



## EDITORIAL

# Nuevos conocimientos en genética y enfermedad inflamatoria intestinal. ¿alguna utilidad práctica?

## New knowledge in genetics and inflammatory bowel disease. are there any practical applications?

### Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EI) crónica, que comprende la enfermedad de Crohn (EC), la colitis ulcerosa (CU) y la colitis inclasificable (CI), es un trastorno crónico del tracto gastrointestinal resultado de la interacción de factores genéticos, epigenéticos y ambientales. La teoría más aceptada en la actualidad es que el proceso inflamatorio surge como resultado de una activación inadecuada y perpetuada del sistema inmune de la mucosa intestinal, desencadenada por un factor intraluminal, posiblemente un componente de la propia flora intestinal, que acontece en un sujeto genéticamente predisposto<sup>1-3</sup>.

Los estudios poblacionales han demostrado, desde hace varias décadas, que el factor genético contribuye en la patogenia de la EI. Estos estudios comprobaron una elevada agregación familiar en la enfermedad; el riesgo de padecer EC o CU en familiares afectos está aumentado de 8 a 10 veces<sup>4</sup>. También es sobradamente conocido que la población judía Ashenazi tiene más riesgo de padecer la enfermedad<sup>5</sup> y que existe una concordancia importante entre gemelos<sup>6</sup>. Esta concordancia es mayor para los gemelos monocigotos con EC (>30,3%) que para los gemelos dicigotos (3,6-7%). En la CU el grado de concordancia es menor, tanto en gemelos monocigotos como dicigotos (10-15,4% y >3%, respectivamente), lo que sugiere una menor influencia de los factores genéticos para el desarrollo de esta enfermedad<sup>6</sup>.

Desde que en 1997 se iniciaron los esfuerzos colaborativos internacionales para el mejor conocimiento de la susceptibilidad genética en la EI hasta la actualidad se han identificado más de 100 loci de riesgo en los cromosomas, aunque solo se han explorado el 25% de las variantes genéticas asociadas a estos loci. En el año 2003 el conocimiento del genoma humano completo hace posible el análisis de factores genéticos y polimorfismos de nucleótido único (SNP) en grandes poblaciones. Estos estudios genéticos,

altamente completos, realizados con análisis bioinformáticos sofisticados, son los denominados «*genome-wide association studies*» (GWAS) o estudios genéticos de asociación, que han permitido conocer un número cada vez mayor de genes asociados a la EI y profundizar en aspectos de su naturaleza poligénica y de su patogenia.

### Factores genéticos en la enfermedad inflamatoria intestinal

En la literatura se han descrito diferentes factores genéticos que influyen en el desarrollo y gravedad de la EI y se asocian a una mayor susceptibilidad para padecer la enfermedad. En los últimos años se han analizado diversas regiones de susceptibilidad localizadas en diferentes cromosomas, con varios grados de reproducibilidad y de replicación, pero ninguna de ellas ha sido detectada de forma constante en todos los estudios<sup>7</sup>. En la EC, tras la descripción del primer gen de susceptibilidad, el NOD2<sup>8,9</sup>, se han identificado numerosos genes mediante GWAS. A partir de estos resultados también se han estudiado cohortes de pacientes con CU.

Hasta la fecha, se han encontrado más de 60 regiones (loci) de susceptibilidad para la EI, de las cuales más de una tercera parte están asociadas tanto a la CU como a la EC (IL23R, IL18RAP, IL12/p40, JAK2 y STAT3 entre otras); 21 son específicas de la CU (IL10, IL22, IL26, IFN- $\gamma$ , etc.) y 23 de la EC (NOD2, GCKR, ATG16L1, etc.)<sup>10</sup>. Gracias a los GWAS se han podido analizar miles de SNP, con datos relevantes que permiten profundizar en nuevos mecanismos patogénicos y potenciales dianas terapéuticas.

Estudios recientes destacan como mecanismos patogénicos más importantes la integridad de la barrera mucosa, el reconocimiento de receptores que interactúan en la respuesta inmune innata, la autofagia y la respuesta Th17/IL23<sup>11,12</sup>.

## Factores genéticos en la colitis ulcerosa

Los GWAS han mostrado 18 regiones de susceptibilidad genética relacionadas con la CU. Un metaanálisis reciente analiza 6 GWAS con los datos de unos 6.700 pacientes con CU y unos 19.700 controles<sup>13</sup>. Identifican 29 nuevos genes de susceptibilidad para la CU y destacan los genes de IL1R2, IL8RA-IL8RB, IL7R, IL12B, DAP, PRDM1, JAK2, IRF5, GNA12 y LSP1 como importantes para esclarecer determinados aspectos de la patogenia de la enfermedad.

Se han estudiado genes implicados en la función barrera de la mucosa (ECM1, CDH1, HNF4 $\alpha$  y LAMB1) que confieren un aumento del riesgo para desarrollar CU. Se ha reportado que alteraciones en la expresión del gen de la E-cadherina, glucoproteína transmembrana y principal componente de las moléculas de adhesión celular, podrían estar implicadas en el desarrollo de displasia y de cáncer colorrectal (CCR) en los pacientes con CU<sup>10,14,15</sup>. Desde que Schreiber et al. en 1995 describieron la existencia de defectos en la vía de señalización de la IL10 en las células mononucleares de la lámina propia de pacientes con CU<sup>16</sup>, se han publicado numerosos estudios basados en el papel de la IL10 en la regulación de la inflamación colónica y en la patogenia de la enfermedad<sup>17-19</sup>. La alteración en la vía de señalización de la IL10 ha resurgido como una vía clave en la inflamación intestinal y es quizás una de las más susceptibles de intervención terapéutica en la CU<sup>10,20,21</sup>.

