



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

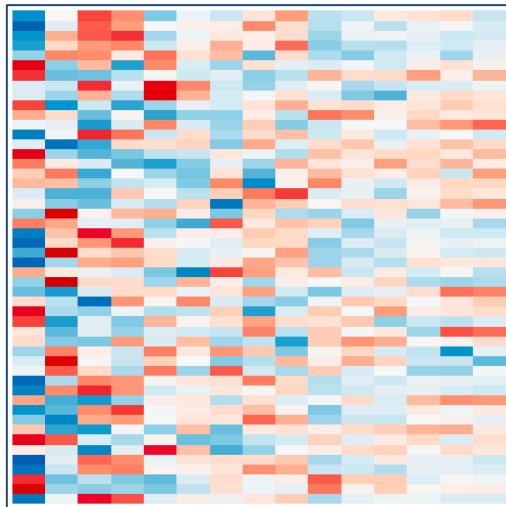


Universitat Autònoma
de Barcelona

TESIS DOCTORAL

Autor:

JUAN ENRIQUE NAVES



Barcelona, 2016



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Departamento de Medicina
Facultad de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

**Estudio de la regulación post-transcripcional de genes
mediada por microRNA en pacientes con colitis ulcerosa
tratados con glucocorticoides**

Tesis Doctoral presentada para optar al grado de Doctor
por la Universitat Autònoma de Barcelona

Autor:
JUAN ENRIQUE NAVES

Tutor:
RAMON PLANAS VILA

Directores:
Dr. EUGENI DOMÈNECH i MORRAL
Dr. EDUARD CABRÉ i GELADA
Dr. JOSEP MANYÉ i ALMERO

Barcelona, 2016

*A mi hijo Joaquín y a mi mujer Paula,
por el amor que me dan,
por el apoyo incondicional,
por compartir la vida conmigo,
por darme fuerzas cada día.*

*A mi Madre, a mi Padre, y a mis hermanos,
por estar a mi lado en cada paso que doy,
por los valores que me han inculcado,
por el cariño que me llega cada día desde la distancia.*

A mis abuelos, en especial a Tito, siempre presente.

A Elsa y a Miguel, por la enorme ayuda de estos últimos años.

A mis amigos, los de aquí y los de allá!

Índice de contenidos

<u>INDICE DE FIGURAS</u>	5
<u>INDICE DE TABLAS</u>	6
<u>INDICE DE IMÁGENES</u>	7
<u>ABREVIATURAS</u>	8
<u>1. INTRODUCCIÓN</u>	15
1.1. Colitis Ulcerosa.....	15
<u>1.1.1. Generalidades de la Colitis Ulcerosa</u>	15
<u>1.1.2. Etiopatogenia de la Colitis Ulcerosa</u>	17
1.1.2.1. Microbiota intestinal	17
1.1.2.2. Factores inmunológicos	18
1.1.2.3. Factores genéticos	21
1.1.2.4. Otros factores asociados a la patogenia de CU	21
<u>1.1.3. Diagnóstico de la Colitis Ulcerosa</u>	23
<u>1.1.4. Clasificación de la Colitis Ulcerosa</u>	25
<u>1.1.5. Estrategias de tratamiento de la Colitis Ulcerosa</u>	27
1.1.5.1. Tratamiento de los brotes de actividad	27
1.1.5.2. Tratamiento de mantenimiento	29
1.2. Glucocorticoides.....	30
<u>1.2.1. Glucocorticoides sistémicos y Colitis Ulcerosa</u>	30
<u>1.2.2. Valoración de la respuesta a GC sistémicos</u>	31
<u>1.2.3. Corticoesteroides naturales y sintéticos</u>	33
<u>1.2.4. Mecanismos de acción de los glucocorticoides</u>	34
1.2.4.1. Mecanismos genómicos	35
1.2.4.2. Mecanismos no genómicos	37
<u>1.2.5 Mecanismos asociados a la resistencia a GC</u>	38
1.2.5.1. Receptor de glucocorticoides	39
1.2.5.2. Heterocomplejo proteico y otras proteínas	40
1.2.5.3. Alteración a nivel de la transcripción	40
1.2.5.4. Mediadores pro-inflamatorios	41
1.2.5.5. Gen de multiresistencia a drogas y bombas de eliminación de fármacos	42
1.2.5.6. Otros potenciales mecanismos de resistencia a GC	43
1.3. El transcriptoma y los microRNA.....	44
<u>1.3.1. Generalidades sobre el transcriptoma</u>	44
<u>1.3.2. Generalidades sobre los MicroRNAs</u>	45
<u>1.3.3. Biogénesis de los miR</u>	46
<u>1.3.4. MicroRNA en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal</u>	47
<u>2. ANTECEDENTES</u>	55
<u>3. HIPOTESIS</u>	61
<u>4. OBJETIVOS</u>	65

<u>5. MATERIAL Y MÉTODOS</u>	69
5.1. Diseño del estudio.....	69
5.2. Selección de individuos.....	69
5.3. Valoración, seguimiento y recolección de muestras.....	70
5.3.1. Individuos con CU activa	70
5.3.2. Individuos controles sanos	72
5.3.3. Confección de los grupos del estudio	73
5.4. Recolección y almacenamiento de las muestras	73
5.5. Homogenización de las muestras, extracción del RNA, extracción de las proteínas, y comprobación de la calidad de las muestras	73
5.6. Análisis de las muestras y estudios experimentales realizados.....	74
5.6.1. Secuenciación de miR	74
5.6.2. <u>Microarrays para el estudio del transcriptoma de las muestras</u>	75
5.6.3. Validación del resultado del microarray mediante real time Polymerase Chain Reaction	76
5.7. Procesamiento de los resultados	76
5.7.1. <u>Software y criterios estadísticos aplicados</u>	76
5.7.2. <u>Comparaciones realizadas</u>	77
5.8. Estudios <i>in silico</i> a partir de los datos experimentales obtenidos	78
5.8.1. <u>Búsqueda de dianas potenciales de los miR diferenciales</u>	78
5.8.2. <u>Búsqueda de vías enriquecidas a partir de las dianas potenciales</u>	79
5.8.3. <u>Búsqueda de miR a partir de dianas potenciales (Reversión del sistema)</u>	79
5.8.4. <u>Vías y genes asociados a los RNAm diferenciales del <i>microarrays</i></u>	79
5.8.5. <u>Integración de los datos obtenidos del estudio in silico</u>	80
5.9. Estudio de la expresión proteica mediante <i>Western Blot</i>	81
<u>6. RESULTADOS</u>	85
6.1. Pacientes incluidos.....	85
6.2. Muestras útiles para el análisis del transcriptoma	87
6.3. Resultados de la secuenciación y comparación entre grupos	87
6.4. Resultados del <i>microarrays</i> y comparaciones entre grupos	95
6.5. Estudios <i>in silico</i> a partir de los datos de la secuenciación	98
6.5.1. <u>Predicción de RNAm dianas a partir de miR diferenciales</u>	98
6.5.2. <u>Vías enriquecidas a partir de las dianas potenciales</u>	98
6.5.3. <u>Reversión del sistema</u>	100
6.6. Estudios <i>in silico</i> a partir de los resultados del <i>microarrays</i>	101
6.7. Integración de los resultados de la secuenciación y <i>microarrays</i>	103
6.8. Modelos de respuesta y refractariedad	105
6.9. Western Blot de transcritos diferenciales y relevantes de los modelos.....	109

<u>DISCUSIÓN</u>	115
<u>7. DISCUSIÓN</u>	117
<u>8. CONCLUSIONES</u>	131
<u>ANEXOS</u>	133
ANEXO 1- Metodología para la extracción del RNA total y de las proteínas de las muestras de tejido cólico.....	135
ANEXO 2 – Metodología utilizada para realizar RT-PCR.....	138
ANEXO 4 - Resultado de la integridad, y lista de las muestras utilizadas para los estudios experimentales	143
ANEXO 5 – Resultados de la secuenciación de miR	145
ANEXO 6 - Resultados del microarrays	163
ANEXO 7 - Resultados de la regresión lineal y análisis de Pearson comparando los resultados del microarrays y la RT-PCR de las muestras de tejido cólico	175
ANEXO 8 – Dianas potenciales de los miR diferenciales de la secuenciación	185
ANEXO 9 – Vías enriquecidas a partir de dianas potenciales de los miR diferenciales de la secuenciación.	218
ANEXO 10 - Interacciones entre componentes de mTOR y miR diferenciales.....	236
ANEXO 11 – Niveles de expresión de proteína DDIT4 (<i>Western Blot</i>), RNAm de DDIT4 (<i>microarrays</i>), nivel de expresión de miR-200c-3p, y del miR-183-5p (secuenciación) ...	238
<u>9. BIBLIOGRAFÍA</u>	241

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Etiopatogenia de la Colitis Ulcerosa	17
Figura 2 – <i>Loci</i> asociados a la Enfermedad Inflamatoria Intestinal	22
Figura 3 – Principales mecanismos de acción de los glucocorticoides	37
Figura 4 – Resumen de sucesos que ocurren del gen a la proteína	44
Figura 5 – Biogénesis de los miR	47
Figura 6 – Publicaciones por año relacionadas a miR, EII y CU	48
Figura 7 - Estudios <i>in silico</i> a partir de los resultados de la secuenciación	80
Figura 8 – Integración de datos y modelos de respuesta a GC	81
Figura 9 - Diagrama de flujo de inclusión de pacientes y recogida de muestras	85
Figura 10 - miR diferenciales entre grupos (resultados de la secuenciación)	88
Figura 11 – miR diferenciales entre Respondedor basal y Refractario basal	89
Figura 12 – miR diferenciales entre Respondedor basal y Respondedor 3º día	89
Figura 13 – miR diferenciales entre noRe basal y noRe 3º día	91
Figura 14 – miR diferenciales entre Re 3º día y noRe 3º día	94
Figura 15 – Transcritos diferenciales (resultado del microarrays)	96
Figura 16 – Expresión media de DDIT4/REDD1 en los diferentes grupos	97
Figura 17 – Vía mTOR – <i>mammalian Target of Rapamicyn signaling Pathway</i>	102
Figura 18 – Vías de señalización asociadas a mTOR	103
Figura 19 – Expresión de los transcritos DDIT4/REDD1 y miR-200c-3p	104
Figura 20 – Expresión de los transcritos DDIT4/REDD1 y miR-183-5p	105
Figura 21 – Modelo de respuesta en Re a GC (Vía mTOR en Re a GC)	107
Figura 22 – Modelo de respuesta en noRe a GC (vía mTOR en noRe a GC)	108
Figura 23 – Resultados del WB para DDIT4/REDD1	110
Figura 24 - Regresiones lineales y Correlación de Pearson más relevantes	111

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 – Criterios de Lennard Jones para la Enfermedad Inflamatoria Intestinal	16
Tabla 2 – Actividad endoscópica según el subíndice de Mayo	24
Tabla 3 – Clasificación de Montreal para la extensión de la colitis ulcerosa	26
Tabla 4 – Índice de Montreal para la gravedad de la colitis ulcerosa	26
Tabla 5 - Equivalencias de los principales GC sistémicos	30
Tabla 6 – Estudios sobre perfiles de miR en sangre de pacientes con CU	49
Tabla 7 – Estudios sobre perfiles de miR en tejido cólico de pacientes con CU	50
Tabla 8 – Estudios funcionales de interacciones RNAm-miR en EII	51
Tabla 9 – Criterios de inclusión y exclusión de pacientes con CU	70
Tabla 10 – Criterios de inclusión y exclusión de controles sanos	70
Tabla 11 – Pautas de tratamiento con GC sistémicos utilizadas	71
Tabla 12 - Procedimientos realizados en las diferentes visitas del estudio	72
Tabla 13 – Grupos del estudio	73
Tabla 14 – Comparaciones realizadas	77
Tabla 15 – Características basales de todos los pacientes con CU incluidos	86
Tabla 16 – Características basales de pacientes cuyas muestras fueron utilizadas	86
Tabla 17 – Secuencia de nucleótidos de los miR diferenciales	94
Tabla 18 – Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales	98
(Re basal vs noRe basal)	
Tabla 19 – Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales	99
(Re basal vs Re 3º día)	
Tabla 20 – Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales	99
(noRe basal vs noRe 3º día)	
Tabla 21 – miR enriquecidos a partir de dianas potenciales de miR diferenciales	100

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1 – Endoscopia de paciente con CU activa	24
Imagen 2 – Pieza quirúrgica de CU grave con pseudopólipos	24
Imagen 3 – Histología de CU activa mediano aumento	25
Imagen 4 – Histología de CU activa gran aumento	25
Imagen 5 – Resultados del Western Blot para DDIT4/REDD1	109

ABREVIATURAS

5-ASA	Aminosalicilatos
ABCB1	Del inglés <i>ATP binding cassette subfamily B member 1</i>
ACTH	Hormona adrenocorticotrópa
ADA	Adalimumab
AINE	Anti-inflamatorios no esteroideos
AK2	Del inglés <i>adenylate kinase 2</i>
AKT	Del inglés <i>Protein kinasa B</i>
AP-1	Del inglés <i>Activator protein-1</i>
ATG-16	Del inglés <i>Autophagy-related protein-16</i>
ATP	Del inglés <i>Adenosine triphosphate</i>
AZA	Azatioprina
BACH2	Del inglés <i>BTB domain and CNC homolog-2</i>
BAG4	Del inglés <i>BCL2 associated athanogene</i>
BCL2-11L	Del inglés <i>B-Cell CLL/Lymphoma like 11</i>
C-terminal	Carboxiterminal
C. elegans	<i>Caenorhabditis elegans</i>
CAP-D3	Del inglés <i>chromosome-associated protein D3</i>
CAPN-10	<i>Calpain-10</i>
CARD9	Del inglés <i>caspase recruitment domain family member 9</i>
CBG	Del inglés <i>cortisol binding globulin</i>
CBP	Del inglés <i>cAMP response element-binding protein</i>
CCL2	Del inglés <i>Chemokine (C-C motif) ligand 2</i>
CCL7	Del inglés <i>Chemokine (C-C motif) ligand 7</i>
CCR6	Del inglés <i>C-C motif chemokine receptor 6</i>
CDH1	Del inglés <i>cadherin 1</i>
CDKAL1	Del inglés <i>CDK5 regulatory associated protein-1 like</i>
CI	Colitis inclasificable
CIC-B	CIC-Biogune de Bizkaia
CMV	Citomegalovirus
Controles	Controles sanos
CPEB4	Del inglés <i>cytoplasmic polyadenylation element binding 4</i>
CREM	Del inglés <i>cAMP responsive element modulator</i>
CsA	Ciclosporina A
CSNK2A1	Del inglés <i>Casein kinase 2 alpha 1</i>
CU	Colitis Ulcerosa
CYP3A4	Del inglés <i>Cytochrome P450 family 3A member 4</i>
DAP	Del inglés <i>Death associated protein</i>
DDIT4	Del inglés <i>DNA-Damage-Inducible Transcript 4</i>
DENND1B	Del inglés <i>DENN domain containing 1B</i>
DGCR8/Pasha	Del inglés <i>DGCR8, microprocessor complex subunit</i>
Dig2	Del Inglés <i>Dexametasone inducible gene</i>
DNA	Acido desoxirribonucleico
DNAc	Acido desoxirribonucleico complementario
DNMT3A	Del inglés <i>DNA methyltransferase 3 alpha</i>
EC	Enfermedad de Crohn
ECM1	Del inglés <i>extracellular matrix protein 1</i>
EEo	Esofagitis Eosinofílica
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal

ERAP2	Del inglés <i>Endoplasmic reticulum aminopeptidase 2</i>
ERG	Elementos de respuesta a glucocorticoides
FADS1	Del inglés <i>Fatty acid desaturase 1</i>
FCGR2A	Del inglés <i>Fc fragment of IgG receptor IIa</i>
FUT2	Del inglés <i>Fucosyltransferase 2</i>
GC	Glucocorticoides
GCKR	Del inglés <i>glucokinase regulator</i>
GM	Golimumab
GNA12	Del inglés <i>G protein subunit alpha 12</i>
GRP-1	Del inglés <i>GR-interacting protein 1</i>
GWAS	Del inglés <i>Genome-wide association studies</i>
HHS	Eje hipotálamo, hipófisis, suprarrenal
HIF1A	Del inglés <i>Hypoxia inducible factor 1 alpha</i>
HNF4A	Del inglés <i>Hepatocyte nuclear factor-4a</i>
Hsa-miR	<i>Homo sapiens</i> microRNA
HSP	Del inglés <i>Heat Shock Proteins</i>
HUGTiP	Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona
ICOSLG	Del inglés <i>Inducible T-cell costimulator ligand</i>
IFX	Infliximab
Ig	Inmunoglobulina
IKβ	Inhibidor del NF- κ B (del inglés <i>inhibitor of NF-κB</i>)
IL	Interleucina
IL18RAP	Del inglés <i>interleukin 18 receptor accessory protein</i>
IL1R2	Del inglés <i>interleukin 1 receptor type 2</i>
IL23R	Del inglés <i>interleukin 23 receptor</i>
IL2RA	Del inglés <i>Interleukin-2 receptor alpha</i>
IL7R	Del inglés <i>interleukin 7 receptor</i>
IL8RA	Del inglés <i>Interleukin 8 receptor alpha</i>
IL8RB	Del inglés <i>Interleukin 8 receptor beta</i>
IMC	Índice de masa corporal
IPO13	Importina 13
IRF5	Del inglés <i>Interferon regulatory factor 5</i>
IRGM	Del inglés <i>Immunity-related GTPase family M protein</i>
ITLN1	Del inglés <i>intelectin 1</i>
JAK2	Del inglés <i>Janus kinase 2</i>
KEGG	Del inglés <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
KIF21B	Del inglés <i>kinesin family member 21B</i>
LaFe	Hospital Universitario La Fe de Valencia
LAMB1	Del inglés <i>laminin-β1</i>
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LRRK2	Del inglés <i>Leucine-rich repeat kinase 2</i>
LSP1	Del inglés <i>lymphocyte-specific protein 1</i>
MadCAM-1	Del inglés <i>Mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1</i>
MAPK	Del inglés <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MDR	Del inglés <i>multidrug resistance</i>
MESH	Del inglés <i>Medical subject headings</i>
MIF	Factor inhibidor de la migración de macrófagos
miR	MicroRNAs
miRDB	Del inglés <i>miR Data Base</i>

MP	Mercaptopurina
MST1	Del inglés <i>Macrophage stimulating 1</i>
mTOR	Del inglés <i>Mammalian target of rapamycin</i>
MTX	Metotrexato
MUC1	Del inglés <i>mucin 1, cell surface associated</i>
N-terminal	Aminoterminal
NF-κB	Del inglés <i>Nuclear factor kappa B</i>
NKX2-3	Del inglés <i>NK2 homeobox 3</i>
NOD	Del inglés <i>nucleotide-binding oligomerization domain</i>
NOD2	Del inglés <i>nucleotide-binding oligomerization domain 2</i>
noRe	Refractarios a GC sistémicos
NR3C1	Del inglés <i>Nuclear receptor subfamily 3 group C member 1</i>
NR4A3	Del inglés <i>nuclear receptor subfamily 4 group A member 3</i>
ns	<i>No significativo</i>
nt	Nucleótido
OCT	Del inglés <i>Optimal Cutting Temperatura</i>
ORMDL3	Del inglés <i>ORMDL sphingolipid biosynthesis regulator 3</i>
OTUD3	Del inglés <i>OTU deubiquitinase 3</i>
P23	Del inglés <i>co-chaperone p23</i>
PAK2	Del inglés <i>p21 RAC1 activated kinase</i>
PCR	Proteína C reactiva
RT-PCR	Del inglés <i>Real time polymerase chain reaction</i>
PEG10	Del inglés <i>Paternally expressed</i>
Pgp-170	Del inglés <i>P-glycoprotein 170</i>
PIK3	Del inglés <i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
PIM3	Del inglés <i>Pim-3 proto-oncogene</i>
PLA2G2E	Del inglés <i>phospholipase A2 group IIE</i>
PRDM1	Del inglés <i>PR/SET domain 1</i>
PRDX5	Del inglés <i>Peroxiredoxin 5</i>
PSMG1	Del inglés <i>Proteasome assembly chaperone 1</i>
PTGER4	Del inglés <i>Prostaglandin E receptor 4</i>
PTPN2	Del inglés <i>Protein tyrosine phosphatase 2</i>
PTPN22	Del inglés <i>Protein tyrosine phosphatase 22</i>
Re	Respondedores a GC sistémicos
REDD1	<i>Del inglés Regulated in Development and DNA damage 1</i>
REL	Del inglés <i>REL proto-oncogene</i>
RG	Receptor glucocorticoideo
RG-GC	Complejo receptor glucocorticoideo – glucocorticoides
RG α	Receptor glucocorticoide isoforma alfa
RG β	Receptor glucocorticoide isoforma beta
RIN	Del inglés <i>RNA integrity number</i>
RISC	Del inglés <i>RNA induced silencing complex</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido ribonucleico mensajero
RTEL1	Del inglés <i>Regulator of telomere elongation helicase 1</i>
S6K	Del inglés <i>Ribosomal protein S6 kinase beta-1</i>
SCAMP3	Del inglés <i>Secretory carrier membrane protein 3</i>
SHBG	Del inglés <i>Steroid hormone binding globulin</i>
SLC3A2	Del inglés <i>Solute carrier family 3 member 2</i>

SLC7A5	Del inglés <i>Solute carrier family 7 member 5</i>
SMAD3	Del inglés <i>SMAD family member 3</i>
SMARCB1	Del inglés <i>Matrix Associated Regulator Of Chromatin</i>
SNP	Del inglés <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SP140	Del inglés <i>SP140 nuclear body protein</i>
SRC-1	Del inglés <i>Steroid receptor co-activator-1</i>
STAT3	Del inglés <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
SUV39H1	Del inglés <i>Suppressor of variegation 3-9 homolog 1</i>
SVIP	Del inglés <i>Small VCP interacting protein</i>
SWI/SNF	<i>Del inglés switching/sucrose non fermenting chromatin remodeling complex</i>
TAGAP	Del inglés <i>T-cell activation RhoGTPase activating protein</i>
TAGAP	Del inglés <i>T-cell activation RhoGTPase activating protein</i>
TECPR2	Del inglés <i>tectonin beta-propeller repeat containing 2</i>
Th	Del inglés <i>T helper cells</i>
THADA	Del inglés <i>THADA / armadillo repeat containing</i>
THS	Del inglés <i>Target Human Scan</i>
TJ	Del inglés <i>tight-junctions</i>
TLR	Del inglés <i>Toll-like receptors</i>
TNF	Del inglés <i>Tumor necrosis factor</i>
TNFα	Del inglés <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TNFRSF14	Del inglés <i>TNF receptor superfamily member 14</i>
TNFRSF6B	Del inglés <i>TNF receptor superfamily member 6b</i>
TNFRSF9	Del inglés <i>TNF receptor superfamily member 9</i>
TNFSF11	Del inglés <i>TNF ligand superfamily member 11</i>
TNFSF15	Del inglés <i>TNF superfamily member 15</i>
TNIP1	Del inglés <i>TNFAIP3 interacting protein 1</i>
TSC1/2	Del inglés <i>Tuberous sclerosis 1 / 2</i>
TYK2	Del inglés <i>Tyrosine kinase 2</i>
UTR	Del inglés <i>Untranslated región</i>
VAMP3	Del inglés <i>Vesicle associated membrane protein 3</i>
VDZ	Vedolizumab
VEGF	Del inglés <i>Vascular endothelial growth factor</i>
VSG	Velocidad de sedimentación globular
WB	Del inglés <i>Western Blot</i>
ZMIZ1	Del inglés <i>Zinc finger MIZ-type containing 1</i>
ZNF365	Del inglés <i>Zinc finger protein</i>

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Colitis Ulcerosa

1.1.1. Generalidades de la Colitis Ulcerosa

La colitis ulcerosa (CU) es una enfermedad inflamatoria que afecta de forma característica a diferentes tramos del colon, y que se encuentra incluida dentro de las conocidas como Enfermedades Inflamatorias Intestinales (EII) junto a la enfermedad de Crohn (EC), y a la colitis inclasificable (CI). Suele afectar a personas jóvenes y socialmente activas, que se encuentran en etapas productivas de sus vidas, lo que ocasiona graves problemas al paciente y a su entorno, no sólo en la esfera de la salud, sino también a nivel académico, laboral, emocional y social.

La incidencia de la CU varía desde 1,2 a 20,3 casos por cada 100.000 habitantes al año, con una prevalencia de entre 7,6 y 246 casos cada 100.000 habitantes al año. Históricamente se habían reportado diferencias geográficas en la incidencia de esta enfermedad, con predominio de la misma en países del Norte de Europa y Norte América, respecto a los países del sur de Europa ¹⁻²⁻³. Factores medioambientales, hábitos de vida, exposición a gérmenes o la polución, se encuentran potencialmente asociados a la patogenia de la enfermedad y podrían explicar estas diferencias geográficas ⁴. En las últimas décadas se ha detectado un aumento en el número de casos en aquellos países del sur de Europa con una histórica menor incidencia que ha hecho que las diferencias norte-sur tiendan a desaparecer ⁵⁻⁶. En España estudios epidemiológicos sitúan la incidencia de la CU entre 2 y 11 casos por cada 100.000 habitantes/año ⁷⁻⁸.

Hasta la fecha no existen datos patognomónicos que permitan confirmar la enfermedad, por lo que su diagnóstico se basa en la integración de datos

clínicos, radiológicos, endoscópicos y anatomopatológico compatibles. En la tabla 1 se resumen los criterios de Lennard Jones utilizados para el diagnóstico de las diferentes formas de EII, y en las imágenes 1, 2, y 3 se muestran algunos ejemplos de los hallazgos endoscópicos e histológicos más característicos de los pacientes con CU.

Tabla 1 – Criterios de Lennard Jones para el diagnóstico de Enfermedad Inflamatoria Intestinal ⁹.

Criterios	Colitis ulcerosa	Enfermedad de Crohn
Clínicos	Los síntomas y signos típicos son la rectorragia, la diarrea crónica con urgencia deposicional, el dolor abdominal, y en ocasiones las manifestaciones extraintestinales.	Los síntomas y signos típicos son el dolor abdominal recurrente, la diarrea crónica, la pérdida de peso, la presencia de una masa abdominal palpable, la presencia de enfermedad perianal, fistulas, y en ocasiones manifestaciones extraintestinales
Radiológicos	Los hallazgos típicos son mucosa granular, úlceras espiculares o en botón de camisa, pseudopólipos. Cambios de calibre: estrechamiento de la luz, aumento del espacio recto-sacro, acortamiento del colon, pérdida de haustración.	Los hallazgos típicos son cambios mucosos: úlceras aftoides, lineales o en espina de rosal, úlceras longitudinales (imagen en empedrado), pólipos inflamatorios, edema de válvulas conniventes. Cambios de calibre: estenosis (signo de la cuerda), dilatación, fistulas, asimetría de las lesiones.
Endoscópicos	En función del grado de afectación se pueden encontrar mucosa eritematosa, granular, edematosa y/o friable. Presencia de exudado, ulceraciones, hemorragia al roce o espontánea, pseudopólipos y pólipos. Las lesiones son característicamente continuas y con afectación prácticamente constante de recto (imagen 1, 2).	Se pueden encontrar aftas, ulceraciones profundas o serpiginosas, aspecto en empedrado (islotes de mucosa normal entre úlceras), estenosis, orificios fistulosos, pseudopólipos y pólipos. Las lesiones son característicamente segmentarias, de extensión variable y con recto frecuentemente indemne.
Histológicos	Los hallazgos más típicos son la inflamación exclusiva de la mucosa, úlceras superficiales, distorsión de las criptas, microabscesos, depleción de células caliciformes. Menos específico es el hallazgo de infiltrado inflamatorio crónico difuso, aumento de la vascularización mucosa, metaplasia de las células de Paneth, atrofia mucosa, hiperplasia linfoide (imagen 3, 4).	Los hallazgos más típicos son la inflamación transmural, la presencia de granulomas no caseificantes. Y menos específicos una inflamación de carácter discontinuo, inflamación de la submucosa con arquitectura epitelial conservada, retención de moco con inflamación mínima, fisuras.

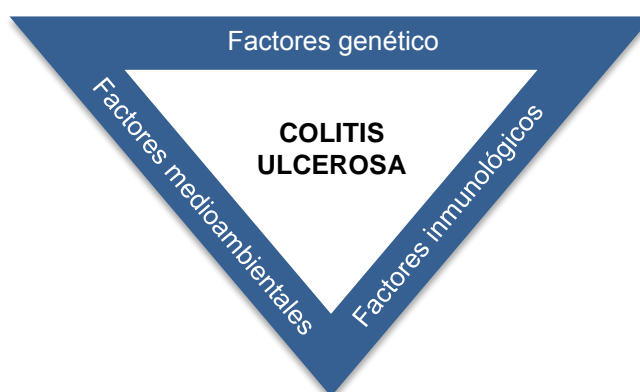
Entre los datos más característicos de la CU se encuentra la afectación inflamatoria casi constante del recto, que se extiende en sentido proximal hacia otros segmentos del colon de forma continua y difusa. A nivel anatomopatológico la inflamación en la CU está característicamente confinada a la capa mucosa, a diferencia de lo que sucede en la EC de afectación típicamente transmural. Es justamente esta afectación de la capa mucosa la responsable de los típicos síntomas de diarrea sanguinolenta, urgencia

defecatoria, tenesmo rectal, y el dolor abdominal, característicos de los pacientes con CU activa.

1.1.2. Etiopatogenia de la Colitis Ulcerosa

La etiología de la CU no es aún del todo conocida, pero se acepta que la exposición a determinados factores medioambientales en pacientes con predisposición genética, desencadena en una respuesta inmunológica anómala, que produce el daño tisular característico de la enfermedad a nivel de la mucosa de colon (Figura 1).

