewart GJ, Hafler DA, Hauser SL, McVean G, Donnelly P, Compston A: Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011;476:214-219.
- 187 Reed KA, Tucker DE, Aloulou A, Adler D, Ghomashchi F, Gelb MH, Leslie CC, Oates JA, Boutaud O: Functional characterization of mutations in inherited human cpla(2) deficiency. *Biochemistry* 2011;50:1731-1738.
- 188 Hartiala J, Li D, Conti DV, Vikman S, Patel Y, Tang WH, Brennan ML, Newman JW, Stephensen CB, Armstrong P, Hazen SL, Allayee H: Genetic contribution of the leukotriene pathway to coronary artery disease. *Hum Genet* 2011;129:617-627.
- 189 Umeno J, Matsumoto T, Esaki M, Kukita Y, Tahira T, Yanaru-Fujisawa R, Nakamura S, Arima H, Hirahashi M, Hayashi K, Iida M: Impact of group IVA cytosolic phospholipase A2 gene polymorphisms on phenotypic features of patients with familial adenomatous polyposis. *Int J Colorectal Dis* 2010;25:293-301.
- 190
- 191 Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, Franciosi JP, Kushner JP, Abonia JP, Assa'ad AH, Kovacic MB, Biagini Myers JM, Bochner BS, He H, Hershey GK, Martin LJ, Rothenberg ME: Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:160-165 e163.
- 192 Weale ME, Depondt C, Macdonald SJ, Smith A, Lai PS, Shorvon SD, Wood NW, Goldstein DB: Selection and evaluation of tagging snps in the neuronal-sodium-channel gene *scn1a*: Implications for linkage-disequilibrium gene mapping. *Am J Hum Genet* 2003;73:551-565.
- 193 Flores C, Ma SF, Maresso K, Ober C, Garcia JG: A variant of the myosin light chain kinase gene is associated with severe asthma in african americans. *Genet Epidemiol* 2007;31:296-305.
- 194 Mayo P, Hartshorne T, Li K, McMunn-Gibson C, Spencer K, Schnetz-Boutaud N: Cnv analysis using taqman copy number assays. *Curr Protoc Hum Genet* 2010;Chapter 2:Unit2 13.
- 195 Dreszer TR, Karolchik D, Zweig AS, Hinrichs AS, Raney BJ, Kuhn RM, Meyer LR, Wong M, Sloan CA, Rosenbloom KR, Roe G, Rhead B, Pohl A, Malladi VS, Li CH, Learned K, Kirkup V, Hsu F, Harte RA, Guruvadoo L, Goldman M, Giardine BM, Fujita PA, Diekhans M, Cline MS, Clawson

- H, Barber GP, Haussler D, James Kent W: The ucsc genome browser database: Extensions and updates 2011. *Nucleic Acids Res* 2012;40:D918-923.
- 196 Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, Jang W, Rubinstein WS, Church DM, Maglott DR: Clinvar: Public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D980-985.
- 197 Imag TP,
- 198 Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, Lin J, Minguez P, Bork P, von Mering C, Jensen LJ: String v9.1: Protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucleic Acids Res* 2013;41:D808-815.
- 199 Storey JD, Tibshirani R: Statistical significance for genomewide studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9440-9445.
- 200 Barrett JC: Haploview: Visualization and analysis of snp genotype data. *Cold Spring Harb Protoc* 2009;2009:pdb ip71.
- 201 Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ, Sham PC: Plink: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007;81:559-575.
- 202 Santiago Perez MI, Hervada Vidal X, Naveira Barbeito G, Silva LC, Farinas H, Vazquez E, Bacallao J, Mujica OJ: [the epidat program]. *Rev Panam Salud Publica* 2010;27:80-82.
- 203 Li Y, Willer CJ, Ding J, Scheet P, Abecasis GR: Mach: Using sequence and genotype data to estimate haplotypes and unobserved genotypes. *Genet Epidemiol* 2010;34:816-834.
- 204 Pruim RJ, Welch RP, Sanna S, Teslovich TM, Chines PS, Gliedt TP, Boehnke M, Abecasis GR, Willer CJ: Locuszoom: Regional visualization of genome-wide association scan results. *Bioinformatics* 2010;26:2336-2337.
- 205 Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR: A note on exact tests of hardy-weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet* 2005;76:887-893.
- 206 Pino-Yanes M, Corrales A, Basaldua S, Hernandez A, Guerra L, Villar J, Flores C: North african influences and potential bias in case-control association studies in the spanish population. *PLoS One* 2011;6:e18389.
- 207 Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, Kang HM, Marth GT, McVean GA: An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012;491:56-65.
- 208 Yuan HY, Chiou JJ, Tseng WH, Liu CH, Liu CK, Lin YJ, Wang HH, Yao A, Chen YT, Hsu CN: FastSNP: An always up-to-date and extendable service for snp function analysis and prioritization. *Nucleic Acids Res* 2006;34:W635-641.
- 209 Xu Z, Taylor JA: Snpinfo: Integrating gwas and candidate gene information into functional snp selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res* 2009;37:W600-605.
- 210 Garcia-Closas M, Lubin JH: Power and sample size calculations in case-control studies of gene-environment interactions: Comments on different approaches. *Am J Epidemiol* 1999;149:689-692.
- 211 Sanchez-Borges M, Acevedo N, Caraballo L, Capriles-Hulett A, Caballero-Fonseca F: Increased total and mite-specific immunoglobulin e in patients with aspirin-induced urticaria and angioedema. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:139-145.
- 212 Kashiwakura J, Otani IM, Kawakami T: Monomeric ige and mast cell development, survival and function. *Adv Exp Med Biol* 2011;716:29-46.
- 213 Park JS, Heo JS, Chang HS, Choi IS, Kim MK, Lee JU, Park BL, Shin HD, Park CS: Association analysis of member ras oncogene family gene polymorphisms with aspirin intolerance in asthmatic patients. *DNA Cell Biol* 2014;33:155-161.
- 214 Kim SH, Sanak M, Park HS: Genetics of hypersensitivity to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Immunol Allergy Clin North Am* 2013;33:177-194.
- 215 Nasser SM, Pfister R, Christie PE, Sousa AR, Barker J, Schmitz-Schumann M, Lee TH: Inflammatory cell populations in bronchial biopsies from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:90-96.