## Factores genéticos en la enfermedad de Crohn

El primero de los genes implicados en la EC y el más estudiado como se comentó previamente, ha sido el gen NOD2/CARD15, localizado en el cromosoma 16 (16q2) e implicado en la respuesta inmune innata frente a las bacterias<sup>8</sup>. Aunque se han identificado 30 polimorfismos en el gen NOD2, solo 3 se asocian de forma más frecuente a la EC en la población caucásica (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007insC) representando más del 80% de los alelos mutados<sup>9,22</sup>. El gen NOD2/CARD15 se expresa en las células presentadoras de antígenos, macrófagos y linfocitos así como en las células epiteliales, fibroblastos y células de Paneth. Es un gen implicado en la respuesta inmune innata frente a las bacterias, porque codifica una proteína que interviene en el reconocimiento de los lipopolisacáridos bacterianos actuando como receptor intracelular de componentes bacterianos. Esta proteína está implicada en el reconocimiento del muramilo dipéptido, dipéptido derivado de la mureína del peptidoglicano de bacterias gramnegativas y positivas. La interacción del muramilo con la proteína NOD2 activa la ruta de señalización del factor de transcripción nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) y regula la apoptosis<sup>23</sup>.

Los estudios iniciales observaron que las mutaciones en el gen NOD2/CARD15 se asociaban con diferentes factores de la EC como la localización, la posibilidad de desarrollar patrones más agresivos de evolución (estenosantes-fistulizantes), la necesidad de cirugía, así como con la respuesta al tratamiento<sup>24-26</sup>. Estos estudios resaltaron el hecho de que este gen de susceptibilidad justificaba solamente un 20% de la predisposición genética a padecer EC y que no se asociaba con un incremento de susceptibilidad para la CU<sup>8,9</sup>. En la población europea el riesgo de EC aumenta más de 17 veces

cuando el sujeto es homocigoto para la mutación NOD2<sup>27</sup>, sin embargo esto no ocurre en otras áreas geográficas como en Asia y en África subsahariana<sup>28-30</sup>.

El metaanálisis recientemente publicado de los 6 primeros GWAS en la EC analiza los datos de más de 6.300 casos y 15.000 controles e identifica 30 nuevos genes de susceptibilidad que incluyen SMAD3, ERAP2, IL-10, IL-2RA, TYK2, FUT2, DNMT3A, DENND1B, BACH2 y TAGAP<sup>31</sup>. Estos datos, junto con los previamente descritos y confirmados, identifican 71 loci distintos asociados a la enfermedad.

## Genes que regulan la autofagia

La autofagia o autodigestión celular es un proceso de eliminación y regeneración celular fundamental que permite eliminar determinadas proteínas y orgánulos<sup>32</sup>. Se ha relacionado con la proliferación y diferenciación celular, la respuesta inmune frente a patógenos e incluso, recientemente, se ha propuesto como una herramienta que deja a la célula obtener energía permitiendo su supervivencia en condiciones adversas. La autofagia aumenta la supervivencia celular en estados de deprivación de nutrientes o de factores de crecimiento y de estrés citoplasmático. Es importante en el mantenimiento de la homeostasis de las células T de la respuesta inmune, claves del establecimiento de la tolerancia de la barrera mucosa intestinal. Las interrelaciones entre la autofagia, que funciona primariamente como mecanismo de supervivencia celular, y la apoptosis, que es una ruta que conduce inevitablemente a la muerte celular, son complejas. Los 2 mecanismos son regulados por factores comunes, comparten componentes e interactúan entre sí. Muchas señales de activación de apoptosis inducen también autofagia y existen señales que inhiben ambos procesos. Hasta ahora los intrincados mecanismos moleculares entre ambos están por dilucidar.

En lo referente a los genes que regulan la autofagia en la EC, recientemente, se ha asociado un gen que codifica para una proteína implicada en la autofagia ATG16L1 (*Autophagy 16-like 1*)<sup>33</sup>. Esta proteína se expresa en las células de Paneth del intestino delgado, donde se produce la exocitosis o eliminación de los gránulos de secreción que contienen péptidos antimicrobianos<sup>34</sup>. La sustitución Thr300Ala en ATG16L1 ha sido asociada con la EC. Estudios experimentales demuestran que esta alteración se relaciona con una anormal respuesta de las células de Paneth frente a patógenos, una respuesta exagerada frente a agresiones y un aumento de la susceptibilidad de lesiones ileales<sup>35</sup>. En este sentido se ha demostrado un vínculo funcional entre NOD2 y ATG16L1, proteínas de inducción de autofagia, codificadas por genes que aumentan el riesgo de EC<sup>36,37</sup>. Los GWAS han relacionado a la EC con otros genes codificantes de proteínas reguladoras de la autofagia como la IRGM (trifosfatasa guanosina relacionada con la inmunidad) y la LRRK2 (kinasa rica en leucina)<sup>38-40</sup>. Ciertos polimorfismos del gen IRGM se han relacionado simultáneamente con la reducción de la expresión de este gen y con la EC<sup>41</sup>. Se ha visto que la alteración de la LRRK2, localizada en 12q12, que también se ha relacionado con la enfermedad de Parkinson, provoca en la célula un deterioro de la vía de degradación de proteínas y un incremento de la apoptosis, la respuesta inflamatoria y el daño oxidativo<sup>42,43</sup>.