Figura 1 – Etiopatogenia de la Colitis Ulcerosa



1.1.2.1. Microbiota intestinal

En condiciones normales existe un estado de tolerancia entre la mucosa intestinal y los diferentes microorganismos endoluminales. Situaciones que alteren la composición de la flora intestinal, o en las que se produzcan defectos inmunitarios de la mucosa, pueden llevar a una pérdida de este equilibrio con la consiguiente aparición de EII.

El análisis molecular de la composición microbiana de muestras fecales y de la mucosa intestinal ha permitido la descripción de 1800 géneros, y entre 15.000

a 36.000 especies individuales de bacterias. La carga microbiana total en el intestino es de 10^{13} , 10^{14} microorganismos por gramo (gr), con concentraciones crecientes desde los segmentos proximales hacia los segmentos distales del tracto intestinal, siendo máximas a nivel del colon ¹⁰. Al parecer existen diferentes enterotipos de microbiota intestinal que podrían estar influenciados entre otras cosas por la dieta, pero que son independientes de la edad, o del índice de masa corporal (IMC) ¹¹. En este sentido, se ha sugerido que dietas ricas en proteínas se asocian al enterotipo *Bacteroides*, mientras que dietas ricas en carbohidratos se asocian al enterotipo *Prevotella* ¹².

En pacientes con CU se ha descrito una disminución en la diversidad de la microbiota intestinal ¹³⁻¹⁴. Existen estudios que muestran una reducción significativa en la concentración de *Bacteroides*, *Clostridium coccoides* y *Clostridium leptum*, en muestras fecales de pacientes con CU, así como aumento de *Enterococcus* y *Gammaproteobacterias* ¹⁵. En otro estudio se encontró una reducción en la concentración de *Roseburia hominis* y *Faecalibacterium Prausnitzii* en pacientes con CU ¹⁶. Una baja concentración de *Faecalibacterium prausnitzii* ha sido asociada a recaídas en pacientes con CU, siendo los recuentos superiores durante periodos de remisión ¹⁷. En otro estudio que evaluó muestras fecales y biopsias de colon, se confirmó esta reducción de *Faecalibacterium prausnitzii* en CU activa, y se encontró además un aumento de *Bifidobacterium* ¹⁸. Aún no está claro si la disbiosis intestinal asociada a la CU contribuye a la patogenia de la enfermedad o es una consecuencia de ella, pero aunque no sea posible determinar una clara relación causa-efecto, muchos estudios han demostrado que la microbiota intestinal juega un importante papel en la actividad inflamatoria e inmunoreguladora de estos pacientes ¹⁹.

1.1.2.2. Factores inmunológicos

La principal función del sistema inmunitario intestinal es mantener la homeostasis entre la respuesta a gérmenes patógenos, y la tolerancia hacia la

microbiota intestinal propia. La estrecha proximidad entre una alta densidad de gérmenes endoluminales y el epitelio cólico constituye un importante estímulo inmunológico que requiere, para su correcto funcionamiento, de una continua comunicación entre el epitelio y la microbiota intestinal. Algunos estudios sostienen que existiría una anomalía difusa de todo el epitelio del colon que sería independiente del grado de inflamación macroscópica presente ²⁰.

La barrera epitelial se encuentra cubierta por una capa de mucina, que constituye la primera línea de defensa del sistema inmune de la mucosa, proporcionando una separación física entre las células inmunes del huésped y los microorganismos endoluminales. En la CU existiría una alteración en el tipo de mucina que llevaría a daño de la barrera epitelial, con el consiguiente aumento de la permeabilidad de la barrera epitelial, y un mayor contacto del epitelio con antígenos ²¹. Sin embargo se desconoce si la disfunción de la barrera epitelial precede a la CU o es el resultado de la inflamación que se produce en la enfermedad. Además el epitelio intestinal contribuye a la defensa del huésped mediante la producción de péptidos antimicrobianos (defensinas), limitando así la invasión bacteriana. En este sentido se ha descrito un aumento en la expresión de beta-defensinas humanas en muestras de colon de pacientes con CU ²²⁻²³. Las células dendríticas pueden enviar prolongaciones a través del epitelio para muestrear bacterias y otros antígenos en el *lumen* ²⁴. Algunos de estos antígenos endoluminales pueden activar una respuesta inmune innata a través de la interacción con dichas células y/o con macrófagos. En la lámina propia los macrófagos y las células dendríticas se encargan de presentar antígenos a las células B y células T, que son las encargadas de polarizar la respuesta inmune adaptativa. En pacientes con CU el número de células dendríticas activadas y maduras se encuentra incrementado lo que aumenta la capacidad estimuladora, y sugiere un papel importante de estas células en el inicio y la perpetuación de inflamación ²⁵. En las células dendríticas y epiteliales existen receptores de reconocimiento de patrones microbianos conocidos como *Toll-like receptors* (TLR), o *nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors*. Las células epiteliales intestinales normales expresan TLR3 y TLR5, mientras que TLR2 y TLR4 son

escasos o están ausentes ²⁶. En algunos pacientes con CU se ha encontrado una sobreexpresión de TLR4 en las células de la lámina propia, lo que podría alterar la susceptibilidad a las infecciones entéricas o modificar la capacidad de la respuesta inmune ²⁷. La activación de los TLR conduce a la activación del *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) y otros factores de transcripción que son piezas fundamentales de la cascada inflamatoria ²⁸. Estos factores de transcripción regulan las funciones pro-inflamatorias y la supervivencia celular de los macrófagos y de las células T, pero también participan en funciones protectoras de células epiteliales, lo que hace que su papel en la inflamación intestinal sea complejo y dependiente del tipo celular ²⁹⁻³⁰⁻³¹.

En la mucosa del colon de pacientes con CU, el equilibrio entre linfocitos *T helper 1* (Th1), *T helper 2* (Th2) y *T helper 17* (Th17) se encuentra alterado. Existe evidencia de que en la CU existe una respuesta predominantemente Th2 con elevados niveles de interleucinas (IL) 5 y 13. La IL-13 es de especial importancia debido a que ejerce funciones citotóxicas contra las células epiteliales, induce apoptosis y altera la composición de proteínas de las uniones intercelulares o *tight-junctions* (TJ) ²¹. Otras IL asociadas a la CU son la IL-10 cuya pérdida de función está asociada a colitis ulcerosa grave, o el *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) que se encuentra elevado en sangre, heces y mucosa cólica de los pacientes con CU. Esto, junto con la eficacia del tratamiento anti-TNF para la colitis ulcerosa, corroboran la importancia de TNF- α en la patogénesis de la enfermedad ³²⁻³³. El reclutamiento de leucocitos circulantes hacia la mucosa de colon en los pacientes con CU activada por diferentes factores quimiotácticos parece estar aumentada ³⁴. También se ha otorgado importancia a sustancias pro-inflamatorias que favorecen la expresión de moléculas de adhesión como el *mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1* (MAdCAM-1) en el endotelio vascular de los vasos sanguíneos de la mucosa, lo que promueve la adhesión de leucocitos y la extravasación de los mismos hacia el tejido, mecanismo reforzado por el hecho de que ciertos tratamientos con fármacos biológicos dirigidos contra MAdCAM-1 impiden el reclutamiento de leucocitos y reducen la gravedad de la inflamación del colon en la CU ³⁵⁻³⁶.

1.1.2.3. Factores genéticos

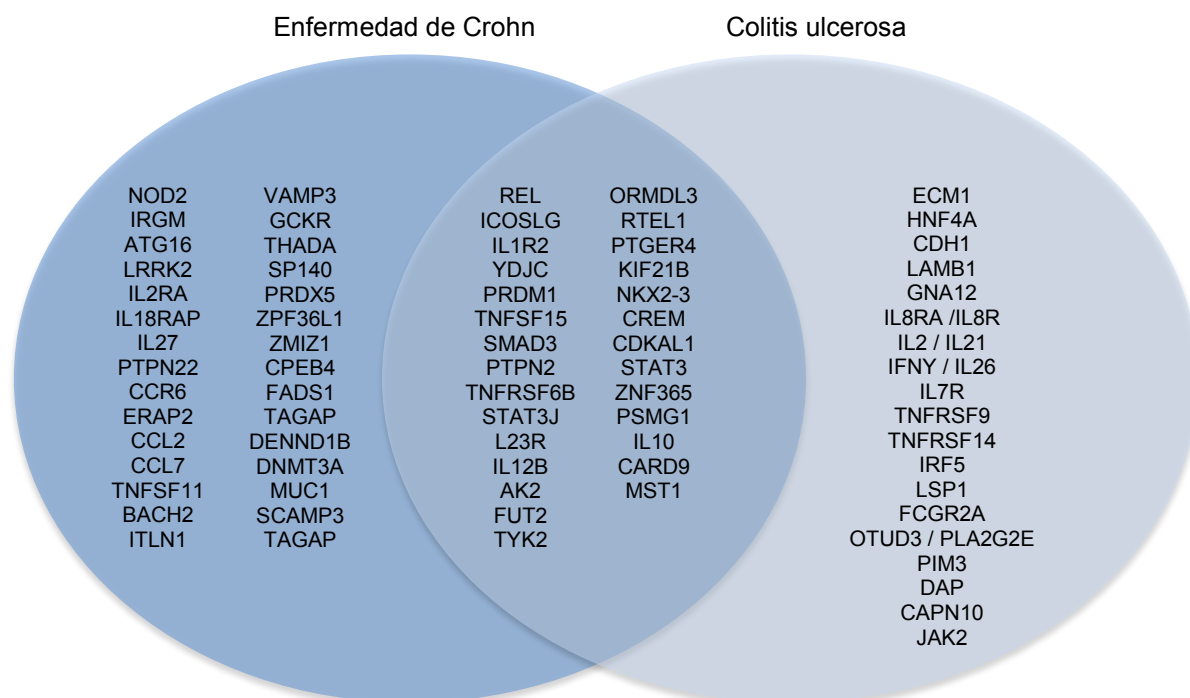
Diferentes datos epidemiológicos favorecen la influencia del componente genético en la etiopatogenia de la CU. Entre el 5,7 y 15,5% de los pacientes con CU tienen un familiar de primer grado con la misma enfermedad ³⁷⁻³⁸⁻³⁹. El riesgo de padecer EII que presenta un familiar de primer grado de un paciente con EII es de aproximadamente un 2%, lo que representa un riesgo 10 a 15 veces superior a la población general ⁴⁰. En gemelos monocigóticos el riesgo de padecer CU varía entre un 14 y un 19%, que si bien es elevado, es una asociación más débil de la que encontramos en la EC ⁴¹⁻⁴²⁻⁴³. Se han reportado además una mayor incidencia de EII en algunas etnias concretas como judíos askenazis al compararlos con otras etnias de las mismas áreas geográficas ⁴⁴⁻⁴⁵. En los últimos años los estudios de asociación de genoma completo o *Genome-wide association study* (GWAS) han revolucionado el complejo campo de las enfermedades poligénicas, y han llevado al descubrimiento de varios genes de susceptibilidad para la CU, lo que proporciona nuevos conocimientos sobre la patogénesis de la enfermedad. Hasta la fecha se han descrito 47 *loci* de susceptibilidad a la CU, de los cuales 20 son comunes con la EC ⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸ (Figura 2). Algunos *loci* de riesgo identificados en la CU a destacar, son el *hepatocyte nuclear factor-4 α* (HNF4A), y *laminin- β 1* (LAMB1), que codifican para proteínas asociadas a la adhesión celular al epitelio ⁴⁹. Otros hallazgos a destacar son mutaciones en la proteína *E-cadherin* (CDH1) que se correlacionan genéticamente al cáncer de colon con la CU ⁵⁰.

1.1.2.4. Otros factores asociados a la patogenia de CU

El papel del tabaco en la patogenia de la CU es controvertido y al parecer ejercería un efecto protector en esta enfermedad. Se ha reportado una menor incidencia de CU en fumadores activos, y en los casos de enfermedad establecida ésta tiene un curso menos agresivo que en aquellos individuos fumadores ⁵¹⁻⁵². Por el contrario, los ex fumadores, tienen un riesgo casi tres

veces superior de desarrollar CU, o una CU más extensa, refractaria a tratamiento, o asociada a una mayor tasa de hospitalización que aquellos individuos que nunca fumaron ⁵³⁻⁵⁴. La apendicetomía se ha asociado también a la patogenia de la CU, existiendo datos que sostienen que la resección del apéndice a edades tempranas se relaciona con un menor riesgo de padecer la enfermedad, y en aquellos casos que desarrollan de todas maneras la enfermedad, esta tiene un curso menos agresivo que en los no operados ⁵⁵. Se ha sugerido, y existe evidencia en este sentido, que episodios de infecciones gastrointestinales previos podrían asociarse a un riesgo aumentado de desarrollar CU. Esto sugiere la posibilidad de que cambios en la flora intestinal pueden poner en marcha un proceso inflamatorio que, en individuos predispuestos, se cronifique y culmine en CU ⁵⁶⁻⁵⁷. Por último, otro factor históricamente asociado a desencadenar brotes en pacientes con CU establecida, son los anti-inflamatorios no esteroideos (AINE). En este sentido, si bien la evidencia que avala esta hipótesis es débil, se sigue recomendando a los pacientes con CU que intenten evitar estos fármacos ⁵⁸.

Figura 2 – *Loci* asociados a la Enfermedad Inflamatoria Intestinal ⁴⁸



1.1.3. Diagnóstico de la Colitis Ulcerosa

Tal como se ha comentado, el diagnóstico de la CU requiere de la integración de datos clínicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos compatibles, siendo además fundamental la exclusión de otras enfermedades con características similares, como la EC, las colitis infecciosas, la colitis isquémica, la colitis rádica o la secundaria a fármacos.