- 216 Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, Lam BK, Penrose JF, Austen FK, Holgate ST, Sampson AP: Overexpression of leukotriene c4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest* 1998;101:834-846.
- 217 Palikhe NS, Sin HJ, Kim SH, Hwang EK, Ye YM, Park HS: Genetic variability of prostaglandin e2 receptor subtype ep4 gene in aspirin-intolerant chronic urticaria. *J Hum Genet* 2012;57:494-499.
- 218 Hamberg M, Samuelsson B: On the metabolism of prostaglandins e 1 and e 2 in man. *J Biol Chem* 1971;246:6713-6721.
- 219 Leonhardt A, Krauss M, Gieler U, Schweer H, Happle R, Seyberth HW: In vivo formation of prostaglandin e1 and prostaglandin e2 in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1997;136:337-340.
- 220 Giagoudakis G, Markantonis SL: Relationships between the concentrations of prostaglandins and the nonsteroidal antiinflammatory drugs indomethacin, diclofenac, and ibuprofen. *Pharmacotherapy* 2005;25:18-25.
- 221 Oosaki R, Mizushima Y, Mita H, Shida T, Akiyama K, Kobayashi M: Urinary leukotriene e4 and 11-dehydrothromboxane b2 in patients with aspirin-sensitive asthma. *Allergy* 1997;52:470-473.
- 222 Li H, Lawson JA, Reilly M, Adiyaman M, Hwang SW, Rokach J, FitzGerald GA: Quantitative high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric analysis of the four classes of f(2)-isoprostanes in human urine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:13381-13386.
- 223 Milatovic D, Montine TJ, Aschner M: Measurement of isoprostanes as markers of oxidative stress. *Methods Mol Biol* 2011;758:195-204.
- 224 Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, 2nd: A series of prostaglandin f2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:9383-9387.
- 225 Kalkan G, Seckin HY, Duygu F, Akbas A, Ozyurt H, Sahin M: Oxidative stress status in patients with acute urticaria. *Cutan Ocul Toxicol* 2014;33:109-114.
- 226 Folco G, Murphy RC: Eicosanoid transcellular biosynthesis: From cell-cell interactions to in vivo tissue responses. *Pharmacol Rev* 2006;58:375-388.
- 227 Celik G, Bavbek S, Misirligil Z, Melli M: Release of cysteinyl leukotrienes with aspirin stimulation and the effect of prostaglandin e(2) on this release from peripheral blood leucocytes in aspirin-induced asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1615-1622.
- 228 Feltenmark S, Gautam N, Brunnstrom A, Griffiths W, Backman L, Edenius C, Lindbom L, Bjorkholm M, Claesson HE: Eoxins are proinflammatory arachidonic acid metabolites produced via the 15-lipoxygenase-1 pathway in human eosinophils and mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:680-685.
- 229 Narayanankutty A, Resendiz-Hernandez JM, Falfan-Valencia R, Teran LM: Biochemical pathogenesis of aspirin exacerbated respiratory disease (aerd). *Clin Biochem* 2013;46:566-578.
- 230 James A, Daham K, Backman L, Brunnstrom A, Tingvall T, Kumlin M, Edenius C, Dahlen SE, Dahlen B, Claesson HE: The influence of aspirin on release of eoxin c4, leukotriene c4 and 15-hete, in eosinophilic granulocytes isolated from patients with asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;162:135-142.
- 231 Mastalerz L, Sanak M, Kumik J, Gawlewicz-Mroccka A, Celejewska-Wojcik N, Cmiel A, Szczeklik A: Exhaled eicosanoids following bronchial aspirin challenge in asthma patients with and without aspirin hypersensitivity: The pilot study. *J Allergy (Cairo)* 2012;2012:696792.
- 232 Jedrzejczak-Czechowicz M, Lewandowska-Polak A, Bienkiewicz B, Kowalski ML: Involvement of 15-lipoxygenase and prostaglandin ep receptors in aspirin-triggered 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation in aspirin-sensitive asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1108-1116.
- 233 Serhan CN: Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute inflammation: To resolve or not? *Am J Pathol* 2010;177:1576-1591.