## Genes implicados en la respuesta Th17/IL-23

Los GWAS han establecido una fuerte correlación entre los genes que regulan la vía de la IL23 y el desarrollo de la EC<sup>44</sup>. Entre los múltiples genes que se encuentran involucrados en la señalización IL23/Th17 se encuentran el receptor de IL23, IL12B, JAK2, Tyk2 y STAT3<sup>12</sup>. La variante asociada de forma más significativa con la EC, después del NOD, codifica el cambio de Arg381Gln en el gen del receptor de la IL23, localizado en el cromosoma 1p31. La glutamina 381, presente hasta en un 14% de la población sana, protege frente a la EI, reduce 3 veces el riesgo de EC ileal y un poco menos en la CU. Este polimorfismo en el receptor de IL23 se ha asociado también con la psoriasis<sup>45</sup> y la espondilitis anquilosante<sup>46</sup>. En este sentido, recientemente se ha aprobado para el tratamiento de la psoriasis el uso de anticuerpos contra la IL23 y la IL12B (subunidad p40)<sup>47</sup>. El uso de estos anticuerpos ha mostrado en estudios preliminares su potencial utilidad para el tratamiento de la EC<sup>48</sup>.

Toda esta ingente información genética, tanto en la EC como en la CU, sugiere la existencia de una gran heterogeneidad; la EI es una enfermedad poligénica complejísima en la que actúan otros factores no genéticos pero que a su vez son factores reguladores de genes. Así, la EI surgiría del resultado de una interacción entre estímulos ambientales (tabaco, infecciones, componentes de la dieta), genes de susceptibilidad (que predisponen al desarrollo de inflamación intestinal) y genes modificadores (que afectan al fenotipo de la enfermedad en sujetos susceptibles).

## Epigenética y enfermedad inflamatoria intestinal

La evidencia científica demuestra una asociación entre patologías como el cáncer y las enfermedades inflamatorias crónicas y los mecanismos de regulación de genes, con especial interés en los mecanismos epigenéticos. En biología se utiliza el término epigenética para referirse al estudio de las interacciones producidas entre los genes y el ambiente en un organismo. Aunque las bases moleculares de la epigenética son complejas, en síntesis su objetivo principal es modular la expresión o actuación de ciertos genes sin alterar la secuencia básica de ADN. Estos cambios pueden permanecer durante la división celular, a lo largo de la vida de la célula y transmitirse a múltiples generaciones<sup>49</sup>. Aunque no se producen cambios sobre la secuencia de ADN del organismo, los factores no genéticos hacen que los genes se comporten de distinta forma y se expresen de forma diferente<sup>50-52</sup>. La metilación del ADN y la modificación de histonas son los 2 mecanismos epigenéticos más representativos y estudiados. Sin embargo, hay otros mecanismos que pueden provocar modificaciones genéticas a nivel postranscripcional como el *splicing* alternativo de ARNm y los microARN, una nueva clase de reguladores de la función de los genes de reciente descubrimiento.

## Concepto e importancia del microARN

Los microARN (miARN) son unas pequeñas moléculas de ARN monocatenario (de 18-25 nucleótidos), no codificantes,

capaces de modular la expresión génica a nivel posttranscripcional, inhibiendo la traducción a proteínas mediante su unión a la región 3'UTR del ARNm y provocando la degradación del ARNm o la inhibición de la transducción<sup>53</sup>.

La primera vez que fueron descritas estas moléculas fue en 1993, por Ambros et al., quienes descubrieron que un miARN, lin-4, actuaba en el control del desarrollo de *Caenorhabditis elegans*<sup>54</sup>. El primer estudio donde se descubrieron anormalidades en la expresión del miARN en seres humanos fue en el año 2002 en pacientes afectos de leucemia linfocítica crónica de células B (LLC-B). Se documentó una regulación a la baja y delecciones frecuentes del miR-15 y miR-16 en pacientes con LLC-B<sup>55</sup>. Desde el descubrimiento de los miARN, el número de publicaciones acerca de la biogénesis y funciones de los mismos ha aumentado exponencialmente. Actualmente, la base de datos de secuencias de miARN (miRBase) incluye más de 8.000 miARN conocidos en numerosas especies de plantas, animales y virus<sup>56</sup>. Solo en seres humanos, hasta septiembre de 2010 miRBase tiene documentados más de 1.000 miARN, lo que implicaría que el miARN puede representar un mínimo del 3% de todos los genes humanos y que regularía la expresión de aproximadamente el 30% de los genes que se transcriben<sup>57</sup>. Además cada miARN es capaz de regular a múltiples genes (aproximadamente unos 200), así como cada ARNm puede ser regulado por diferentes miARN<sup>58</sup>.