Clínicamente la CU cursa en forma brotes de actividad intercalados con períodos de remisión de duración variable. El debut de la enfermedad suele ser insidioso, en forma de síntomas leves o moderados, que duran semanas o meses, hasta que se llega a un diagnóstico definitivo. Menos frecuente es el debut de la CU en forma de brote grave con repercusión sistémica que requiere de hospitalización urgente ⁵⁹. El síntoma característico de la enfermedad es la diarrea con sangre, que se asocia generalmente a síntomas rectales como la urgencia defecatoria, el tenesmo rectal, y/o la incontinencia fecal. Estos síntomas están presentes a lo largo de todo el día incluso durante la noche, y suelen asociarse a dolor abdominal de intensidad variable. Los brotes graves suelen cursar además con fiebre, astenia, pérdida de peso, anemia, leucocitosis, hipoalbuminemia, y/o elevación de reactantes de inflamación aguda como la proteína C reactiva (PCR) o la velocidad de sedimentación globular (VSG). Aproximadamente en un 10% de los pacientes con CU puede encontrarse compromiso de órganos extraintestinales, en forma de afectación ocular (epiescleritis, escleritis, uveítis), dermatológica (pioderma gangrenoso, eritema nodoso, síndrome de Sweet), articular (artropatía enteropática), o del árbol biliar (colangitis esclerosante primaria). Este tipo de afectación extraintestinal puede incluso en ocasiones preceder al diagnóstico de CU ⁶⁰. Una de las principales características endoscópicas de la CU es el hallazgo de una afectación uniforme y continua de la mucosa de colon desde la región rectoanal hacia segmentos proximales del colon, en forma de eritema mucoso, pérdida del patrón vascular, granularidad de la mucosa, ulceraciones de diferente profundidad, y friabilidad que puede ser espontánea o al roce con el endoscopio (imagen 1). Es característica la visualización de una transición brusca entre el segmento de mucosa cólica afectado y las áreas de mucosa

indemnes. Existen numerosos baremos que se utilizan para puntuar la gravedad endoscópica según las lesiones encontradas, siendo el más utilizado la actividad endoscópica según el subíndice de Mayo (Tabla 2). En pacientes con formas crónicas de CU, que han sufrido brotes de actividad graves, la colonoscopia puede revelar la presencia de pseudopólipos, puentes mucosos, o estenosis de colon a diferentes niveles (imagen 2).

Tabla 2 – Actividad endoscópica según el subíndice de Mayo ⁶¹

Actividad	Hallazgo en la endoscopia
0- Inactivo	Ausencia de lesiones
1- Leve	Eritema, reducción del patrón vascular, friabilidad leve
2- Moderado	Marcado eritema, pérdida de patrón vascular, friabilidad y erosiones
3- Grave	Sangrado espontáneo, y úlceras profundas

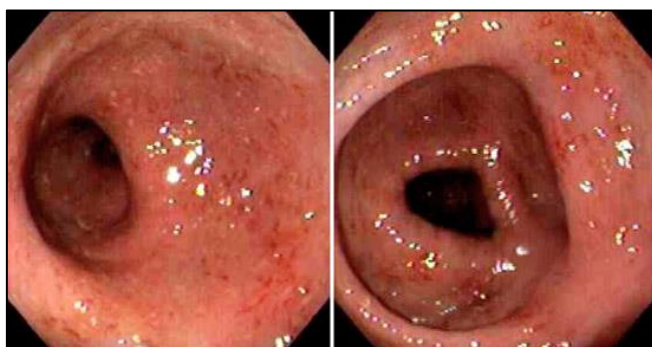


Imagen 1 – Endoscopia de paciente con CU en la que se aprecia afectación cólica difusa con pérdida de patrón vascular normal, congestión, y erosiones superficiales.

Fuente: WebPath®. Se ha solicitado autorización a WebPath® para utilizarla.



Imagen 2 – Pieza quirúrgica de CU grave con pseudopólipos.

Fuente: WebPath®. Se ha solicitado autorización a WebPath® para utilizarla.

Los hallazgos anatomopatológicos característicos de la CU son la afectación exclusiva de la capa mucosa, con presencia de infiltrados celulares constituidos por linfocitos, células plasmáticas y granulocitos (imagen 3 y 4). Este infiltrado inflamatorio varía en densidad y composición en función del estadio de la enfermedad. Durante los brotes de actividad es característica la formación de abscesos de criptas, siendo otros datos típicos la disminución de células caliciformes, la distorsión arquitectural de las criptas, la densidad disminuida de criptas y la presencia de ulceraciones ⁶² (imágenes 3, 4, 5, y 6). Sin embargo no debemos esperar que la anatomía patológica nos proporcione el diagnóstico definitivo de CU, ya que no existe ningún dato patognomónico de la misma, y existen además numerosas condiciones capaces de simularla.

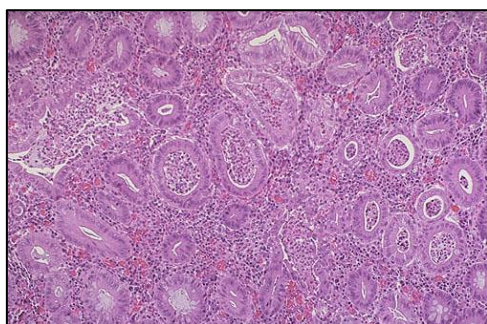


Imagen 3 – Histología de CU activa donde se aprecia intenso infiltrado inflamatorio y abscesos de criptas (mediano aumento).

Fuente: WebPath®. Se ha solicitado autorización a WebPath® para utilizarla.

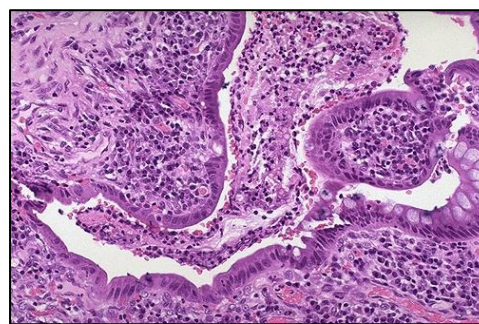


Imagen 4 – Histología de CU activa donde se aprecia alteración arquitectural de glándulas, pérdida de células caliciformes, y exudado (gran aumento).

Fuente: WebPath®. Se ha solicitado autorización a WebPath® para utilizarla.

1.1.4. Clasificación de la Colitis Ulcerosa

Las dos características de la CU, con mayor influencia en el tratamiento y pronóstico de la enfermedad, son la extensión de colon afectado, y el grado de actividad inflamatoria presente. La clasificación más utilizada para definir la extensión de la CU es la clasificación de Montreal que reconoce tres formas, proctitis ulcerosa, CU distal, y CU extensa, en función de la superficie de colon afectada (Tabla 3).

Tabla 3 – Clasificación de Montreal para la extensión de la colitis ulcerosa ⁶³

Extensión	Definición
Proctitis ulcerosa	El límite proximal no sobrepasa la unión rectosigmoidea
CU distal	El límite proximal no sobrepasa el ángulo esplénico
CU extensa	La afectación sobrepasa el ángulo esplénico, afectando tramos proximales al mismo

La extensión de la CU no es estable en el tiempo, y se estima que entre un 10 a un 30 % de los pacientes con formas distales progresarán a formas extensas en los primeros 10 años desde el diagnóstico ⁶⁴. Además, conocer la extensión es fundamental para definir la mejor vía de administración del tratamiento, siendo posible hacerlo de forma tópica (supositorios, enemas, o espumas) en la proctitis ulcerosa leve-moderada, y en casos seleccionados de CU distal leve-moderada, mientras que se recomienda hacerlo de forma combinada (sistémico y tópico) en las formas extensas y en la mayoría de formas distales de CU ⁶⁵.

Se han elaborado numerosos índices y baremos para definir el grado de actividad inflamatoria de la CU. Por su simplicidad uno de los más utilizados es el índice de Montreal para actividad, que reconoce 4 grados de actividad de la CU, a partir de variables clínicas, y biológicas de fácil obtención (Tabla 4).

Tabla 4 – Índice de Montreal para la gravedad de la colitis ulcerosa ⁶³

Gravedad	Definición
Inactiva	Ausencia de síntomas de la enfermedad
Brote leve	Hasta 4 deposiciones diarias (sangre +), sin signos de afectación sistémica *
Brote moderado	5 o 6 deposiciones diarias (sangre ++), sin signos de afectación sistémica * o muy leves
Brote grave	Más de 6 deposiciones (sangre +++), con signos de afectación sistémica *

* Signos de afectación sistémica: Hemoglobina < 10,5 g/dL; Temperatura corporal > 37,5° centígrados; Frecuencia cardiaca > 90 latidos por minuto; VSG > 30 milímetros/hora.

El objetivo último de todos estos índices es distinguir aquellas formas leves o moderadas que pueden manejarse ambulatoriamente, de aquellas formas moderadas o graves que se benefician de un manejo hospitalario y tratamientos más agresivos.

1.1.5. Estrategias de tratamiento de la Colitis Ulcerosa

En las últimas décadas se han producido importantes avances terapéuticos para el tratamiento de la CU, existiendo actualmente una mayor variedad de fármacos. El arsenal terapéutico de esta enfermedad comprende; a) fármacos anti-inflamatorios, como los aminosalicilatos (5-ASA) y los glucocorticoides (GC); b) fármacos inmunomoduladores, como las tiopurinas [azatioprina (AZA), mercaptopurina (MP), el metotrexato (MTX), y la ciclosporina (CsA)]; c) fármacos biológicos, como el infliximab (IFX), golimumab (GM), adalimumab (ADA) y vedolizumab (VDZ). El objetivo final del tratamiento es alcanzar la remisión clínica, y posteriormente mantenerla, buscando siempre la máxima seguridad para el paciente. La elección de la vía de administración, el tipo de principio activo, y la dosis empleada estarán condicionadas por el grado de actividad y la extensión de la enfermedad, además de por las características individuales de cada paciente que pueden contraindicar el uso de ciertos fármacos.

1.1.5.1. Tratamiento de los brotes de actividad

Los pacientes con brotes leves o moderados de proctitis ulcerosa suelen responder de forma satisfactoria al tratamiento con 5-ASA tópico (supositorios o enemas). Mientras que en aquellos casos de brotes leves pero con afectación distal o extensa se recomienda tratamiento combinado con 5-ASA oral y tópico ⁶⁶⁻⁶⁵. La valoración de la respuesta a 5-ASA se debe realizar entre las 2^a y 4^a semanas de tratamiento ⁶⁷, y ante ausencia de mejoría se recomienda optimizar el tratamiento mediante incremento de la dosis de 5-ASA ⁶⁸⁻⁶⁹, o la utilización de GC orales de acción local (triamcinolona, beclometasona, budesonida) solos o en combinación a 5-ASA ⁷⁰⁻⁷¹.

El tratamiento de elección de los brotes moderados y graves de CU son los GC de acción sistémica ya sea de forma oral (prednisona) o endovenosa (metilprednisolona). Sin embargo, hasta un 40% de pacientes con brotes moderados o graves de CU responderá de forma inadecuada a los mismos requiriendo de tratamientos de rescate para controlar la enfermedad ⁷²⁻⁷³⁻⁷⁴⁻⁷⁵⁻⁷⁶. Además hay que tener en cuenta que la utilización prolongada a GC sistémicos, se asocia a efectos secundarios graves, por lo que una exposición innecesaria a los mismos debe evitarse, siendo la tendencia actual la introducción precoz de terapias de rescate en aquellos pacientes en los que se prevé una mala respuesta a GC.

En aquellos pacientes con brotes moderados o graves de CU refractarios a GC sistémicos, o bien en aquellos en los que esté contraindicada la utilización de los mismos, se puede utilizar CsA, o IFX. La CsA es un fármaco anticalcineurínico con eficacia demostrada en brotes graves de CU ⁷⁷. La tasa de respuesta a la CsA está entre 76 – 85% a corto plazo. El IFX es un anticuerpo monoclonal quimérico con capacidad de bloquear al TNF, y con eficacia demostrada en el tratamiento de brotes de CU refractarios a GC sistémicos, estando disponible para este uso desde el año 2006. La eficacia de la CsA comparada a la de IFX en brotes refractarios a GC es similar tanto a corto como a largo plazo, por lo que la elección de uno u otro fármaco deberá estar basada en la experiencia del médico, y en las comorbilidades del paciente que favorezcan el uso de uno de los dos tratamientos ⁷⁸.

No hay que olvidar que, aunque la base del tratamiento de la CU es médico, entre un 20 y un 30% de los pacientes necesitarán de una actuación quirúrgica, ya sea de emergencia (colitis fulminante, megacolon, hemorragia, perforación), de urgencia (brotes moderados o graves que no responden al tratamiento médico), o bien electiva (displasia o cáncer) ⁷⁹⁻⁸⁰. Existen diferentes tipos de técnicas quirúrgicas en la CU, entre las que destacan la colectomía subtotal con ileostomía temporal en caso de emergencia o urgencia, con restauración del tránsito mediante anastomosis íleo-anal de forma diferida; o la

proctocolectomía con reservorio íleo-anal en casos de cirugía electiva, que puede incluso realizarse por vía laparoscópica.

1.1.5.2. Tratamiento de mantenimiento

Un paciente con CU en remisión es aquel que presenta la completa resolución de los síntomas como consecuencia de la curación de las lesiones del colon. Se ha demostrado que aquellos pacientes con CU en remisión que reciben tratamiento de mantenimiento tienen una menor tasa de recaídas. Entre los fármacos utilizados en este escenario se encuentran los 5-ASA, eficaces para mantener la remisión a largo plazo, especialmente indicados en pacientes que alcanzaron la remisión con 5-ASA ⁸¹. Otros fármacos ampliamente utilizados en este contexto son las tiopurinas como AZA y MP, utilizados en pacientes con CU corticodependiente, o pacientes refractarios a GC que alcanzaron la remisión con tratamientos de rescate como CsA o IFX ⁸². Existen datos que demuestran que al retirar AZA en aquellos pacientes tratados por largos períodos de tiempo se produce una alta tasa de recaída ⁸³. El problema con este principio activo son sus efectos secundarios que se presentan en 1 de cada 4 individuos, obligando a su retirada en un alto porcentaje de pacientes ⁸⁴. El IFX es otro fármaco eficaz en el tratamiento de mantenimiento, ya sea en monoterapia o combinado con tiopurinas, con datos que indican la existencia de una menor tasa de colectomía en aquellos pacientes tratados con IFX de mantenimiento respecto a los que reciben placebo ⁸⁵.

1.2. Glucocorticoides

1.2.1. Glucocorticoides sistémicos y Colitis Ulcerosa

En 1955 Truelove y Witts publicaron el primer estudio controlado comparando GC sistémicos contra placebo en el tratamiento de brotes graves de CU, demostrando el efecto beneficioso de los GC en esta enfermedad ⁸⁶. Desde entonces no se han realizado estudios similares que comparen estos fármacos con placebo. Sin embargo, de forma indirecta, estudios comparativos con otros fármacos sitúan la eficacia de los GC sistémicos en inducir la remisión clínica en la CU moderada o grave en un 50 a un 80% ⁸⁷. Aún hoy, a pesar de los avances terapéuticos, los GC de acción sistémica, continúan siendo el tratamiento de elección de los brotes moderados y graves de CU.

La elección de la vía de administración dependerá de la gravedad del brote, siendo habitual la utilización de prednisona por vía oral en los brotes moderados, y la utilización de Metilprednisolona por vía endovenosa en los brotes graves. La dosis de GC sistémico recomendada para el tratamiento de la CU es de 1 mg/Kg/día de Prednisona o equivalente (Tabla 5).