- 234 Serhan CN, Petasis NA: Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chem Rev* 2011;111:5922-5943.
- 235 Sun YP, Oh SF, Uddin J, Yang R, Gotlinger K, Campbell E, Colgan SP, Petasis NA, Serhan CN: Resolvin d1 and its aspirin-triggered 17r epimer. Stereochemical assignments, anti-inflammatory properties, and enzymatic inactivation. *J Biol Chem* 2007;282:9323-9334.
- 236 Lima JJ, Zhang S, Grant A, Shao L, Tantisira KG, Allayee H, Wang J, Sylvester J, Holbrook J, Wise R, Weiss ST, Barnes K: Influence of leukotriene pathway polymorphisms on response to montelukast in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:379-385.
- 237 Al-Shemari H, Bosse Y, Hudson TJ, Cabaluna M, Duval M, Lemire M, Vallee-Smedja S, Frenkiel S, Desrosiers M: Influence of leukotriene gene polymorphisms on chronic rhinosinusitis. *BMC Med Genet* 2008;9:21.
- 238 Simmons DL, Botting RM, Hla T: Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev* 2004;56:387-437.
- 239 McAdam BF, Mardini IA, Habib A, Burke A, Lawson JA, Kapoor S, FitzGerald GA: Effect of regulated expression of human cyclooxygenase isoforms on eicosanoid and isoecosanoid production in inflammation. *J Clin Invest* 2000;105:1473-1482.
- 240 Pierzchalska M, Soja J, Wos M, Szabo Z, Nizankowska-Mogielnicka E, Sanak M, Szczeklik A: Deficiency of cyclooxygenases transcripts in cultured primary bronchial epithelial cells of aspirin-sensitive asthmatics. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:207-218.
- 241 Roca-Ferrer J, Garcia-Garcia FJ, Pereda J, Perez-Gonzalez M, Pujols L, Alobid I, Mullol J, Picado C: Reduced expression of coxs and production of prostaglandin e(2) in patients with nasal polyps with or without aspirin-intolerant asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:66-72 e61.
- 242 Helmersson J, Arnlov J, Axelsson T, Basu S: A polymorphism in the cyclooxygenase 1 gene is associated with decreased inflammatory prostaglandin f2alpha formation and lower risk of cardiovascular disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009;80:51-56.
- 243 Hahn T, Heinzl S, Plichta MM, Reif A, Lesch KP, Fallgatter AJ: Neurovascular coupling in the human visual cortex is modulated by cyclooxygenase-1 (cox-1) gene variant. *Cereb Cortex* 2011;21:1659-1666.
- 244 Kim SH, Choi JH, Park HS, Holloway JW, Lee SK, Park CS, Shin HD: Association of thromboxane a2 receptor gene polymorphism with the phenotype of acetyl salicylic acid-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 2005;35:585-590.
- 245 Serre D, Gurd S, Ge B, Sladek R, Sinnett D, Harmsen E, Bibikova M, Chudin E, Barker DL, Dickinson T, Fan JB, Hudson TJ: Differential allelic expression in the human genome: A robust approach to identify genetic and epigenetic cis-acting mechanisms regulating gene expression. *PLoS Genet* 2008;4:e1000006.
- 246 Libioulle C, Louis E, Hansoul S, Sandor C, Farnir F, Franchimont D, Vermeire S, Dewit O, de Vos M, Dixon A, Demarche B, Gut I, Heath S, Foglio M, Liang L, Laukens D, Mni M, Zelenika D, Van Gossum A, Rutgeerts P, Belaiche J, Lathrop M, Georges M: Novel crohn disease locus identified by genome-wide association maps to a gene desert on 5p13.1 and modulates expression of ptger4. *PLoS Genet* 2007;3:e58.
- 247 Sakurai M, Higashide T, Takahashi M, Sugiyama K: Association between genetic polymorphisms of the prostaglandin f2alpha receptor gene and response to latanoprost. *Ophthalmology* 2007;114:1039-1045.
- 248 Agundez JA, Ayuso P, Cornejo-Garcia JA, Blanca M, Torres MJ, Dona I, Salas M, Blanca-Lopez N, Canto G, Rondon C, Campo P, Laguna JJ, Fernandez J, Martinez C, Garcia-Martin E: The diamine oxidase gene is associated with hypersensitivity response to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *PLoS One* 2012;7:e47571.
- 249 Cornejo-Garcia JA, Flores C, Plaza-Seron MC, Acosta-Herrera M, Blanca-Lopez N, Dona I, Torres MJ, Mayorga C, Gueant-Rodriguez RM, Ayuso P, Fernandez J, Laguna JJ, Agundez JA, Garcia-Martin E, Gueant JL, Canto G, Blanca M: Variants of cep68 gene are associated with

acute urticaria/angioedema induced by multiple non-steroidal anti-inflammatory drugs. *PLoS One* 2014;9:e90966.