Los estudios iniciales realizados en cáncer han evidenciado que los patrones de expresión de miARN vistos en el suero eran diferentes a los observados a partir del miARN tomado directamente de los tejidos. Este resultado apunta hacia un posible mecanismo de liberación del miARN de los tejidos a la circulación<sup>59</sup>. Los miARN se han hallado además de en tejidos, suero y plasma, en otros fluidos corporales (orina, lágrimas, líquido ascítico y amniótico) en una forma estable, gracias a la incorporación a un complejo ribonucleoproteico conocido como *RNA-induced silencing complex* (RISC). Esto les permite circular libres en la sangre o en exosomas y estar protegidos frente a la actividad endógena RNasa<sup>59</sup>. Por esta razón, los miARN son resistentes a condiciones adversas y actualmente se están empezando a utilizar como marcadores biológicos en diferentes patologías como el cáncer, las enfermedades autoinmunes o la inflamación. Existe una buena concordancia entre los niveles de miARN en suero y plasma, lo que facilita su utilización como biomarcadores obtenidos a partir de la sangre periférica<sup>60</sup>.

El primer miARN descubierto como un biomarcador sérico fue en pacientes con linfoma difuso de células B grandes, donde el miR-21 estaba elevado y su incremento se asociaba con aumento de la supervivencia libre de recaída<sup>61</sup>. En pacientes con CCR se conoce que el miR-92 puede ser un buen biomarcador no invasivo para su detección precoz, pues se han identificado niveles significativamente elevados en el plasma de los pacientes con CCR. Además, el miR-92 no está asociado con la inflamación crónica del intestino o con otros tipos de cáncer gastrointestinal, con una sensibilidad del 89% y especificidad del 70% en la discriminación de CCR de sujetos sanos, ofreciendo mejores resultados que otros biomarcadores no invasivos tales como la prueba de sangre oculta en heces<sup>62</sup>.

## Inflamación, autoinmunidad y microARN

Aunque la mayor parte de los estudios realizados con miARN han sido en cáncer, trabajos recientes han demostrado que los miARN juegan un papel importante en la regulación de la inflamación crónica. La regulación génica mediada por miARN está implicada en procesos celulares normales como el ciclo celular, la diferenciación, la proliferación y la apoptosis, así como en diferentes funciones inmunes. Se ha demostrado que cambios en la expresión del miARN actúan sobre la respuesta inflamatoria en seres humanos y que la sobreexpresión y/o la inhibición de estas moléculas regulan la liberación de muchas citoquinas inflamatorias. Distintos miARN como miR-132, miR-146a y miR-155 pueden ser regulados por mediadores inflamatorios (NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ), componentes microbianos (lipopolisacáridos y flagelina) y por una gran variedad de ligandos de los receptores Toll-like (TLR), dando lugar a la expansión y desarrollo de granulocitos/monocitos durante la inflamación<sup>63,64</sup>. Otro ejemplo lo constituye miR-9 que puede ser inducido por agonistas del TLR-2 y TLR7/8 y por las citoquinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , pero no por el IFN- $\gamma$ <sup>65</sup>.

Desde el descubrimiento de los miARN, numerosos y recientes trabajos han revelado que estas moléculas ejercen un importante papel en la patogenia de las enfermedades de tipo autoinmune (EAI)<sup>66-69</sup>. Los miARN están involucrados en el desarrollo y maduración de las células inmunes así como en el control de sus funciones, lo cual sugiere que estas moléculas podrían estar implicadas en el desarrollo de la inflamación y de las EAI<sup>67</sup>. Recientemente se ha observado que, algunos miARN como miR-155, miR-146, miR-181a, miR-17-92 o miR-223, participan en el control del desarrollo del sistema inmune innato y adquirido, en la regulación de la maduración y funciones de las células que participan en el mismo y en la respuesta inflamatoria<sup>64,68,70</sup>. Además, diferentes EAI como la artritis reumatoide (AR), el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de Sjögren, la esclerosis múltiple (EM), la púrpura trombocitopénica idiopática, la psoriasis (PS) o la EII, se han asociado con diferentes patrones de expresión de miARNs<sup>67-71</sup>.

En este sentido, se ha descrito un incremento significativo de los niveles de miR-203 y miR-146 en los queratinocitos de las lesiones cutáneas de pacientes con PS al comparar con sujetos sanos y con eczema atópico, sugiriendo que ambos miARN desempeñan un papel importante en la patogenia de esta enfermedad. Indican la existencia de una posible asociación entre el miR-203 y una disfunción de queratinocitos en la PS a través de la regulación de SOCS-3 (*suppressor of cytokine signalling-3*). En las lesiones de la PS, miR-203 suprime a SOCS-3 conduciendo a una constante activación de STAT3 lo que desencadena una infiltración de células inmunes<sup>69</sup>. Otro estudio realizado en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con AR ha observado un incremento de la expresión de miR-146a, miR-155, miR-132 y miR-16 en estas células, mientras que la expresión de let-7a era similar a la que presentaban los sujetos sanos. Mostraron además que la expresión de miR-146a y miR-16 se correlacionaba con el grado de actividad de la enfermedad<sup>68,69</sup>. Del mismo modo, estudios realizados en pacientes con EM revelan diferentes patrones de expresión de miR-18b, miR-599 y miR-96 al comparar con sujetos control sanos. Investigaciones recientes llevadas a cabo en

ratones identificaron que miR-326 se encontraba sobreexpresado en pacientes con EM y que estos niveles se podían relacionar con el grado de severidad de la enfermedad<sup>70</sup>. Todos estos estudios demuestran que la expresión de los miARN participa en la patogenia de las EAI y la posible utilidad de estas moléculas como marcadores diagnósticos y pronósticos de enfermedad.