Tabla 5 - Equivalencias de los principales GC sistémicos

Principio activo	Equivalencia	Vida media (horas)
Hidrocortisona	20	8 – 12
Cortisona	25	8 – 12
Prednisona	5	12 – 36
Prednisolona	5	12 – 36
Metilprednisolona	4	12 – 36
Dexametasona	0,75	36 - 54

Adaptada de Gassull MA, y colaboradores ⁸⁸

En cuanto a las pautas de tratamiento sabemos que; a) dosis inferiores a 40 mg de Prednisona al día son ineficaces, b) no se han constatado diferencias en la administración en *bolus*, perfusión continua, dosis fraccionada o dosis única; c) las pautas de retirada rápida se asocian a una elevada posibilidad de recaída, d) se recomienda la administración concomitante de calcio y vitamina D para prevenir la pérdida de masa ósea. Tras conseguir una respuesta satisfactoria la dosis de GC se debe disminuir de forma gradual a un ritmo de 10 mg semanales hasta llegar a los 20 mg al día, y a partir de dicha dosis disminuir 5 mg por semana hasta su completa retirada.

1.2.2. Valoración de la respuesta a GC sistémicos

Según la respuesta que presenten los pacientes con CU tratados con GC sistémicos podemos diferenciar: **a)** brotes corticosensibles, aquellos en los que se consigue disminuir el índice de actividad usado en más del 30% del valor basal; **b)** brotes corticodependientes, aquellos en los que no se consigue reducir la dosis de GC por debajo del equivalente a 10 mg/día de Prednisona en los 3 meses siguientes al inicio del tratamiento, o que presentan una recaída en un plazo de 3 meses tras la suspensión del tratamiento; **c)** brotes de actividad refractarios a GC o corticorefractarios o corticoresistentes, aquellos en los que existe persistencia de actividad tras 4 semanas de tratamiento con GC a dosis de 0,75 mg/Kg/día de Prednisona o equivalente ⁸⁹. Esta última es la definición clásica de corticorefractariedad, pero la tendencia actual es realizar una valoración precoz de los pacientes (entre el tercer y quinto día de GC), e instaurar terapias de rescate en aquellos en los que se detecten parámetros clínico-biológicos asociados a mala respuesta. En este sentido existen diferentes trabajos que han intentado identificar variables con capacidad de predecir la respuesta. Travis y colaboradores asociaron el número de deposiciones y el valor de PCR a la respuesta a GC. Aquellos pacientes con brotes graves de CU que al tercer día de tratamiento se mantienen con más de 8 deposiciones diarias, o bien aquellos con presencia de entre 3 y 8 deposiciones diarias junto a un valor de PCR superior a 45 mg/L, mostraron

una mayor tasa de colectomía que aquellos pacientes en los que no se encontraron estas variables ⁷⁶. En otro estudio Benazzato y colaboradores relacionaron el valor de VSG basal, la temperatura corporal basal y el cambio del número de deposiciones desde el inicio del tratamiento hasta el quinto día, como buenos predictores de respuesta a GC ⁹⁰. Ho y colaboradores asociaron el número de deposiciones, la dilatación de colon, y la hipoalbuminemia al tercer día de tratamiento, con una mala respuesta a GC ⁹¹. Cabe destacar que los estudios citados definen la corticorefractariedad como la necesidad de colectomía a corto plazo (durante el ingreso hospitalario), y en ocasiones los pacientes con brotes moderados o graves de CU pueden tener una respuesta lenta o parcial a GC sistémicos, que aunque no esté asociada a colectomía precoz sí se asocia a una mayor utilización de tratamientos de rescate, inmunosupresores y colectomía a medio o largo plazo ⁹². En un estudio publicado por nuestro grupo de trabajo se definió la corticorefractariedad, como la persistencia de actividad moderada o grave tras 7 días de tratamiento con GC, siendo los factores asociados a dicha mala respuesta, el número de deposiciones, la presencia de sangre en las heces, el recuento de plaquetas, y el valor de PCR al tercer día de tratamiento. De ellos sólo la presencia de sangre en las heces mostró ser un predictor independiente de respuesta en el análisis multivariado ⁷². Independientemente de las variables utilizadas para evaluar la respuesta, se recomienda plantear desde el primer día una estrategia de monitorización, siendo aceptado en la actualidad que se evalúe la respuesta entre el tercer y el quinto día de iniciado el tratamiento, y si se detectan factores asociados a mala respuesta se recomienda modificar el tratamiento médico e iniciar terapias de rescate como CsA o IFX. En ocasiones nos encontraremos con situaciones intermedias, que requieran de una revaloración al séptimo día, estando indicado instaurar tratamientos de rescate en aquellos que no alcanzan la remisión en dicho momento. Estas estrategias han permitido mejorar notablemente el pronóstico de estos pacientes, habiéndose reducido de forma considerable la tasa de colectomía ⁹³⁻⁹⁴.

1.2.3. Corticoesteroides naturales y sintéticos

La corteza suprarrenal produce de forma fisiológica dos clases de hormonas esteroideas a partir del colesterol: **a)** los corticoesteroides (glucocorticoides y mineralocorticoides) compuestos por 21 átomos de carbono; y **b)** los andrógenos compuestos por 19 átomos de carbono. En condiciones normales la producción de estas hormonas está regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHS), existiendo además influencias neurógenas y químicas que modulan la secreción. La acción de los corticoesteroides se divide en su actividad glucocorticoidea, que hace referencia a la capacidad de regular el metabolismo de carbohidratos, y su actividad mineralocorticoidea, que hace referencia a la capacidad de regular el balance hidroelectrolítico. En condiciones de ausencia completa de hormonas corticales se produciría una depleción del glucógeno, disminuirían la glucemia, la contractilidad, el gasto cardíaco, la presión arterial, la concentración plasmática de sodio, y aumentarían la eliminación de sodio en orina, disminuiría el volumen plasmático, y la capacidad de concentrar la orina, entre otras cosas. Por el contrario cantidades excesivas de hormonas corticales en el organismo producirían efectos opuestos como expansión del volumen plasmático, retención de sodio y pérdida de potasio, aumento de la presión arterial, además de incrementar el glucógeno en hígado y músculo, y aumentar la glucemia.

Los GC se sintetizan en respuesta a situaciones de estrés fisiológico como el ayuno, la hipoglucemia, la inflamación, la ansiedad, el miedo, entre otros estímulos. Su utilización terapéutica viene motivada por su capacidad anti-inflamatoria, y de inhibición de la respuesta inmunitaria que poseen estas hormonas. En 1937 se identificó la primera molécula con actividad glucocorticoidea, y desde entonces los GC se convirtieron en uno de los principales fármacos utilizados para el tratamiento de una gran variedad y diversidad de enfermedades ⁹⁵. Una de las primeras enfermedades tratadas con GC fue la artritis reumatoide, hecho que le valió el premio Nobel de Medicina a Hensch en 1950, y algunos años más tarde, como hemos comentado, Truelove y Witts demostraron la eficacia del uso de los GC sistémicos en la CU ⁸⁶.

Lamentablemente la exposición a GC se asocia a efectos adversos que en muchas ocasiones limitan su uso. Estos pueden ser consecuencia de la supresión del eje HHS, o bien consecuencia del uso prolongado de los mismos. Entre los principales efectos adversos encontramos susceptibilidad a infecciones, alteraciones hidroelectrolíticas, hipertensión, hiperglicemia, atrofia muscular, glaucoma, osteoporosis, síndrome de Cushing, incremento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, alteraciones del comportamiento, cataratas, detención del crecimiento, redistribución de grasa, estrías, y equimosis, entre otros ⁹⁶.

1.2.4. Mecanismos de acción de los glucocorticoides

Entender los mecanismos moleculares mediante los cuales los GC actúan tiene, además de un interés científico, un gran interés práctico, dado que nos puede permitir comprender mejor el motivo por el cual algunos pacientes presentan una respuesta inadecuada a los mismos.

Los mecanismos de acción de los GC se pueden dividir en; **a)** genómicos, aquellos por los cuales los GC activarán o inhibirán la transcripción de genes; y **b)** no genómicos, aquellos por los cuales los GC no afectan la expresión génica, sino que activan directamente cascadas de señalización, o producen cambios en el flujo iónico.

Al igual que el cortisol endógeno, los GC exógenos de acción sistémica son transportados en la sangre, predominantemente unidos a proteínas. La fracción de GC unido a proteínas constituye un reservorio de la hormona en el organismo y participa en el transporte y su distribución en los diferentes tejidos. Las principales proteínas transportadoras de esteroides son la transcortina [*cortisol binding globulin* (CBG)], la globulina transportadora de esteroides sexuales [*steroid hormone binding globulin* (SHBG)] y la albúmina ⁹⁷.

1.2.4.1. Mecanismos genómicos

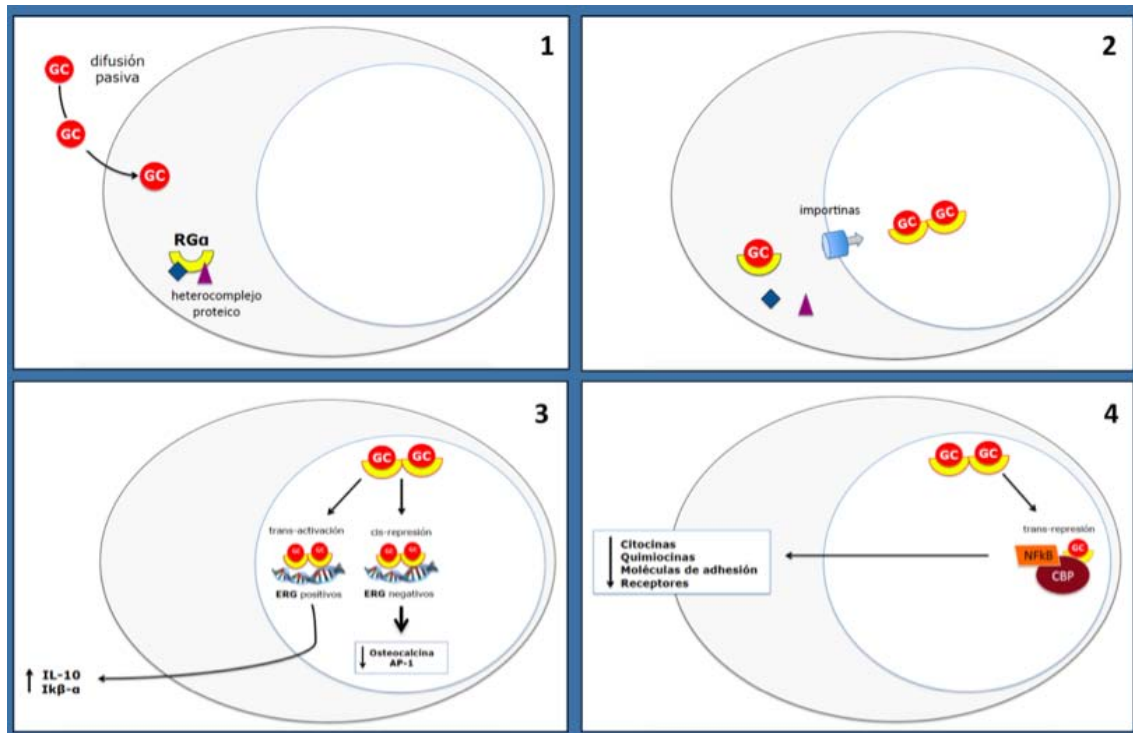
Los GC libres, son capaces de difundir pasivamente a través de las membranas plasmáticas e interactuar con un receptor específico, localizado en el citoplasma, conocido como receptor de glucocorticoides (RG). Este RG pertenece a una superfamilia de receptores que incluye al receptor de mineralocorticoides, hormonas sexuales, hormona tiroidea, ácido retinoico, y vitamina D. El gen del RG, se denomina NR3C1 (*nuclear receptor subfamily 3 group C member 1*), y se encuentra en el brazo largo del cromosoma 5 (región 5q31-32). Su estructura se basa en un extremo aminoterminal (N-terminal), con capacidad de unión a proteínas coactivadoras y factores transcripcionales; y un extremo carboxiterminal (C-terminal), responsable de la unión al GC ⁹⁸⁻⁹⁹. Existen varias isoformas del RG, de las que la isoforma alfa (RG α) y la isoforma beta (RG β) son las más destacadas, encontrándose ambas en prácticamente todos los tejidos. El RG α es el predominante, siendo además el único con capacidad de unión al GC. El RG inactivo se encuentra en el citoplasma unido a un heterocomplejo oligomérico de proteínas llamadas chaperonas ¹⁰⁰⁻¹⁰¹, siendo esta interacción importante para mantener oculta la señal de localización nuclear necesaria para la posterior migración nuclear del RG activado, así como para conservar la configuración del receptor para la unión al ligando. Además, estas proteínas son probablemente necesarias para la correcta maduración de los RG recién sintetizados ¹⁰². Tras su unión al GC, el RG se libera de las interacciones con el heterocomplejo proteico, que inducen cambios en su conformación dando como resultado la activación del mismo. La translocación hacia el núcleo ocurre a través de poros nucleares, y está mediada por factores específicos de transporte nuclear entre los que destaca la importina-13 (IPO13) ¹⁰³.

Una vez en el núcleo el complejo RG-GC puede modular la expresión génica a través de diferentes mecanismos. En primer lugar, puede unirse al DNA a través del dominio central sobre sitios conocidos como elementos de respuesta a los GC (ERG). La interacción con estas regiones junto con determinados

coactivadores dará lugar a la inducción o represión de la transcripción genética a través de diferentes mecanismos, **a) trans-activación**, que consiste en la interacción del RG-GC con ERG localizadas en regiones promotoras de genes que codifican proteínas anti-inflamatorias; **b) cis-represión**, que consiste en la interacción del RG-GC con ERG negativos, que ocasiona la supresión de la expresión de genes con actividad inflamatoria; **c) trans-represión**, que consiste en la interacción del RG-GC con moléculas coactivadores como CBP (*cAMP response element-binding protein*) y de esta manera inactivan a genes inflamatorios que habían sido activados por estos factores de transcripción (Figura 3) ⁹⁸⁻¹⁰⁴. En definitiva, es a través de algunos estos mecanismos, mediante los cuales los GC producen aumento de la síntesis de proteínas anti-inflamatorias como el inhibidor del factor de transcripción NF- κ B, la IL-10 y la anexina 1, o la inhibición de la transcripción de algunos genes que codifican proteínas pro-inflamatorias, compitiendo por regiones promotoras reconocidas por factores transcripcionales proinflamatorios como el NF- κ β o AP-1 (*activator protein-1*), bloqueando su actividad transcripcional. Por otro lado, los GC también pueden influir sobre la estabilidad de enzimas relacionadas con la expresión genética y proliferación celular que tiene lugar en el proceso inflamatorio como las MAPK (*mitogen-activated protein kinases*), así como inhibir factores que participan en la re-organización de la cromatina ⁹⁹⁻¹⁰⁵.

Las consecuencias de todos estos mecanismos a través de los cuales actúan los GC, tienen consecuencias directas sobre diferentes tipos celulares, ocasionando disminución de la supervivencia de eosinófilos, reducción del número de células dendríticas, cambios en la permeabilidad de las células endoteliales, inhibición de la secreción mucosa de epitelios glandulares, y disminución del número de linfocitos y basófilos, entre otras.