250 Cornejo-Garcia JA, Liou LB, Blanca-Lopez N, Dona I, Chen CH, Chou YC, Chuang HP, Wu JY, Chen YT, Plaza-Seron Mdel C, Mayorga C, Gueant-Rodriguez RM, Lin SC, Torres MJ, Campo P, Rondon C, Laguna JJ, Fernandez J, Gueant JL, Canto G, Blanca M, Lee MT: Genome-wide association study in nsaid-induced acute urticaria/angioedema in spanish and han chinese populations. *Pharmacogenomics* 2013;14:1857-1869.

251 Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH: Consensus statement: Chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010;86:749-764.

252 Kaminsky EB, Kaul V, Paschall J, Church DM, Bunke B, Kunig D, Moreno-De-Luca D, Moreno-De-Luca A, Mulle JG, Warren ST, Richard G, Compton JG, Fuller AE, Gliem TJ, Huang S, Collinson MN, Beal SJ, Ackley T, Pickering DL, Golden DM, Aston E, Whitby H, Shetty S, Rossi MR, Rudd MK, South ST, Brothman AR, Sanger WG, Iyer RK, Crolla JA, Thorland EC, Aradhya S, Ledbetter DH, Martin CL: An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genet Med* 2011;13:777-784.

253 Ayuso P, Blanca M, Cornejo-Garcia JA, Torres MJ, Dona I, Salas M, Blanca-Lopez N, Canto G, Rondon C, Campo P, Laguna JJ, Fernandez J, Martinez C, Agundez JA, Garcia-Martin E: Variability in histamine receptor genes hrh1, hrh2 and hrh4 in patients with hypersensitivity to nsuids. *Pharmacogenomics* 2013;14:1871-1878.

254 Hollox EJ, Hoh BP: Human gene copy number variation and infectious disease. *Hum Genet* 2014;133:1217-1233.

255 Ayuso P, Plaza-Seron Mdel C, Blanca-Lopez N, Dona I, Campo P, Canto G, Laguna JJ, Bartra J, Soriano-Gomis V, Blanca M, Cornejo-Garcia JA, Perkins JR: Genetic variants in arachidonic acid pathway genes associated with nsaid-exacerbated respiratory disease. *Pharmacogenomics* 2015;16:825-839.

256 Shaikh TH, Gai X, Perin JC, Glessner JT, Xie H, Murphy K, O'Hara R, Casalunovo T, Conlin LK, D'Arcy M, Frackelton EC, Geiger EA, Haldeman-Englert C, Imielinski M, Kim CE, Medne L, Annaiah K, Bradfield JP, Dabaghyan E, Eckert A, Onyiah CC, Ostapenko S, Otieno FG, Santa E, Shaner JL, Skraban R, Smith RM, Elia J, Goldmuntz E, Spinner NB, Zackai EH, Chiavacci RM, Grundmeier R, Rappaport EF, Grant SF, White PS, Hakonarson H: High-resolution mapping and analysis of copy number variations in the human genome: A data resource for clinical and research applications. *Genome Res* 2009;19:1682-1690.

257 Wong KK, deLeeuw RJ, Dosanjh NS, Kimm LR, Cheng Z, Horsman DE, MacAulay C, Ng RT, Brown CJ, Eichler EE, Lam WL: A comprehensive analysis of common copy-number variations in the human genome. *Am J Hum Genet* 2007;80:91-104.

258 Wang K, Li M, Hadley D, Liu R, Glessner J, Grant SF, Hakonarson H, Bucan M: PennCNV: An integrated hidden markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome snp genotyping data. *Genome Res* 2007;17:1665-1674.

259 Jakobsson M, Scholz SW, Scheet P, Gibbs JR, VanLiere JM, Fung HC, Szpiech ZA, Degnan JH, Wang K, Guerreiro R, Bras JM, Schymick JC, Hernandez DG, Traynor BJ, Simon-Sanchez J, Matarin M, Britton A, van de Leemput J, Rafferty I, Bucan M, Cann HM, Hardy JA, Rosenberg NA, Singleton AB: Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. *Nature* 2008;451:998-1003.

260 Gotoh Y, Oishi K, Shibata H, Yamagiwa A, Isagawa T, Nishimura T, Goyama E, Takahashi M, Mukai H, Ono Y: Protein kinase pkn1 associates with traf2 and is involved in traf2-nf-kappab signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:688-694.

