



## ALTERACIONES DE LAS MICROVELLOSIDADES DEL EPITELIO COLÓNICO EN LA COLITIS MICROSCÓPICA: UN ANÁLISIS INTEGRADO DE MULTIÓMICA Y ULTRAESTRUCTURA

Danila Guagnozzi<sup>1,2,3</sup>, Ana Maria González-Castro<sup>4</sup>, Fernando Fernández- Bañares<sup>3,5</sup>, Andreas Münch<sup>6</sup>, Yamile Zabana<sup>3,5</sup>, Eva Tristan<sup>5</sup>, Juan-José Lozano<sup>7</sup>, Julia Sidorova<sup>7</sup>, Beatriz Lobo<sup>2,4</sup>, Carmen Alonso<sup>2,3,4</sup>, Elba Esposito<sup>1</sup>, Anna Viñals<sup>1,4</sup>, Alfredo Lucendo<sup>3,8</sup>, Fernando Azpiroz<sup>3,4,9</sup>, Stefania Landolfi<sup>9</sup>, Marc Pigrau<sup>10</sup>, Ana Benages<sup>10</sup>, Ronald Llerena-Castro<sup>2</sup>, Joan Dot<sup>10</sup>, Javier Santos<sup>2,3,4</sup> y Maria Vicario<sup>1,11</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología Translacional de Mucosas, Unidad de investigación en enfermedades digestivas, Instituto de investigación del Vall d'Hebron, Barcelona. <sup>2</sup>Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona. <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER-EHD). <sup>4</sup>Laboratorio de Neuro-inmuno-gastroenterología, Unidad de investigación en enfermedades digestivas, Instituto de investigación del Vall d'Hebron, Barcelona. <sup>5</sup>Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Mutua Terrassa. <sup>6</sup>Servicio de Aparato Digestivo, Hospital de Linköping, Suecia. <sup>7</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). <sup>8</sup>Servicio de Aparato Digestivo, Hospital General de Tomelloso. <sup>9</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>10</sup>Servicio de Endoscopia Digestiva, Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>11</sup>Société Des Produits Nestlé S.A., Nestlé Research, Department of Gastrointestinal Health, Lausanne, Suiza.

### Resumen

**Introducción:** La colitis microscópica (CM), que incluye la colitis colágena (CC) y la colitis linfocítica (CL), representa una enfermedad inflamatoria crónica del colon de etiología aún desconocida. Previamente se ha identificado un defecto de la barrera epitelial colónica, aunque se desconocen los mecanismos moleculares subyacentes. Por lo tanto, el objetivo de este estudio ha sido analizar la ultraestructura y las proteínas que constituyen las microvellosidades del epitelio colónico en estos pacientes.

**Métodos:** Se obtuvieron biopsias de la mucosa colónica en pacientes con CC, CL y en dos grupos control (sujetos sanos y pacientes con síndrome del intestino irritable con predominio de diarrea (SII-D)). Se realizó un análisis de transcriptoma (RNASeq) y proteoma (espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida) en pareado (n = 24 CM (12CC, n = 12CL), n = 13SII-D y n = 11 sanos) y el recuento del número y de la longitud (mm) de microvilli por colonocito en la región superior de la cripta colónica mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) (n = 14CC (n = 6 antes y después del tratamiento con budesonida oral de inducción en pareado), n = 8CL, n = 8 sanos y n = 8SII-D). Se realizó un análisis de datos integrado para explorar funciones biológicas y moleculares utilizando R.

**Resultados:** El análisis multiómico integrado identificó 28 genes vinculados con la estructura de las microvellosidades con una correlación positiva significativa con su correspondiente expresión proteica. Se observó una expresión reducida de las proteínas del complejo de adhesión entre

microvilli (CDHR5, USH1C y ANKS4B) y de las proteínas agrupadoras de actina (VIL1 y PSL1), en los pacientes con CC en comparación con CL y grupos control. Además, se observó expresión reducida de proteínas de MYO1A y MYO1D y mayor expresión de MYO1F tanto en CC como en CL en comparación a los grupos control, asociada también a una alteración de las proteínas que constituyen la red terminal. Mediante MET se identificó la reducción significativa del número de microvilli en la CM (5,5 [3,9-6,6] microvilli/um) respecto a los sujetos sanos (7,3 [6,3-8,1] microvilli/um,  $p = 0,0006$ ) y SII-D (7,5 [6,3-8,5] microvilli/um,  $p = 0,008$ ). Asimismo, se identificó una reducción de la longitud de microvilli en la CM (0,1 [0,4-1,1] um) comparado con sanos (1,1 [1,0-1,4],  $p = 0,02$ ) y SII-D (1,2 [0,1-1,6],  $p = 0,06$ ). El tratamiento con budesonida oral en el grupo CC aumentó el número y la longitud de microvilli ( $p = 0,03$  y  $p = 0,06$ , respectivamente).

**Conclusiones:** Por la primera vez, se ha demostrado en los pacientes con CM una alteración de las microvellosidades y del epitelio colónico tanto a nivel molecular como ultraestructural que revierte a nivel ultraestructural con tratamiento con budesonida oral. Dado el papel fundamental de las microvellosidades en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, es necesario conocer en profundidad sus mecanismos de regulación por las posibles implicaciones diagnósticas y terapéuticas en la CM.