## Enfermedad inflamatoria intestinal y microARN

Actualmente existen pocos estudios y revisiones que analizan patrones de expresión de miARN en pacientes con EII<sup>72-78</sup>. El primer estudio en CU donde el miARN fue directamente examinado en la mucosa de estos pacientes fue realizado por Wu et al.<sup>72</sup>. En este trabajo se analizó la expresión de miARN en pacientes con CU activa e inactiva, EC, síndrome de intestino irritable (SII), colitis infecciosa (CI) y colitis microscópica (CM), así como en sujetos sanos. Se identificó diferencias en los patrones de expresión de miARN en la mucosa de pacientes con CU en brote de actividad comparando con inactivos y sanos. Se demostró que los niveles de miR-192 estaban significativamente disminuidos en los pacientes con CU activa. Además se observó que el miR-192 se expresaba predominantemente en las células epiteliales colónicas y que regulaba la expresión del péptido inflamatorio de macrófagos 2 alfa (MIP-2 $\alpha$ ), citoquina expresada por las células epiteliales. Así pues, en las células epiteliales del colon, el TNF- $\alpha$  inducía la expresión de MIP-2 $\alpha$  provocando una reducción de la expresión de miR-192. Otros miARN analizados como miR-21, miR-375, miR-422 y miR-23a, tenían patrones de expresión distintos según el tipo de patología (SII, CI, CM, EC) y al ser comparados con tejidos de sujetos sanos. Todos estos hallazgos demuestran que cada miARN puede estar interviniendo en los diferentes aspectos de la inflamación y que además son moléculas capaces de regular la expresión de las citoquinas expresadas por las células del epitelio del colon.

Posteriormente, otro estudio realizado en mucosa de 12 pacientes con CU activa confirmó el aumento de miR-21 e identificó además un aumento del miR-155<sup>73</sup>. Otro tercer estudio también llevado a cabo en mucosa, pero esta vez en CU y en EC, identificó diferencias en los patrones de expresión de los miARN entre ambas enfermedades así como entre la mucosa inflamada y no inflamada y al compararlas con sujetos sanos control<sup>74</sup>. Todos estos datos apoyan la idea de que las alteraciones en la expresión del miARN preexisten en la mucosa no inflamada de los pacientes con EC y CU y que podrían tener un papel crucial en la sensibilización de la mucosa quiescente a factores ambientales y/o inductores de la EII (flora comensal) y en el inicio y/o recaída de la inflamación.

Recientemente el grupo de Wu F et al. ha publicado dos trabajos<sup>75,76</sup> realizados en pacientes con EC y con CU en diferentes estadios y distintos patrones de la enfermedad, uno en mucosa y otro en sangre periférica, siendo este último el primer estudio llevado a cabo en sangre periférica de pacientes con EII. En cuanto al estudio realizado en mucosa<sup>75</sup>, se identificaron diferentes regiones en el colon-intestino (recto, sigma, colon transverso, ciego e íleon terminal) con patrones de expresión específicos en cada una