- 261 Katoh M: Functional proteomics, human genetics and cancer biology of gipc family members. *Exp Mol Med* 2013;45:e26.
- 262 Hamann J, Veninga H, de Groot DM, Visser L, Hofstra CL, Tak PP, Laman JD, Boots AM, van Eenennaam H: Cd97 in leukocyte trafficking. *Adv Exp Med Biol* 2010;706:128-137.
- 263 Sugiura T, Sakurai K, Nagano Y: Intracellular characterization of ddx39, a novel growth-associated rna helicase. *Exp Cell Res* 2007;313:782-790.
- 264 Eyster CA, Cole NB, Petersen S, Viswanathan K, Fruh K, Donaldson JG: March ubiquitin ligases alter the itinerary of clathrin-independent cargo from recycling to degradation. *Mol Biol Cell* 2011;22:3218-3230.
- 265 Chen R, Li M, Zhang Y, Zhou Q, Shu HB: The e3 ubiquitin ligase march8 negatively regulates il-1beta-induced nf-kappab activation by targeting the il1rap coreceptor for ubiquitination and degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:14128-14133.
- 266 Brock TG, Anderson JA, Fries FP, Peters-Golden M, Sporn PH: Decreased leukotriene c4 synthesis accompanies adherence-dependent nuclear import of 5-lipoxygenase in human blood eosinophils. *J Immunol* 1999;162:1669-1676.
- 267 Hartiala J, Gilliam E, Vikman S, Campos H, Allayee H: Association of pla2g4a with myocardial infarction is modulated by dietary pufas. *Am J Clin Nutr* 2012;95:959-965.
- 268 Peters-Golden M, Henderson WR, Jr.: Leukotrienes. *N Engl J Med* 2007;357:1841-1854.
- 269 Saini SS, Paterniti M, Vasagar K, Gibbons SP, Jr., Sterba PM, Vonakis BM: Cultured peripheral blood mast cells from chronic idiopathic urticaria patients spontaneously degranulate upon ige sensitization: Relationship to expression of syk and ship-2. *Clin Immunol* 2009;132:342-348.
- 270 Houle D, Govindaraju DR, Omholt S: Phenomics: The next challenge. *Nat Rev Genet* 2010;11:855-866.
- 271 Varga EM, Jacobson MR, Masuyama K, Rak S, Till SJ, Darby Y, Hamid Q, Lund V, Scadding GK, Durham SR: Inflammatory cell populations and cytokine mrna expression in the nasal mucosa in aspirin-sensitive rhinitis. *Eur Respir J* 1999;14:610-615.
- 272 Ward LD, Kellis M: Haploreg: A resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. *Nucleic Acids Res* 2012;40:D930-934.
- 273 Kiss M, Czimmerer Z, Nagy L: The role of lipid-activated nuclear receptors in shaping macrophage and dendritic cell function: From physiology to pathology. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:264-286.
- 274 Mao XR, Moerman-Herzog AM, Chen Y, Barger SW: Unique aspects of transcriptional regulation in neurons--nuances in nfkappab and sp1-related factors. *J Neuroinflammation* 2009;6:16.
- 275 Ravasi T, Suzuki H, Cannistraci CV, Katayama S, Bajic VB, Tan K, Akalin A, Schmeier S, Kanamori-Katayama M, Bertin N, Carninci P, Daub CO, Forrest AR, Gough J, Grimmond S, Han JH, Hashimoto T, Hide W, Hofmann O, Kamburov A, Kaur M, Kawaji H, Kubosaki A, Lassmann T, van Nimwegen E, MacPherson CR, Ogawa C, Radovanovic A, Schwartz A, Teasdale RD, Tegner J, Lenhard B, Teichmann SA, Arakawa T, Ninomiya N, Murakami K, Tagami M, Fukuda S, Imamura K, Kai C, Ishihara R, Kitazume Y, Kawai J, Hume DA, Ideker T, Hayashizaki Y: An atlas of combinatorial transcriptional regulation in mouse and man. *Cell* 2010;140:744-752.
- 276 Kurosu T, Zhang F, Peterlin BM: Transcriptional activity and substrate recognition of cyclin t2 from p-tefb. *Gene* 2004;343:173-179.
- 277 Mouthon MA, Bernard O, Mitjavila MT, Romeo PH, Vainchenker W, Mathieu-Mahul D: Expression of tal-1 and gata-binding proteins during human hematopoiesis. *Blood* 1993;81:647-655.
- 278 Zon LI, Yamaguchi Y, Yee K, Albee EA, Kimura A, Bennett JC, Orkin SH, Ackerman SJ: Expression of mrna for the gata-binding proteins in human eosinophils and basophils: Potential role in gene transcription. *Blood* 1993;81:3234-3241.