Figura 3 – Principales mecanismos de acción de los glucocorticoides



GC: glucocorticoides; $RG\alpha$: receptor glucocorticoide alfa; ERG: elemento de respuesta a glucocorticoides; AP-1: Proteína activadora 1; IL-10: interleucina 10; $IK\beta$: proteína inhibitoria del factor nuclear Kappa Beta; $NFK\beta$: factor nuclear Kappa Beta. CBP: proteína de fijación CREB o p300.

1.2.4.2. Mecanismos no genómicos

La unión directa de los GC a receptores de la membrana celular, o a receptores citoplasmáticos puede, a través de mecanismos no genómicos, producir cambios en algunas vías de señalización, y en el intercambio iónico. Estos mecanismos de acción se caracterizan entre otras cosas por su rápido inicio (minutos), tiempo menor del necesario para que se produzca la transcripción génica y traducción a proteína, presente en los mecanismos genómicos. Se conocen al menos 2 formas de mecanismos no genómicos, una de ellas en la que existe interacción con el RG, y otra la que esta interacción no se produce. Un ejemplo de esta última sería la interacción de los GC directamente con la membrana celular ocasionando la modificación de las propiedades fisicoquímica de la misma. En el caso del mecanismo no genómico con interacción con el RG tendríamos el ejemplo de la liberación de quinasas tras la

unión de los GC al RG, que llevaría a la inhibición de la liberación del ácido araquidónico reduciendo la producción de metabolitos inflamatorios ¹⁰⁶.

Además, existen evidencias actuales que sugieren que los GC pueden reprimir la expresión génica a través de mecanismos post-transcripcionales, mediante la inhibición de proteínas encargadas de retardar la degradación del RNA y de esta manera acelerar la degradación del RNAm ¹⁰⁷. En este sentido, se ha sugerido también, que los GC podrían regular la expresión génica de forma post-transcripcional a través de microRNAs (miR) como lo demuestran algunos estudios que repasaremos más adelante.

1.2.5 Mecanismos asociados a la resistencia a GC

Antes de adentrarnos en los mecanismos de resistencia a GC, debemos mencionar una rara enfermedad de resistencia generalizada a GC, conocida como síndrome de Chrousos ¹⁰⁸. Se trata de una enfermedad esporádica o familiar causada por una mutación en la subfamilia de receptores nucleares 3 que provoca una insensibilidad tisular a los GC con elevación compensatoria de la hormona adrenocorticotrópa (ACTH) lo que causa un aumento de la secreción de cortisol, así como de otras hormonas suprarrenales como mineralocorticoides y andrógenos. Estos pacientes no tienen signos de síndrome de Cushing pero sí presentan hipertensión arterial y signos de hiperandrogenismo. Hasta la fecha no hay casos reportados de este síndrome en pacientes con EII en la literatura.

Otro aspecto a tener en cuenta al hablar de resistencia a GC en pacientes con CU es la posibilidad de una reactivación de la infección por citomegalovirus (CMV) en el colon. Se recomienda, ante brotes moderados o graves de CU, determinar la inmunoglobulina (Ig) G de CMV de forma basal para conocer si ha existido un contacto previo con el virus y, en aquellos pacientes seropositivos y escasa mejoría sintomática en los primeros días de tratamiento

con GC, estaría indicado realizar una rectoscopia con biopsias para descartar la mencionada reactivación ¹⁰⁹.

Sin embargo, en la mayoría de pacientes con brotes moderados o graves de CU, que presenten resistencia a GC, no podremos determinar las causas de la misma. Un aspecto interesante a destacar es que la resistencia a GC sistémicos no es un estado permanente en el tiempo, por lo que es frecuente que un paciente que tuvo mala respuesta a GC sistémicos en un brote determinado, pueda responder adecuadamente a los mismos en el brote siguiente. Si tenemos en cuenta la complejidad de los mecanismos de acción de los GC, la resistencia a estos fármacos puede producirse por alteraciones a distintos niveles, siendo los sitios más estudiados los que mencionaremos a continuación.

1.2.5.1. Receptor de glucocorticoides

Algunos estudios han reportado una menor expresión de RNAm del RG en la mucosa intestinal de pacientes con CU corticoresistentes ¹¹⁰. Por el contrario, otros estudios demostraron diferencias en la concentración de RG α entre pacientes con CU activa y controles, pero no entre corticoresistentes y corticosensibles ¹¹¹. Se conocen alrededor de 1000 polimorfismos del gen del RG, algunos de los cuales podrían modificar el complejo RG-GC, y de esta manera alterar los procesos de trans-activación, cis-represión, o trans-represión. Cabe recordar que la isoforma RG β es inactiva e incapaz de unirse al ligando, pero con capacidad de ocupar aquellos sitios del DNA destinados a la isoforma GR α ejerciendo un efecto competitivo negativo ¹¹²⁻¹¹³. En este sentido, en linfocitos de pacientes con CU corticoresistentes, se ha reportado la sobreexpresión del RNAm del GR β al compararlos con linfocitos de pacientes con CU corticosensibles y controles sanos ¹¹⁴. En otro estudio se demostró que en biopsias de colon de pacientes con CU corticoresistentes existen más células positivas para GR β en comparación con pacientes con CU corticosensibles y controles sanos ¹¹⁵.

Sin embargo la influencia de este mecanismo de resistencia pierde fuerza si se tiene en cuenta que la isoforma RG β está expresada entre 100 y 1000 veces menos que la isoforma RG α .

1.2.5.2. Heterocomplejo proteico y otras proteínas

Las anomalías que se produzcan en la chaperonas y co-chaperonas de este complejo podrían estar relacionadas con una mala respuesta a GC ¹¹⁶, por lo que la integridad de las proteínas que acompañan al RG en el citoplasma son fundamentales para una correcta unión del ligando y para su activación. A pesar de que no existen estudios en pacientes con CU sabemos que existen variaciones en los niveles de algunas proteínas que componen el heterocomplejo proteico del RG que se han asociado con la sensibilidad a los GC ¹¹⁷⁻¹¹⁸. De igual manera las importinas responsables de la translocación del complejo RG-GC a través de poros nucleares, como la IPO13, también se han asociado a la corticoidesistencia. Se ha reportado que la inhibición de la producción de IPO13 en células pulmonares reduce la translocación del complejo RG-GC desde el citoplasma al núcleo, y por consiguiente influye en la producción de citoquinas inflamatorias ¹¹⁹. Sabemos que la IPO13 se expresa en otros tejidos como cerebro, corazón, riñones e intestino, por lo que una desregulación de los procesos mediados por IPO13 podría estar relacionada con una mala respuesta a corticoides en otras enfermedades como la CU. Existen pocos estudios sobre las variantes genéticas de IPO13 pero algunos de ellos describen polimorfismos potencialmente relacionados a una respuesta alterada a GC inhalados en pacientes con asma ¹²⁰.

1.2.5.3. Alteración a nivel de la transcripción

Un mecanismo que podría explicar la resistencia a GC es la alteración del complejo mecanismo de condensación de la cromatina. Se sabe que la transcripción de genes se inhibe por la condensación de la estructura de la

cromatina que previene la interacción entre factores de transcripción y sus secuencias de reconocimiento en el DNA, bloqueando de esta manera la transcripción al DNA ¹²¹. Como hemos comentado es en el núcleo celular donde el complejo RG-GC se une a ERG en el DNA para la transcripción de genes diana. En ocasiones, el dímero RG-GR puede reclutar co-activadores como CBP (*cAMP response element-binding protein*), SRC-1 (*steroid receptor co-activator-1*), GRP-1 (*GR-interacting protein 1*), y el complejo SWI/SNF (*switching/sucrose non fermenting chromatin remodeling complex*), facilitando la acetilación de las histonas y la incorporación de la RNA polimerasa II. La maquinaria transcripcional asociada al GR esta sujeta a una regulación de la transcripción en función del tipo celular y de las actividades moleculares con las que interactúa ¹²²⁻¹²³⁻¹²⁴. Alteraciones en este complejo transcripcional podrían ser responsables de la resistencia a corticoides, como se ha visto en algunos pacientes con leucemia en los que se ha demostrado una menor expresión de una proteína de este complejo proteico denominada SMARCB1 (*SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily B, Member 1*) ¹²⁵. Se ha descrito que una mayor expresión de SMARCB1 se asocia a una mayor sensibilidad a corticosteroides. En este sentido se ha demostrado corticoresistencia en células humanas de pacientes con leucemia linfoblástica aguda con el gen SMARCB1 silenciado o con infraexpresión de otras subunidades del complejo SWI/SNF ¹²⁶.

1.2.5.4. Mediadores pro-inflamatorios

Uno de los principales mecanismos de represión génica llevado a cabo por los GC es la interacción del complejo RG-GC activo con factores de transcripción pro-inflamatorios. Es por ello que una alteraciones a este nivel podría regular negativamente este mecanismo. Existen estudios realizados en patología diferente a la EII que muestran que los GC son incapaces de bloquear una elevada actividad de NF-kB ¹²⁷. En el mismo sentido, se ha visto que individuos con resistencia a GC suelen presentar niveles más elevados tanto locales como sistémicos de citoquinas pro-inflamatorias ¹²⁸⁻¹²⁹. Datos *in vitro* sugieren

que las citoquinas modifican el efecto de GC interfiriendo en la señalización del RG ¹³⁰. Por ejemplo, la interleucina 1 alfa (IL1 α) inhibe la translocación del complejo RG-GC en fibroblastos de ratones ¹³¹, mientras que la interleucina 1 beta (IL-1 β) altera la función del GR en células epiteliales cólicas ¹³². También el TNF disminuye la sensibilidad a GC en monocitos a través de una regulación negativa del GR. A su vez en mucosa de colon de pacientes con CU corticoresistentes, se encuentran sobreexpresados TNF, IL-6 e IL-8, respecto a pacientes corticosensibles ¹³³⁻¹³⁴. La IL-10 se ha relacionado con la resistencia a GC, existiendo trabajos que demuestran que una deficiencia de la misma en pacientes con EC antes de la administración de GC se asocia a corticoresistencia ¹³⁵. En otro estudio en el que se evaluaron un gran número de citoquinas y sus expresiones correlacionadas con la respuesta a GC, se asoció la expresión de IL-10 con una buena respuesta, y la expresión de IL2 a una respuesta deficiente a los mismos ¹³⁶. La IL-2 se ha relacionado además con el aumento de la expresión de GR β , disminución de la translocación del complejo RG-GC hacia el núcleo, y aumento de niveles de AP-1 que ocasiona una interacción anormal con el RG ¹³⁷⁻¹³⁸. La IL-2 y también la IL-4 reducen la afinidad del RG, y la respuesta de las células T a la acción de GC, a través de un mecanismo que involucra la activación a MAPK ¹³⁹. Contrariamente, la presencia de IL-10 facilita que los GC fortalezcan las uniones paracelulares del epitelio intestinal a través de una mayor actividad de MAPK ¹⁴⁰. Otra citoquina relacionada con la corticoresistencia es el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), que es un potente factor pro-inflamatorio capaz de antagonizar los efectos de los GC. Esta citoquina está presente en niveles más elevados en las células mononucleares de la lamina propia de pacientes con CU corticorefractarios ¹⁴¹.

1.2.5.5. Gen de multiresistencia a drogas y bombas de eliminación de fármacos

Las dos principales bombas de eliminación de fármacos a nivel celular son la glicoproteína p-170 (Pgp-170) y el citocromo P450 (CYP). El gen MDR (*multidrug resistance*) o ABCB1 (*ATP binding cassette subfamily B member 1*),

localizado en el cromosoma 7q21.12, codifica para la Pgp-170 (*P-glycoprotein* 170) que funciona como una bomba extractora de diferentes sustratos hacia el exterior de las células ¹⁴². Esta proteína juega un papel importante en la absorción, distribución, y eliminación de aquellos fármacos que son sus sustratos, entre los cuales se encuentran los GC. La Pgp-170 se ha visto altamente expresada en los linfocitos circulantes y células epiteliales de los pacientes con EC y CU resistentes a GC ¹⁴³. Algunos estudios sugieren que polimorfismos en el gen MDR podrían conducir a alteraciones funcionales y variaciones fenotípicas en la expresión de Pgp-170, aunque no se ha logrado vincular estos polimorfismos a la corticoresistencia en la CU ¹⁴⁴. Sin embargo, recientes estudios asocian polimorfismos en este gen a riesgo aumentado de padecer CU y EC, y a corticoresistencia en pacientes con EC ¹⁴⁵.

La CYP3A4 (*cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4*), miembro de la familia citocromo P450, es la responsable del metabolismo de más del 50% de los medicamentos actualmente en uso incluyendo los GC ¹⁴⁶. Muchos sustratos del CYP3A4 también son sustratos de la Pgp-170, y la superposición entre CYP3A4 y Pgp-170 también se destaca por su proximidad genómica ¹⁴⁷. Las variantes genéticas de CYP3A4 podrían desempeñar un papel importante en las diferencias interindividuales de la farmacocinética de los GC.

1.2.5.6. Otros potenciales mecanismos de resistencia a GC

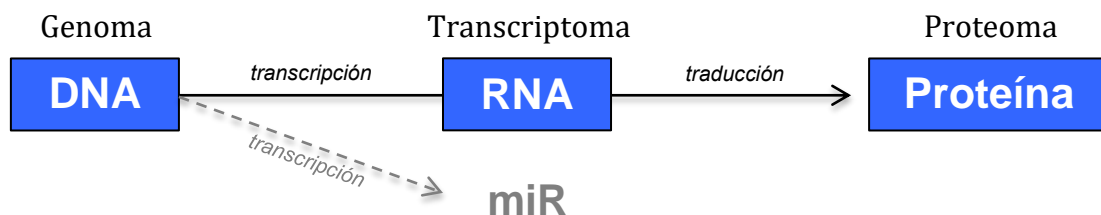
En las últimas décadas se le ha otorgado progresiva importancia a los mecanismos de regulación post-transcripcional de genes entre los que se incluyen los miR. Como veremos a continuación estas moléculas regulan diferentes procesos biológicos entre los que podrían encontrarse la respuesta a diferentes fármacos, y entre ellos los GC.

1.3. El transcriptoma y los microRNA

1.3.1. Generalidades sobre el transcriptoma

Se podría definir al transcriptoma como al conjunto completo de transcritos (RNAm y moléculas de RNA no codificante) presentes en una célula o tejido en un momento concreto. Así como el genoma es la información genética común a todas las células de un organismo, el transcriptoma es la parte de ese genoma que se expresa en una célula en una etapa específica de su desarrollo. Finalmente, la parte de ese transcriptoma que se transcribe a proteína constituye lo que conocemos como el proteoma celular (Figura 4).

Figura 4 – Resumen de sucesos que ocurren del gen a la proteína



A lo largo de la última década, el desarrollo de nuevas tecnologías, han permitido mejorar el estudio de este transcriptoma. Las técnicas actualmente más utilizadas son la *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR), los *microarrays*, o la secuenciación masiva en paralelo o *next generation sequencing* (secuenciación). Como veremos más adelante, todas estas técnicas se han aplicado en los estudios de la presente tesis, y por lo tanto se explicaran de forma más detallada en el capítulo de material y métodos.