**Tabla 1** Resumen de los estudios de microRNA en Enfermedad Inflamatoria Intestinal

Referencia	miARN	Expresión y enfermedad
<sup>72</sup> Mucosa	miR-16, miR-21, miR-23a, miR-24, miR-29a, miR-126, miR-195, Left-7f	↑ en CUa vs Ctr
<sup>73</sup> Mucosa	miR-192, miR-375, miR-422b	↓ en CUa vs Ctr
<sup>75</sup> Mucosa	miR-21, miR-155	↑ en CUa vs Ctr
<sup>75</sup> Mucosa	miR-23b, miR-106, miR-191	↑ en ECa colon vs Ctr
	miR-19b, miR-629	↓ en ECa colon vs Ctr
<sup>74</sup> Mucosa	miR-16, miR-21, miR-233, miR-594	↑ en ECa íleon vs Ctr
	miR-29a, miR-29b, miR-126*, miR-127-3p, miR-324-3p	↑ en CUi y CUa vs Ctr
	miR-188-5p, miR-215, miR-320a, miR-346	↓ en CUi y CUa vs Ctr
	miR-196a	↑ sólo en CUi vs Ctr
	miR-7, miR-31, miR-135b, miR-223	↑ sólo en CUa vs Ctr
	miR-26a, miR-29b, miR-30b, miR-34c-5p, miR-126*	↑ en ECa y ECi vs Ctr
	miR-127-3p, miR-133b, miR-155, miR-196a, miR-324-3p miR-21, miR-22, miR-29c, miR-31, miR-106a, miR-146a	
	miR-146b-5p, miR-150	
	miR-9*, miR-30a*, miR-30c, miR-223	↑ sólo en ECi vs Ctr
	miR-9, miR-126, miR-130a, 181c, miR-375	↑ sólo en ECa vs Ctr
	miR-29a, miR-29b, miR-30c, miR-126*	↑ en ECi y CUi vs Ctr
	miR-127-3p, miR-196a, miR-324-3p	
	miR-29a, miR-29b, miR-126*, miR-127-3p, miR-324-3p	↑ en CUa y ECa vs Ctr
	miR-150, miR-196b, miR-199a-3p, miR-199b-5p	↓ CUi vs ECi
	miR-223, miR-320a	
<sup>76</sup> Sangre	miR-199a-5p, miR-362-3p, miR-532-3p, miRplus-E1271	↑ en ECa vs Ctr
	miRplus-F1065	↓ en ECa vs Ctr
	miR-340*	↑ en ECa y ECi vs Ctr
	miR-149*	↓ en ECa y ECi vs Ctr
	miR-28-5p, miR-151-5p, miR-199a-5p, miR-340*, miRplus-E1271	↑ en CUa vs Ctr
	miRs-103-2*, miR-362-3p, miR-532-3p	↑ en CUa y CUi vs Ctr
	miR-505*	↓ en CUa y CUi vs Ctr
	miR-28-5p, miR-151-5p, miR-103-2*, miR-340*	↑ en CUa vs CDa
	miRplus-E1153, miR-532-3p, miR-149*	
	miR-505*	↓ CUa vs ECa

CUa: colitis ulcerosa activa; CUi: colitis ulcerosa inactiva; Ctr: control; ECa: enfermedad de Crohn activa; ECi: enfermedad de Crohn inactiva; miR: microARN; ↑: aumento de expresión; ↓: disminución de expresión.

de ellas y, además, se hallaron patrones de expresión distintos entre los diferentes subtipos de EC (EC de colon y EC ileal). Finalmente, se identificaron 5 miARN expresados de forma distinta en la mucosa de los pacientes con EC activa de colon al comparar con mucosa de sujetos sanos y, de igual forma, hallaron 4 miARN con aumento significativo de su expresión en la mucosa de pacientes con EC activa ileal (tabla 1).

En relación con el estudio realizado en sangre periférica<sup>76</sup>, se trata de la primera evidencia de que patrones de expresión de miARN distinguen población sana de los diferentes subtipos de EI. Observaron 7 miARN expresados de forma diferente en los pacientes con EC activa comparado con sanos, sin diferencias al hacer subgrupos de pacientes con EC (ileal y cólica). Entre los pacientes con CU activa y controles obtuvieron 9 miARN expresados de forma diferente, sin observar tampoco diferencias en los subgrupos de CU (pancolitis y colitis distal). Finalmente, encontraron 8 miARN que permiten distinguir EC activa de CU activa (7 aumentados y 1 disminuido significativamente en CU activa comparado con EC activa (tabla 1).

La evidencia que existe hasta el momento del papel de los miARN en la EI demuestra que tienen una función importante en la patogenia de la enfermedad todavía pendiente de explorar en profundidad. Existen patrones de expresión específicos para la EC y la CU, que permiten diferenciar ambas patologías y sus distintos estadios evolutivos (actividad-quiescencia).

### MicroARN en la enfermedad inflamatoria intestinal asociada a transformación neoplásica

Existe evidencia científica que vincula determinados patrones de expresión del miARN con enfermedades en las que se produce una inflamación crónica que se relaciona con el desarrollo de tumores, como es el caso de la cirrosis biliar primaria y el carcinoma hepatocelular<sup>79</sup>. Diferentes estudios demuestran que los miARN pueden actuar como oncogenes y también como genes supresores tumorales.

Es conocido que la inflamación crónica que se produce en la EII es una situación preneoplásica con elevado riesgo de degeneración. La incidencia de CCR en la EII está aumentada, siendo en el caso de la CU de 3/1.000 personas/año, 5 veces superior a la población general<sup>80</sup>. Recientemente se ha publicado un estudio que revela que los niveles elevados de miR-31 se correlacionan con la progresión de inflamación crónica a displasia y cáncer en la mucosa colónica de la EII, siendo capaz de distinguir el cáncer esporádico del asociado a la EII<sup>81</sup>. Estos hallazgos sugieren que miR-31 podría ser útil como biomarcador de detección precoz o predicción de displasia y CCR. Además han observado que miR-31 regula la expresión del factor inhibidor del FIH-1 (factor inducido por hipoxia), el cual está muy implicado en la angiogénesis y la progresión tumoral.

## Conclusiones

Las investigaciones más recientes en el campo de la genética en la EII han mejorado el conocimiento de la patogenia de la enfermedad. Los GWAS han identificado numerosos genes asociados al desarrollo de CU y EC. Estos resultados muestran la naturaleza poligénica de la EII y han permitido identificar nuevos mecanismos patogénicos que posibilitan una mejor comprensión de la fisiopatología de estas enfermedades. Sin embargo, quedan múltiples incógnitas por esclarecer y son necesarios estudios que correlacionen estos hallazgos con la predicción del curso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Actualmente se está intentando esclarecer la implicación del miARN en la patogenia de la EII para mejorar el conocimiento de la fisiopatología de esta enfermedad y obtener nuevas dianas terapéuticas. Además, es probable que estas moléculas puedan ser utilizadas como biomarcadores no invasivos obtenidos a partir de sangre periférica, para el diagnóstico de actividad de la enfermedad, la gravedad, la respuesta terapéutica y la degeneración asociada a la EII.