- 279 Tamauchi H, Amoh Y, Itoh M, Terashima M, Masuzawa M, Habu S, Katsuoka K, Iwabuchi K: Gata-3 regulates contact hyperresponsiveness in a murine model of allergic dermatitis. *Immunobiology* 2012;217:446-454.
- 280 Bae CJ, Lee JW, Shim SB, Jee SW, Lee SH, Woo JM, Lee CK, Hwang DY: Gata binding protein 3 overexpression and suppression significantly contribute to the regulation of allergic skin inflammation. *Int J Mol Med* 2011;28:171-179.
- 281 Cornejo-Garcia JA, Fernandez TD, Torres MJ, Carballo M, Hernan I, Antunez C, Blanca M, Mayorga C: Differential cytokine and transcription factor expression in patients with allergic reactions to drugs. *Allergy* 2007;62:1429-1438.
- 282 Maneechotesuwan K, Yao X, Ito K, Jazrawi E, Usmani OS, Adcock IM, Barnes PJ: Suppression of gata-3 nuclear import and phosphorylation: A novel mechanism of corticosteroid action in allergic disease. *PLoS Med* 2009;6:e1000076.
- 283 Adcock IM, Tsaprouni L, Bhavsar P, Ito K: Epigenetic regulation of airway inflammation. *Curr Opin Immunol* 2007;19:694-700.
- 284 Bhavsar P, Ahmad T, Adcock IM: The role of histone deacetylases in asthma and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:580-584.
- 285 Kobayashi Y, Bossley C, Gupta A, Akashi K, Tsartsali L, Mercado N, Barnes PJ, Bush A, Ito K: Passive smoking impairs histone deacetylase-2 in children with severe asthma. *Chest* 2014;145:305-312.
- 286 Sohal SS, Reid D, Soltani A, Weston S, Muller HK, Wood-Baker R, Walters EH: Changes in airway histone deacetylase2 in smokers and copd with inhaled corticosteroids: A randomized controlled trial. *PLoS One* 2013;8:e64833.
- 287 Wang XS, Wen PF, Zhang M, Hu LF, Ni J, Qiu LJ, Liang Y, Zhao W, Huang Q, Tao SS, Xu WD, Feng CC, Cen H, Leng RX, Pan HF, Ye DQ: Interleukin-7 receptor single nucleotide polymorphism rs6897932 (c/t) and the susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Inflammation* 2014;37:615-620.
- 288 BroadInstitute: Haploreg, 2014,
- 289 Maheshwari R, Dhathathreyan A: Investigation of surface properties of amino acids: Polarity scale for amino acids as a means to predict surface exposed residues in films of proteins. *J Colloid Interface Sci* 2004;277:79-83.
- 290 Andersen JS, Wilkinson CJ, Mayor T, Mortensen P, Nigg EA, Mann M: Proteomic characterization of the human centrosome by protein correlation profiling. *Nature* 2003;426:570-574.
- 291 Graser S, Stierhof YD, Nigg EA: Cep68 and cep215 (cdk5rap2) are required for centrosome cohesion. *J Cell Sci* 2007;120:4321-4331.
- 292 Chen Y, Low TY, Choong LY, Ray RS, Tan YL, Toy W, Lin Q, Ang BK, Wong CH, Lim S, Li B, Hew CL, Sze NS, Druker BJ, Lim YP: Phosphoproteomics identified endofin, dcbld2, and kiaa0582 as novel tyrosine phosphorylation targets of egf signaling and iressa in human cancer cells. *Proteomics* 2007;7:2384-2397.
- 293 Hirota N, Risse PA, Novali M, McGovern T, Al-Alwan L, McCuaig S, Proud D, Hayden P, Hamid Q, Martin JG: Histamine may induce airway remodeling through release of epidermal growth factor receptor ligands from bronchial epithelial cells. *FASEB J* 2012;26:1704-1716.
- 294 McGovern T, Risse PA, Tsuchiya K, Hassan M, Frigola G, Martin JG: Ltd(4) induces hb-egf-dependent cxcl8 release through egfr activation in human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010;299:L808-815.
- 295 Laidlaw TM, Boyce JA: Cysteinyl leukotriene receptors, old and new; implications for asthma. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1313-1320.
- 296 Kim JY, Kim JH, Park BL, Pasaje CF, Bae JS, Park JS, Jang AS, Uh ST, Kim YH, Kim MK, Choi IS, Cho SH, Choi BW, Park CS, Shin HD: Association analysis between filip1 polymorphisms and aspirin hypersensitivity in korean asthmatics. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013;5:34-41.
- 297 Duroudier NP, Tulah AS, Sayers I: Leukotriene pathway genetics and pharmacogenetics in allergy. *Allergy* 2009;64:823-839.