El poder estudiar perfiles de transcriptoma tiene numerosas potenciales aplicaciones en la medicina actual, entre las que destacan, el diagnóstico de enfermedades, la clasificación de subfenotipos, el hallazgo de dianas

terapéuticas, o moléculas pronósticas, e incluso la posibilidad de aplicarlo a la predicción de la respuesta a un tratamiento determinado.

La mayoría de estudios vinculados al análisis del transcriptoma provienen del campo de la oncología. Sin embargo, en la última década estos avances tecnológicos comienzan a ser aplicados progresivamente a otras enfermedades, entre ellas la EII. En relación a este punto, se han descrito numerosos genes que muestran su expresión alterada entre los pacientes con EII y controles sanos, muchos de ellos vinculados con la inmunidad innata y adquirida, o vinculados al mantenimiento de la función barrera intestinal, procesamiento de patógenos o inducción de la apoptosis ¹⁴⁸⁻¹⁴⁹⁻¹⁵⁰⁻¹⁵¹⁻¹⁵². Sin embargo, los resultados obtenidos son heterogéneos y, en ocasiones, incluso discordantes, lo que podría explicarse por las diferencias tanto metodológica como de las poblaciones estudiadas.

En cualquier caso, lo que parece estar tomando cada vez mayor relevancia dentro del campo de la transcriptómica, es el estudio de aquellas fracciones de RNA no codificante como los miR, que al parecer podrían ser moléculas incluso más útiles que las los transcritos de RNAm codificante, en lo que se refiere a aplicaciones diagnósticas, pronósticas, y terapéuticas.

1.3.2. Generalidades sobre los MicroRNAs

Hasta hace pocas décadas el estudio del genoma humano estuvo focalizado en aquellos fragmentos de DNA que codifican una proteína, mientras que los fragmentos no codificantes eran considerados poco importantes. A principios de la década de 1990 este paradigma comienza a cambiar gracias a los estudios de Ambros y colaboradores ¹⁵³⁻¹⁵⁴⁻¹⁵⁵. Este grupo de investigadores demostró que algunos fragmentos de DNA no codificantes pueden dar origen a pequeñas moléculas formadas por pocos nucleótidos (nt), que reciben el nombre de miR, con capacidad de modular de forma post-transcripcional la expresión de un gen. El primer miR conocido fue lin-4, descubierto en el

organismo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), y a dicho miR se le atribuye la capacidad de regular la expresión de la proteína lin-14. Años más tarde, se descubrió, también en *C. elegans*, el miR let-7, y desde entonces habiendo transcurrido ya más de dos décadas desde el descubrimiento del primer miR, existen incluidos en el registro miRBase (www.mirbase.org) más de 28.000 miR maduros, de los que más de 2500 corresponden a formas maduras de miR presentes en humanos ¹⁵⁶⁻¹⁵⁷⁻¹⁵⁸⁻¹⁵⁹⁻¹⁶⁰⁻¹⁶¹.

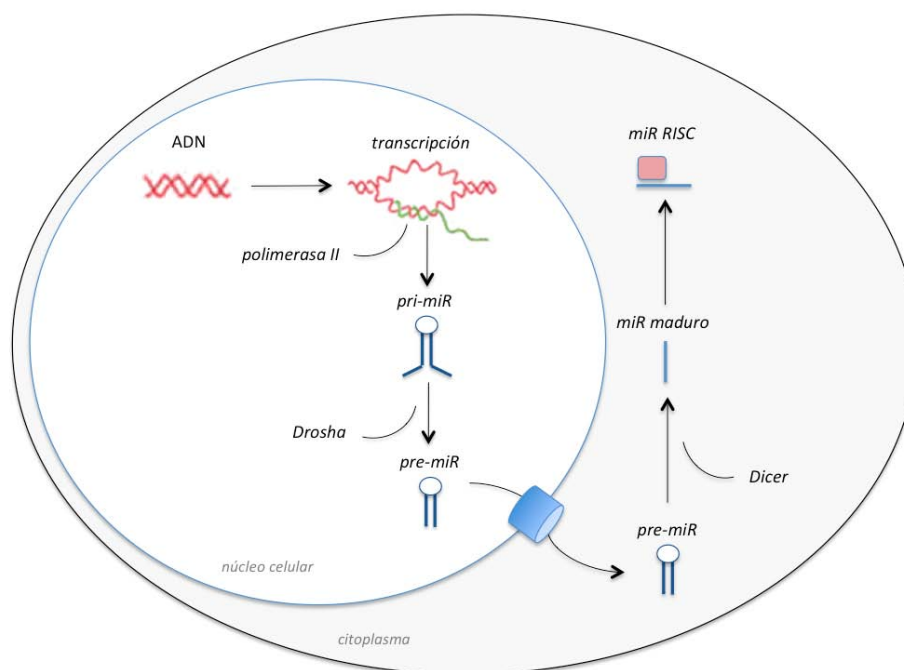
Los miR son moléculas compuestas por entre 18 a 24 nt, y actúan mediante unión por complementariedad a los segmentos 3' UTR (*untranslated región*) de RNAm diana, provocando su inhibición o degradación, y por consiguiente bloqueando la expresión de proteínas ¹⁶²⁻¹⁶³. Pero también se ha postulado que estas moléculas pueden unirse a regiones diferentes del segmento 3'UTR del RNAm, y que incluso podrían estimular la expresión de determinadas proteínas ¹⁶⁴. Se estima que la regulación post-transcripcional mediada por miR afecta aproximadamente al 60% del total del genoma humano que codifica proteínas ¹⁶⁵. Un único miR puede actuar sobre múltiples RNAm, y un mismo RNAm puede estar regulado por múltiples miR ¹⁶⁶⁻¹⁶⁷. En definitiva las interacciones entre RNAm y miR forman una compleja red de regulación post-transcripcional, con capacidad de favorecer o inhibir la expresión de proteínas, participando de esta manera en numerosas actividades biológicas del organismo.

1.3.3. Biogénesis de los miR

Las secuencias de DNA que originan los miR se localizan a lo largo del genoma en regiones intrónicas, exónicas o intergénicas, y se pueden transcribir de forma independiente mediante promotores propios, o conjuntamente con otros genes en el caso de que compartan promotores ¹⁶⁸⁻¹⁶⁹⁻¹⁷⁰. La biogénesis de estas moléculas se inicia con la transcripción inicial desde el genoma de moléculas llamadas “pri-miR”, proceso en el que participa la RNA-polimerasa II. Estas moléculas se localizan en el núcleo celular. La enzima ribonucleasa *Drosha* junto a la proteína *DGCR8/Pasha* (*DGCR8*, *microprocessor complex*

subunit), transforma a los pri-miR en “pre-miR”, formados por aproximadamente 70 nt ¹⁷¹⁻¹⁷². Con la ayuda de la Exportina 5 los pre-miR abandonan el núcleo celular, y son posteriormente metabolizados en el citoplasma por la enzima *Dicer* para terminar formando una molécula de doble cadena de aproximadamente 21 nt ¹⁷³⁻¹⁷⁴. El paso final hacia la formación del miR maduro es la ruptura de esta doble cadena, y la unión de uno de los brazos al complejo proteínico RISC (*RNA induced silencing complex*), a través de un mecanismo no del todo conocido ¹⁷⁵. El complejo “miR-RISC” es el que tiene la capacidad de unirse al RNAm y por ende de modular la expresión proteica ¹⁷⁶. En el Figura 5 se resume la Biogénesis de los miR.

Figura 5 – Biogénesis de los miR



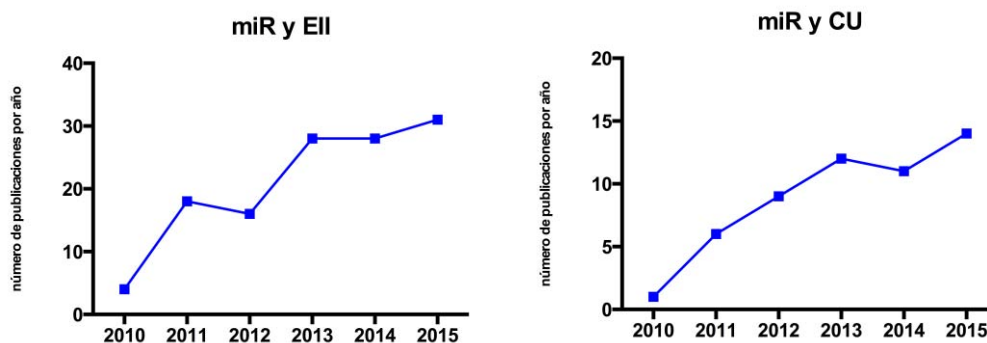
1.3.4. MicroRNA en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal

Los miR participan en importantes funciones celulares del organismo, tales como la diferenciación celular, la proliferación celular, la apoptosis, la

regulación de la inflamación o el desarrollo del cáncer, entre otras ¹⁷⁷⁻¹⁷⁸. Sin embargo, muchos aspectos del sistema de regulación RNAm-miR se desconocen, y aunque ya existen algunos estudios en este sentido, queda por determinar que papel cumplen en la regulación de la respuesta a tratamientos, o la utilidad que pueden suponer en el diagnóstico o pronóstico de determinadas enfermedades.

El aumento del conocimiento del papel de los miR en la inmunidad innata y adquirida se ha conseguido gracias a estudios que asociaron a estas moléculas con enfermedades tales como la psoriasis, artritis reumatoide, asma, lupus eritematoso sistémico, y EII. En este sentido, la participación de los miR en el mantenimiento de la homeostasis inmunológica de la mucosa intestinal, podría desempeñar un importante papel en la patogenia de la EII ¹⁷⁹. Una reciente búsqueda bibliográfica en pubmed utilizando los términos MESH (*medical subjects headings*), “*microRNA*”; “*Inflammatory Bowel diseases*”, y el conector “*AND*”, muestra un total de 122 publicaciones relacionadas a este tema. Si ajustamos la búsqueda a los términos MESH “*microRNA*”; “*colitis ulcerative*”, y el conector “*AND*”, el número de publicaciones se reduce a poco más de 50. El primer estudio sobre el tema se remonta al año 2008, y en él, Wu y colaboradores, reportan la existencia de un perfil diferencial de miR asociado a la CU ¹⁸⁰. Desde entonces el número de trabajos publicado sobre miR en la CU ha ido en aumento, lo que sugiere un interés creciente de estas moléculas en la EII (Figura 6).

Figura 6 – Publicaciones por año relacionadas a miR, EII y CU



Existen varios estudios que describen perfiles de miR en diferentes situaciones clínicas de pacientes con CU, en comparación a controles sanos o pacientes con EC (tabla 6 y 7). Estos estudios muestran resultados dispares, probablemente consecuencia de diferencias en el diseño, técnicas de análisis, metodología utilizada para la normalización de los resultados, o análisis informáticos aplicados. Además se debe tener en cuenta que cada órgano o cada tipo celular tiene características específicas en su transcriptoma, lo que ocasiona que la comparación de resultados de miR con expresión diferencial de muestras de diferentes localizaciones (colon, íleon, plasma), sea difícil de interpretar ¹⁸¹. En otras ocasiones se comparan muestras de una misma localización pero en situaciones clínicas distintas, como por ejemplo pacientes con enfermedad inactiva frente a pacientes en brotes de actividad inflamatoria, por lo que otra variable a tener en cuenta para hacer comparables futuros estudios, será el tener en cuenta el grado de actividad inflamatoria en el momento de la recolección de las muestras.

Tabla 6 – Estudios más relevantes sobre perfiles de miR en sangre realizados en pacientes con CU

Autor (año)	Población estudiada	Muestra	miR diferenciales
Wu (2011) ¹⁸¹	CU activa vs controles sanos	Sangre	miR-505*, miR-28-5p, miR-151-5p, miR-103-2*, miR-199a-5p, miR-340*, miR-362-3p, miR-532-3p, miRplus-E1271
	CU activa vs EC activa	Sangre	miR-505*, miR-28-5p, miR-103-2*, miR-149*, miR-151-5p, miR-340*, miR-532-3p, miRplus-E1153
Paraskevi (2012) ¹⁸²	CU activa vs controles sanos	Sangre	miR-16, miR-21, miR-28-5p, miR-151-5p, miR-155, miR-199a-5p
Dutttagupta (2012) ¹⁸³	CU vs controles sanos	Sangre	miR-188-5p, miR-422a, miR-378, miR-500, miR-501-5p, miR-769-5p, miR-874
Krissansen (2015) ¹⁸⁴	CU y EC activa vs CU y EC inactiva	Sangre	miR-595; miR-1246
Chen (2015) ¹⁸⁵	CU corticosensible vs CU corticoresistente	Sangre	miR-195, miR-874, miR-192, miR-210 and miR-152

Tabla 7 – Estudios más relevantes sobre perfiles de miR en tejido cólico realizados en pacientes con CU

Autor (año)	Población estudiada	Muestra	miR diferenciales
Wu F (2008) ¹⁸⁰	CU activa vs controles	Colon	miR-16, miR-21, miR-23a, miR-24, miR-29a, miR-126, miR-195, miR-Let-7f, miR-192, miR-375, miR-422b
Takagi, et al (2010) ¹⁸⁶	CU activa vs controles	Colon	miRs-21, miR-155
Fasseu, et al (2010) ¹⁸⁷	CU activa vs controles	Colon	miR-7, miR-31, miR-135b, miR-223, miR-29a, miR-29b, miR-126*, miR-127-3p, miR-324-3p, miR-188-5p, miR-25, miR-320a, miR-346
	CU activa vs controles	Colon	miR-196a, miR-29a, miR-29b, miR-126*, miR-127-3p, miR-324-3p, miR-188-5p, miR-25, miR-320a, miR-346
	EC activa vs controles	Colon	miR-9, miR-126, miR-130a, miR-181c, miR-375, miR-26a, miR-29b, miR-30b, miR-34c-5p, miR-126*, 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-3p, miR-150
	CU vs EC inactivos	Colon	miR-150, miR-196b, miR-199a-3p, miR-199b-5p, miR-223, miR-320a
Bian (2011) ¹⁸⁸	CU activa vs controles	Colon	miR-150
Pekow, et al (2012) ¹⁸⁹	CU activa vs controles	Colon	miR-143, miR-145
Coskun M (2013) ¹⁹⁰	CU activa vs CU inactiva, EC y controles	Colon	miR-23a, miR-155, miR-16, miR-150, miR-346, miR-126, miR-20b, miR-99a, miR-203, miR-26b, miR-98, miR-125b-1*, y miR-let-7e*
Van Der Goten (2014) ¹⁹¹	CU activa vs controles	Colon	miR-31-5p; miR-27a-5p; miR-665; miR-363-3p; miR-193b-5p; miR-503-5p; miR-29b-1-5p; miR-1273d; miR-146b-3p; miR-99b-3p; miR-196b-3p; miR-192-3p; miR-141-3p; miR-378a-5p; miR-1973; miR-200a-3p; miR-429; miR-196b-5p; miR-192-5p; miR-10b-5p; miR-215; miR-200b-5p; miR-200a-5p; miR-196a-5p; miR-194-5p; miR-335-5p; miR-10b-3p.
	CU activa vs CU inactiva y controles	Colon	miR-650; miR-223-3p; miR-708-5p; miR-155-5p; miR-150-5p; miR-146b-5p; miR-29b-2-5p; miR-212-3p; miR-584-5p; miR-551b-5p; miR-21-3p, miR-146a-5p; miR-21-5p; miR-let7i-5p; miR-422a; miR-147b, miR-3201, miR-378a-3p, miR-194-3p, miR-378c, miR-375, miR-200b-3p, miR-4284, miR-200c-3p.
	CU activa vs CU inactiva	Colon	miR-424-3p, miR-138-5p, miR-338-5p
Zahm (2014) ¹⁹²	CU vs EC y controles	Colon	miR-192, miR-194, miR-200b, miR-200a, miR-429, miR-141, miR-375, miR-let7b, miR-29c, miR-29a, miR-342-3p, miR-126, miR-16, miR-24, miR-let7i, miR-21, miR-142-3p, miR-142-5p, miR-150, miR-146a, miR-223
Koukos G (2015) ¹⁹³	CU activa e inactiva vs controles	Colon	miR-223, miR-1973, miR-3611, miR-21, miR-3182, miR-877, miR-146b, miR-3646, miR-3173, miR-let7i, miR-892a, miR-224, miR-24-1, miR-424, miR-34a, miR-124, miR-4323, miR-378b, miR-3133, miR-4286, miR-138-1, miR-378a, miR-378a/b/c, miR-4284.