## Bibliografía

- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2002;347:417-29.
- Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007;448:427-34.
- Packey CD, Sartor RB. Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *J Intern Med*. 2008;263:597-606.
- Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen TI, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 1991;324:84-8.
- Lowe AM, Roy PO, B-Poulin M, Michel P, Bitton A, St-Onge L, et al. Epidemiology of Crohn's disease in Québec, Canada. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:429-35.
- Brant SR. Update on the heritability of inflammatory bowel disease: the importance of twin studies. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17:1-5.
- Ahmad T, Tamboli CP, Jewell D, Colombel JF. Clinical relevance of advances in genetics and pharmacogenetics of IBD. *Gastroenterology*. 2004;126:1533-49.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaïche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:599-603.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:603-6.
- Thompson Al, Lees CW. Genetics of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17:831-48.
- Cho JH, Brant SR. Recent insights into the genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011;140:1704-12.
- Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut*. 2011.
- Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*. 2011;43:246-52.
- Karayannakis AJ, Syrigos KN, Efstathiou J, Valizadeh A, Noda M, Playford RJ, et al. Expression of catenins and E-cadherin during epithelial restitution in inflammatory bowel disease. *J Pathol*. 1998;185:413-8.
- Azarschab P, Porschen R, Gregor M, Blin N, Holzmann K. Epigenetic control of the E-cadherin gene (CDH1) by CpG methylation in colectomy samples of patients with ulcerative colitis. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002;35:121-6.
- Schreiber S, Heinig T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1995;108:1434-44.
- Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*. 2008;226:205-18.
- Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schaffer AA, Noyan F, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med*. 2009;361:2033-45.
- Louis E, Libioulle C, Reenaers C, Belaïche J, Georges M. Genetics of ulcerative colitis: the come-back of interleukin 10. *Gut*. 2009;58:1173-6.
- Fedorak RN, Gangl A, Elson CO, Rutgeerts P, Schreiber S, Wild G, et al. Recombinant human interleukin 10 in the treatment of patients with mild to moderately active Crohn's disease. The Interleukin 10 Inflammatory Bowel Disease Cooperative Study Group. *Gastroenterology*. 2000;119:1473-82.
- Schreiber S, Fedorak RN, Nielsen OH, Wild G, Williams CN, Nikolaus S, et al. Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn's disease. Crohn's Disease IL-10 Cooperative Study Group. *Gastroenterology*. 2000;119:1461-72.
- Lesage S, Zouali H, Cezard JP, Colombel JF, Belaïche J, Almer S, et al. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet*. 2002;70:845-57.
- Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. 2003;124:993-1000.
- Vermeire S, Rutgeerts P. Current status of genetics research in inflammatory bowel disease. *Genes Immun*. 2005;6:637-45.
- Arijs I, Li K, Toedter G, Quintens R, Van Lommel L, Van Steen K, et al. Mucosal gene signatures to predict response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2009;58:1612-9.
- Buning C, Genschel J, Buhner S, Kruger S, Kling K, Dignass A, et al. Mutations in the NOD2/CARD15 gene in Crohn's disease are associated with ileocecal resection and are a risk factor for reoperation. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;19:1073-8.
- Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JP. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol*. 2004;99:2393-404.
- Dassopoulos T, Nguyen GC, Talor MV, Datta LW, Isaacs KL, Lewis JD, et al. NOD2 mutations and anti-Saccharomyces