- 298 Kim SH, Ye YM, Palikhe NS, Kim JE, Park HS: Genetic and ethnic risk factors associated with drug hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10:280-290.
- 299 Han Y, Kaeser PS, Sudhof TC, Schneggenburger R: Rim determines $ca(2)^+$ channel density and vesicle docking at the presynaptic active zone. *Neuron* 2011;69:304-316.
- 300 Weiss N, Sandoval A, Kyonaka S, Felix R, Mori Y, De Waard M: Rim1 modulates direct g-protein regulation of $ca(v)2.2$ channels. *Pflugers Arch* 2011;461:447-459.
- 301 Hui Y, Funk CD: Cysteinyl leukotriene receptors. *Biochem Pharmacol* 2002;64:1549-1557.
- 302 Thompson MD, Takasaki J, Capra V, Rovati GE, Siminovitch KA, Burnham WM, Hudson TJ, Bosse Y, Cole DE: G-protein-coupled receptors and asthma endophenotypes: The cysteinyl leukotriene system in perspective. *Mol Diagn Ther* 2006;10:353-366.
- 303 Fujishima H, Sanchez Mejia RO, Bingham CO, 3rd, Lam BK, Sapirstein A, Bonventre JV, Austen KF, Arm JP: Cytosolic phospholipase a_2 is essential for both the immediate and the delayed phases of eicosanoid generation in mouse bone marrow-derived mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:4803-4807.
- 304 Franco R, Pacheco R, Lluís C, Ahern GP, O'Connell PJ: The emergence of neurotransmitters as immune modulators. *Trends Immunol* 2007;28:400-407.
- 305 Mikami N, Fukada S, Yamamoto H, Tsujikawa K: Neuronal derivative mediators that regulate cutaneous inflammations. *Crit Rev Immunol* 2012;32:307-320.
- 306 Chabardes D, Imbert-Teboul M, Elalouf JM: Functional properties of ca^{2+} -inhibitable type 5 and type 6 adenylyl cyclases and role of ca^{2+} increase in the inhibition of intracellular camp content. *Cell Signal* 1999;11:651-663.
- 307 Wymann MP, Schneiter R: Lipid signalling in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:162-176.
- 308 Serra-Pages M, Olivera A, Torres R, Picado C, de Mora F, Rivera J: E-prostanoid 2 receptors dampen mast cell degranulation via camp/pka-mediated suppression of ige-dependent signaling. *J Leukoc Biol* 2012;92:1155-1165.
- 309 Weston MC, Peachell PT: Regulation of human mast cell and basophil function by camp. *Gen Pharmacol* 1998;31:715-719.
- 310 Piazzon N, Maisonneuve C, Guilleret I, Rotman S, Constam DB: Bicc1 links the regulation of camp signaling in polycystic kidneys to microRNA-induced gene silencing. *J Mol Cell Biol* 2012;4:398-408.
- 311 Wakoh T, Uekawa N, Terauchi K, Sugimoto M, Ishigami A, Shimada J, Maruyama M: Implication of p53-dependent cellular senescence related gene, tarsh in tumor suppression. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;380:807-812.
- 312 Kopp E, Ghosh S: Inhibition of nf-kappa b by sodium salicylate and aspirin. *Science* 1994;265:956-959.
- 313 Stark LA, Din FV, Zwacka RM, Dunlop MG: Aspirin-induced activation of the nf-kappab signaling pathway: A novel mechanism for aspirin-mediated apoptosis in colon cancer cells. *FASEB J* 2001;15:1273-1275.
- 314 Alfonso LF, Srivenugopal KS, Arumugam TV, Abbruscato TJ, Weidanz JA, Bhat GJ: Aspirin inhibits camptothecin-induced p21cip1 levels and potentiates apoptosis in human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2009;34:597-608.
- 315 Krejci L, Altmannova V, Spirek M, Zhao X: Homologous recombination and its regulation. *Nucleic Acids Res* 2012;40:5795-5818.
- 316 Klein HL: The consequences of rad51 overexpression for normal and tumor cells. *DNA Repair (Amst)* 2008;7:686-693.
- 317 Fornander LH, Frykholm K, Reymer A, Renodon-Corniere A, Takahashi M, Norden B: Ca^{2+} improves organization of single-stranded DNA bases in human rad51 filament, explaining stimulatory effect on gene recombination. *Nucleic Acids Res* 2012;40:4904-4913.
- 318 Hirose K, Inukai T, Kikuchi J, Furukawa Y, Ikawa T, Kawamoto H, Oram SH, Gottgens B, Kiyokawa N, Miyagawa Y, Okita H, Akahane K, Zhang X, Kuroda I, Honna H, Kagami K, Goi K,

- Kurosawa H, Look AT, Matsui H, Inaba T, Sugita K: Aberrant induction of Irf2 by the e2a-hlf chimeric transcription factor and its implication in leukemogenesis of b-precursor all with t(17;19). *Blood* 2010;116:962-970.
- 319 Gachon F, Olela FF, Schaad O, Descombes P, Schibler U: The circadian par-domain basic leucine zipper transcription factors dbp, tef, and hlf modulate basal and inducible xenobiotic detoxification. *Cell Metab* 2006;4:25-36.
- 320 Xie G, Wong CC, Cheng KW, Huang L, Constantinides PP, Rigas B: Regioselective oxidation of phospho-nsaids by human cytochrome p450 and flavin monooxygenase isoforms: Implications for their pharmacokinetic properties and safety. *Br J Pharmacol* 2012;167:222-232.
- 321 Zhu Y, Zhang QY: Role of intestinal cytochrome p450 enzymes in diclofenac-induced toxicity in the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 2012;343:362-370.
- 322 Yang J, Dong H, Hammock BD: Profiling the regulatory lipids: Another systemic way to unveil the biological mystery. *Curr Opin Lipidol* 2011;22:197-203.
- 323 Chiappara G, Chanez P, Bruno A, Pace E, Pompeo F, Bousquet J, Bonsignore G, Gjomarkaj M: Variable p-creb expression depicts different asthma phenotypes. *Allergy* 2007;62:787-794.
- 324 Agrawal B, Krantz MJ, Parker J, Longenecker BM: Expression of muc1 mucin on activated human t cells: Implications for a role of muc1 in normal immune regulation. *Cancer Res* 1998;58:4079-4081.
- 325 Cloosen S, Thio M, Vanclee A, van Leeuwen EB, Senden-Gijsbers BL, Oving EB, Germeaad WT, Bos GM: Mucin-1 is expressed on dendritic cells, both in vitro and in vivo. *Int Immunol* 2004;16:1561-1571.
- 326 Leong CF, Raudhawati O, Cheong SK, Sivagengei K, Noor Hamidah H: Epithelial membrane antigen (ema) or muc1 expression in monocytes and monoblasts. *Pathology* 2003;35:422-427.
- 327 Wei X, Xu H, Kufe D: Human muc1 oncoprotein regulates p53-responsive gene transcription in the genotoxic stress response. *Cancer Cell* 2005;7:167-178.
- 328 Rahn JJ, Shen Q, Mah BK, Hugh JC: Muc1 initiates a calcium signal after ligation by intercellular adhesion molecule-1. *J Biol Chem* 2004;279:29386-29390.
- 329 Zhao J, Wei J, Mialki RK, Mallampalli DF, Chen BB, Coon T, Zou C, Mallampalli RK, Zhao Y: F-box protein fbxl19-mediated ubiquitination and degradation of the receptor for il-33 limits pulmonary inflammation. *Nat Immunol* 2012;13:651-658.
- 330 Cirulli ET, Goldstein DB: Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing. *Nat Rev Genet* 2010;11:415-425.
- 331 Spencer C, Hechter E, Vukcevic D, Donnelly P: Quantifying the underestimation of relative risks from genome-wide association studies. *PLoS Genet* 2011;7:e1001337.
- 332 Iniesta R, Guino E, Moreno V: [statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies]. *Gac Sanit* 2005;19:333-341.
- 333 Mikhail FM: Copy number variations and human genetic disease. *Curr Opin Pediatr* 2014;26:646-652.
- 334 Feuk L, Carson AR, Scherer SW: Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* 2006;7:85-97.
- 335 Hurles ME, Dermitzakis ET, Tyler-Smith C: The functional impact of structural variation in humans. *Trends Genet* 2008;24:238-245.
- 336 Zhang F, Gu W, Hurles ME, Lupski JR: Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2009;10:451-481.
- 337 Fanciulli M, Petretto E, Aitman TJ: Gene copy number variation and common human disease. *Clin Genet* 2010;77:201-213.
- 338 MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW: The database of genomic variants: A curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D986-992.

- 339 Riggs ER, Jackson L, Miller DT, Van Vooren S: Phenotypic information in genomic variant databases enhances clinical care and research: The international standards for cytogenomic arrays consortium experience. *Hum Mutat* 2012;33:787-796.
- 340 Firth HV, Richards SM, Bevan AP, Clayton S, Corpas M, Rajan D, Van Vooren S, Moreau Y, Pettett RM, Carter NP: Decipher: Database of chromosomal imbalance and phenotype in humans using ensembl resources. *Am J Hum Genet* 2009;84:524-533.
- 341 Feenstra I, Fang J, Koolen DA, Siezen A, Evans C, Winter RM, Lees MM, Riegel M, de Vries BB, Van Ravenswaaij CM, Schinzel A: European cytogeneticists association register of unbalanced chromosome aberrations (ecaruca); an online database for rare chromosome abnormalities. *Eur J Med Genet* 2006;49:279-291.
- 342 Cordell HJ, Clayton DG: Genetic association studies. *Lancet* 2005;366:1121-1131.
- 343 Gonzalez JR, Armengol L, Sole X, Guino E, Mercader JM, Estivill X, Moreno V: Snpassoc: An R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics* 2007;23:644-645.
- 344 Avery CL, He Q, North KE, Ambite JL, Boerwinkle E, Fornage M, Hindorff LA, Kooperberg C, Meigs JB, Pankow JS, Pendergrass SA, Psaty BM, Ritchie MD, Rotter JI, Taylor KD, Wilkens LR, Heiss G, Lin DY: A phenomics-based strategy identifies loci on *apoc1*, *brap*, and *plcg1* associated with metabolic syndrome phenotype domains. *PLoS Genet* 2011;7:e1002322.
- 345 Berridge MJ, Irvine RF: Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* 1984;312:315-321.
- 346 Marchler-Bauer A, Derbyshire MK, Gonzales NR, Lu S, Chitsaz F, Geer LY, Geer RC, He J, Gwadz M, Hurwitz DI, Lanczycki CJ, Lu F, Marchler GH, Song JS, Thanki N, Wang Z, Yamashita RA, Zhang D, Zheng C, Bryant SH: Cdd: Ncbi's conserved domain database. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D222-226.
- 347 Hu X, Kim H, Raj T, Brennan PJ, Trynka G, Teslovich N, Slowikowski K, Chen WM, Onengut S, Baecher-Allan C, De Jager PL, Rich SS, Stranger BE, Brenner MB, Raychaudhuri S: Regulation of gene expression in autoimmune disease loci and the genetic basis of proliferation in *cd4+* effector memory t cells. *PLoS Genet* 2014;10:e1004404.
- 348 Ragnedda G, Disanto G, Giovannoni G, Ebers GC, Sotgiu S, Ramagopalan SV: Protein-protein interaction analysis highlights additional loci of interest for multiple sclerosis. *PLoS One* 2012;7:e46730.
- 349 Chung PY, Beyens G, Riches PL, Van Wesenbeeck L, de Freitas F, Jennes K, Daroszewska A, Fransen E, Boonen S, Geusens P, Vanhoenacker F, Verbruggen L, Van Offel J, Goemaere S, Zmierzak HG, Westhovens R, Karperien M, Papapoulos S, Ralston SH, Devogelaer JP, Van Hul W: Genetic variation in the *tnfrsf11a* gene encoding rank is associated with susceptibility to paget's disease of bone. *J Bone Miner Res* 2010;25:2592-2605.