- cerevisiae antibodies are risk factors for Crohn's disease in African Americans. *Am J Gastroenterol.* 2011;105:378–86.
29. Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, Fukuda Y, Takahashi S, Ogura Y, et al. Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2002;123:86–91.
  30. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T, Kazumori T, Nakamura Y. Absence of mutation in the NOD2/CARD15 gene among 483 Japanese patients with Crohn's disease. *J Hum Genet.* 2002;47:469–72.
  31. Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2011;42:1118–25.
  32. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature.* 2008;451:1069–75.
  33. Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2007;7:767–77.
  34. Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16L1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature.* 2008;456:259–63.
  35. Cadwell K, Patel KK, Maloney NS, Liu TC, Ng AC, Storer CE, et al. Virus-plus-susceptibility gene interaction determines Crohn's disease gene Atg16L1 phenotypes in intestine. *Cell.* 2011;141:1135–45.
  36. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med.* 2011;16:90–7.
  37. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhaes JG, et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol.* 2011;11:55–62.
  38. Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet.* 2008;40:955–62.
  39. Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, et al. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet.* 2007;39:830–2.
  40. Leshed A, Somasundaram R, de Haar C, van der Woude CJ, Braat H, Peppelenbosch MP. Role of defective autophagia and the intestinal flora in Crohn disease. *Self Nonself.* 2011;1:323–7.
  41. McCarroll SA, Huett A, Kuballa P, Chilewski SD, Landry A, Goyette P, et al. Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet.* 2008;40:1107–12.
  42. Skipper L, Li Y, Bonnard C, Pavanni R, Yih Y, Chua E, et al. Comprehensive evaluation of common genetic variation within LRRK2 reveals evidence for association with sporadic Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2005;14:3549–56.
  43. Tong Y, Yamaguchi H, Giaime E, Boyle S, Kopan R, Kelleher RJ, et al. Loss of leucine-rich repeat kinase 2 causes impairment of protein degradation pathways, accumulation of alpha-synuclein, and apoptotic cell death in aged mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;107:9879–84.
  44. Wang K, Zhang H, Kugathasan S, Annese V, Bradfield JP, Russell RK, et al. Diverse genome-wide association studies associate the IL12/IL23 pathway with Crohn Disease. *Am J Hum Genet.* 2009;84:399–405.
  45. Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet.* 2009;41:199–204.
  46. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, Craddock N, Deloukas P, Duncanson A, et al. Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nat Genet.* 2007;39:1329–37.
  47. Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med.* 2007;356:580–92.
  48. Mannon PJ, Fuss IJ, Mayer L, Elson CO, Sandborn WJ, Present D, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2004;351:2069–79.
  49. Sedivy JM, Banumathy G, Adams PD. Aging by epigenetics—a consequence of chromatin damage? *Exp Cell Res.* 2008;314:1909–17.
  50. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature.* 2007;447:396–8.
  51. Yung RL, Julius A. Epigenetics, aging, and autoimmunity. *Autoimmunity.* 2008;41:329–35.
  52. Holliday R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics.* 2006;1:76–80.
  53. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008;9:102–14.
  54. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell.* 1993;75:843–54.
  55. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:15524–9.
  56. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006;34:D140–4.
  57. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet.* 2005;37:766–70.
  58. Asirvatham AJ, Magner WJ, Tomasi TB. miRNA regulation of cytokine genes. *Cytokine.* 2009;45:58–69.
  59. Lodes MJ, Caraballo M, Suciu D, Munro S, Kumar A, Anderson B. Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray. *PLoS One.* 2009;4:e6229.
  60. Gilad S, Meiri E, Yogeve Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One.* 2008;3:e3148.
  61. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008;141:672–5.
  62. Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut.* 2009;58:1375–81.
  63. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:12481–6.
  64. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Boldin MP, Taganov KD, Nicoll J, et al. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *J Exp Med.* 2008;205:585–94.
  65. Bazzoni F, Rossato M, Fabbri M, Gaudiosi D, Mirolo M, Mori L, et al. Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to proinflammatory signals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:5282–7.
  66. Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: crucial regulators in immune response. *Autoimmun Rev.* 2011 [Epub ahead of print].
  67. Carissimi C, Fulci V, Macino G. MicroRNAs: novel regulators of immunity. *Autoimmun Rev.* 2009;8:520–4.
  68. Pauley KM, Cha S, Chan EK. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun.* 2009;32:189–94.

69. Sonkoly E, Pivarcsi A. Advances in microRNAs: implications for immunity and inflammatory diseases. *J Cell Mol Med.* 2009;13:24-38.
70. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2011;10:111-22.
71. Brooks WH, Le Dantec C, Pers JO, Youinou P, Renaudineau Y. Epigenetics and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2011;34:J207-19.
72. Wu F, Zikusoka M, Trindade A, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, et al. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha. *Gastroenterology.* 2008;135:1624-35, e24.
73. Takagi T, Naito Y, Mizushima K, Hirata I, Yagi N, Tomatsuri N, et al. Increased expression of microRNA in the inflamed colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;25 Suppl 1:S129-33.
74. Fasseu M, Tréton X, Guichard C, Pedruzzi E, Cazals-Hatem D, Richard C, et al. Identification of restricted subsets of mature microRNA abnormally expressed in inactive colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2010;5, pii: e13160.
75. Wu F, Zhang S, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Meltzer SJ, et al. Identification of microRNAs associated with ileal and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;16:1729-38.
76. Wu F, Guo NJ, Tian H, Marohn M, Gearhart S, Bayless TM, et al. Peripheral blood microRNAs distinguish active ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:241-50.
77. Dalal SR, Kwon JH. The Role of MicroRNA in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2011;6:714-22.
78. Pekow JR, Kwon JH. MicroRNAs in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;18, doi:10.1002/ibd.21691 [Epub ahead of print].
79. Padgett KA, Lan RY, Leung PC, Lleo A, Dawson K, Pfeiff J, et al. Primary biliary cirrhosis is associated with altered hepatic microRNA expression. *J Autoimmun.* 2009;32:246-53.
80. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut.* 2001;48: 526-35.
81. Olaru AV, Selaru FM, Mori Y, Vazquez C, David S, Paun B, et al. Dynamic changes in the expression of MicroRNA-31 during inflammatory bowel disease-associated neoplastic transformation. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:221-31.

Marisa Iborra <sup>a,b</sup>, Belén Beltrán <sup>a,b</sup> y Pilar Nos <sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), España

<sup>b</sup> Unidad de Enfermedad Inflamatoria Intestinal, Servicio de Medicina Digestiva, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: nos\_pil@gva.es (P. Nos).