Existen otro tipo de estudios sobre miR en pacientes con CU, llamados funcionales, en los que se vinculan a determinados miR con dianas concretas relacionadas a la EII (tabla 8). Por poner algunos ejemplos se ha asociado a determinados miR con la autofagia, la vía de NF-KB, o la vía de las *tigh junctions*, entre otras. Estas moléculas por lo tanto abren un abanico de posibilidades para aplicaciones diagnósticas y terapéuticas en la EII.

Tabla 8 – Estudios funcionales de interacciones RNAm-miR en EII

Autor (año)	miR de interés	RNAm / Diana
Nguyen (2010) ¹⁹⁴	miR-7	CD98
Brest (2011) ¹⁹⁵	miR-196	IRGM
Xue (2011) ¹⁹⁶	miR-10a	IL-12 / IL-23p40
Feng X (2012) ¹⁹⁷	miR-126	I κ B alfa
Brain (2013) ¹⁹⁸	miR-29	IL-12p40; IL-12p19
Nata (2013) ¹⁹⁹	miR-146b	siah2
Chen B (2013) ²⁰⁰	miR-19a	TNF alfa
Chen Y (2013) ²⁰¹	miR-200b	TGF beta
Koukos (2013) ²⁰²	miR-124	STAT3
Shi (2013) ²⁰³	mir-21	RhoB
Yang Y (2013) ²⁰⁴	mir-21	RhoB
Ludwig K (2013) ²⁰⁵	miR-21	PDCD4
Zhai (2014) ²⁰⁶	miR-142-3p	ATG16L1
Lu (2014) ²⁰⁷	miR106B; miR93	ATG16L1
Chuang (2014) ²⁰⁸	miR-192; miR-495; miR-512; miR-671	NOD2
Singh (2014) ²⁰⁹	miR-155	Th17
Wu (2014) ²¹⁰	miR-21	Th1
Nguyen (2014) ²¹¹	miR30c; miR-130a	ATG5; ATG16L1
Wang H (2014) ²¹²	miR-210	HIF1A
Van Der Goten (2014) ¹⁹¹	miR-200c-3p	IL-8; CDH11
Lv B (2014) ²¹³	miR-29a	Mcl-1
Min M (2014) ²¹⁴	miR-155	FOXO3a
Chen G (2015) ¹⁸⁵	miR-195	Smad7

El sistema RNAm-miR puede verse afectado también, por un Polimorfismo de nucleótido único o *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), que puede ocasionar alteraciones de sus funciones regulatorias²¹⁵. Un SNP se define como una variación en la secuencia de bases de un gen que se produce entre individuos de una misma población con una frecuencia de al menos el 1% en la población general. Dependiendo del sitio del gen en el que se produzca el SNP se pueden producir desde alteraciones en la expresión hasta cambios funcionales de dicho gen. Cada vez más estudios muestran la presencia de algunos SNP en miR con diferentes consecuencias. Okubo y colaboradores investigaron la asociación de 3 SNP (rs11614913, rs2910164, and rs3746444) de los miR-196a2, miR-146a, y miR-499 respectivamente, con la EII. Encontraron que el SNP rs3746444 AG en el miR-499 se asocia a mayor número de hospitalizaciones, dependencia a esteroides y refractariedad a tratamientos médicos, en comparación al polimorfismo AA.

Por otro lado, el SNP rs1161913 TT en el miR-192a2 se encontró asociado a un riesgo significativamente aumentado de padecer refractariedad al tratamiento médico ²¹⁶. En otro estudio, Gazouli y colaboradores evaluaron la asociación de los SNP rs2910164 y rs11614913 de los miR-146a y miR-196a2 respectivamente, con el riesgo de padecer EII. Asociaron al SNP rs2910164 con la susceptibilidad a desarrollar EC, pero no CU. Además reportaron una posible asociación entre el polimorfismo rs11614913 y un efecto protector contra la CU ²¹⁷. Brest y colaboradores encontraron que la sobreexpresión de miR-196 en células del epitelio intestinal de pacientes con EC activa se correlacionaba con una infra expresión de IRGM (*immunity related GTPasa M*) pero no con una de sus variantes (IRGMT) que casualmente se asocia a EC en la población Europea ¹⁹⁵. En un estudio similar Zwiers y colaboradores detectaron que mutaciones en el gen IL-23R se asocian a pérdida de la capacidad de unión con el miR-let7e y let-7f, lo que produce una expresión sostenida de IL-23R que contribuye a la cronicidad de la EII. Todos estos estudios demuestran que pequeñas modificaciones en las regiones de interacción RNAm-miR pueden asociarse con cambios en la expresión de dichos genes y contribuir en la patogenia de la EII ²¹⁸.

Existe cada vez más interés por conocer el rol que podrían desempeñar los miR en la respuesta a determinados fármacos en la CU, entre ellos los GC. Recientemente se ha publicado algún estudio en esta línea ¹⁸⁵, aunque queda mucho por explorar para determinar todo lo que pueden ofrecernos estas moléculas en la valoración de la respuesta a los GC, y en la comprensión de los mecanismos asociados a la refractariedad.

Antecedentes

2. ANTECEDENTES

La CU es una enfermedad crónica inflamatoria intestinal compleja, con una incidencia en aumento en nuestro medio, que afecta fundamentalmente a personas en edad económicamente productiva. Debido a la necesidad de ingreso hospitalario, y la disponibilidad de nuevos tratamientos, el manejo de los brotes de actividad moderada a grave representa un importante coste sanitario. A ello deben sumarse los costes indirectos derivados de la realización de exploraciones, monitorización y bajas laborales. Sin embargo, a diferencia de la EC, en la CU la utilización de los agentes biológicos, no suele depender de factores pronósticos de mala evolución sino única y exclusivamente de la respuesta a GC sistémicos, siendo la corticorefractariedad y la corticodependencia las indicaciones aceptadas. Es por este motivo que la irrupción de estos fármacos no han relegado a los GC sistémicos, que siguen siendo el fármaco de primera línea en los brotes de actividad moderada o grave de CU. Sin embargo, los GC sistémicos presentan dos limitaciones importantes en la práctica clínica. Primero, un elevado porcentaje de pacientes presentará una respuesta inadecuada a los mismos. Segundo, su uso se ha asociado repetidamente a una elevada tasa de efectos colaterales, siendo especialmente preocupante el incremento en el riesgo de infecciones. Por estas razones es de crucial importancia identificar de forma precoz a aquellos pacientes que no van a responder a los GC sistémicos para evitar una exposición innecesaria a los mismos.

Poco se conoce acerca de los mecanismos que conducen a la falta de respuesta adecuada a GC en la CU y hasta la fecha somos incapaces de identificar, antes de iniciar el tratamiento, a aquellos pacientes que no van a responder a los mismos. Sabemos que no se trata de una característica constante en el tiempo, debido a que la respuesta en un mismo paciente puede cambiar de un brote y otro, lo que hace suponer que esta condición no depende de mecanismos determinados en la secuencia del genoma.

La base genética de la CU se conoce desde el siglo pasado, a partir de estudios con gemelos antes citados. Desde entonces se han realizado

numerosos estudios orientados a identificar alteraciones en el DNA asociadas al desarrollo de CU. Hasta la fecha se han identificado numerosos *loci* de susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad ya comentados en capítulos anteriores, y con la aparición de técnicas de análisis masivo se han realizado estudios del genoma completo (*Genome Wide Association*) que han permitido identificar polimorfismos asociados a una mayor susceptibilidad para padecer CU. Si bien el estudio genómico de la CU ha sido extenso, los trabajos que abordan el estudio del transcriptoma son escasos, y los resultados obtenidos heterogéneos y discordantes, lo que podría explicarse, como hemos comentado, por la heterogeneidad tanto metodológica, como de las poblaciones estudiadas.

Hasta ahora la genómica clásica consideraba al RNA como un intermediario entre la secuencia del DNA y la proteína (efectora funcional). Sabemos que el RNA incluye distintas formas, cada una de ellas con funciones específicas. Los miR son RNA de pequeño tamaño con capacidad de regular la expresión de un gen a través de la inhibición o degradación de RNAm diana. Se han descrito perfiles de miR que permiten distinguir y catalogar distintas enfermedades neoplásicas, grados de malignidad tumoral e incluso pueden servir como predictores pronósticos del tumor y de su respuesta al tratamiento quimioterápico ²¹⁹⁻²²⁰. Por su parte en la EII, hemos comentado que existen descritos perfiles de miR que permiten diferenciar CU y EC entre si, y frente a controles, y hasta la fecha existe publicado tan solo un estudio orientado al estudio de perfiles diferenciales de miR en plasma asociados a refractariedad a GC en pacientes con CU ¹⁸⁵. De nuestro conocimiento no existe publicado ningún trabajo diseñado para el estudio del transcriptoma completo de tejido cólico de pacientes con CU activa tratados con GC respondedores y refractarios al tratamiento, y en el que se obtengan muestras en diferentes momentos del tratamiento. Algunos datos sugieren que son justamente los mecanismos implicados en la regulación de la expresión génica los que podrían influir en el desarrollo resistencia a GC, y es en este sentido que nuestro grupo de trabajo ha demostrado que aquellos pacientes con EII, que al

inicio del tratamiento esteroideo, no expresan RNAm para IL10 presentan una menor probabilidad de respuesta al fármaco ¹⁴⁰.

La presente tesis doctoral pretende profundizar en los mecanismos moleculares que intervienen en la refractariedad a GC sistémicos en pacientes con CU a través del estudio del transcriptoma completo (RNAm y miR) en muestras de tejido cólico recogidas antes de iniciar el tratamiento con GC sistémicos y durante el mismo.

La complejidad de las acciones moleculares desencadenadas por los GC, resulta en una cierta dispersión sobre el conocimiento actual, y en una imprecisión sobre el mecanismo de acción relacionado con su fracaso terapéutico. El abordaje “ómico” aporta un nuevo punto de vista a los estudios genéticos tradicionales. En enfermedades multifactoriales como la CU cuya actividad inflamatoria proviene tanto de componentes genéticos como ambientales, el estudio del transcriptoma representa un reflejo funcional de la expresión genética. A la vez, el estudio complementario de las interacciones RNAm-miR podrían ayudar a definir mecanismos de acción que están actuando en un momento dado de la evolución de la enfermedad.

Con estas premisas, un detallado estudio del transcriptoma cólico debería aportar una nueva perspectiva molecular a una complicación de la CU que se manifiesta de forma imprevisible y repercute seriamente en el manejo de la enfermedad, la corticorefractariedad en la CU.

Hipótesis

3. HIPOTESIS

Existe un perfil diferencial en el transcriptoma (RNAm - miR) de la mucosa cólica de pacientes con brotes moderados o graves de CU respondedores y refractarios a GC sistémicos, que permite identificar basalmente los individuos que van a responder, y caracterizar el mecanismo de acción del fracaso a los GC en la CU.

Objetivos

4. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente estudio es confirmar la existencia de distintos perfiles en el transcriptoma de tejido cólico (RNAm - miR) asociados a una respuesta adecuada a GC sistémicos en pacientes con brotes moderados y graves de CU.

Los objetivos secundarios son caracterizar el efecto inmediato de los GC sobre el transcriptoma de tejido cólico, identificar interacciones funcionales entre RNAm - miR, y caracterizar el mecanismo de acción relacionado con la adecuada e inadecuada respuesta a los GC sistémicos en la CU.

Material y Métodos

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional y prospectivo, realizado sobre una cohorte hospitalaria de pacientes con diagnóstico de CU en brote de actividad moderada o grave, tratados con GC sistémicos. Para realizar este estudio se obtuvo la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTiP). El estudio contó con la participación de tres centros: el HUGTiP, el Hospital Universitario La Fe de Valencia (LaFe), y la Empresa CIC-Biogune de Bizkaia (CIC-B).

5.2. Selección de individuos

Desde julio de 2011 hasta julio de 2013 se incluyeron en el estudio aquellos pacientes con brotes moderados o severos de CU tributarios de tratamiento con GC sistémicos visitados en el servicio de Aparato Digestivo del HUGTiP. En la tabla 9 se resumen los criterios de inclusión y exclusión del estudio. El objetivo inicial fue incluir 35 pacientes con CU activa, o en su defecto el mayor número de casos posibles hasta agotar el periodo de reclutamiento de 2 años.

Durante el mismo periodo de tiempo se incluyeron controles sanos visitados en el Servicio de Aparato Digestivo de LaFe. Se seleccionaron como controles sanos a individuos que acudieron a realizarse una colonoscopia por diferentes motivos a la Unidad de Endoscopia de dicho centro y en los que no se encontró patología cólica alguna durante el procedimiento. En la tabla 10 se resumen los criterios de inclusión y de exclusión de los controles sanos. El objetivo inicial del estudio fue incluir 10 controles sanos, o en su defecto el máximo número de controles sanos posibles hasta agotar el periodo de reclutamiento de 2 años.

Tabla 9 – Criterios de inclusión y exclusión de pacientes con CU

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Mayor de 18 años	Alergia a GC
Diagnóstico de certeza de CU	GC sistémicos en el último mes
CU activa por criterios clínicos y endoscópicos	CsA o IFX en los últimos 3 meses
Brote de actividad moderado o severo	Mujeres embarazadas
CU distal o extensa	Pacientes colectomizados
Consentimiento informado firmado	

Tabla 10 – Criterios de inclusión y exclusión de controles sanos

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Mayor de 18 años	Antecedente personal de enfermedad colorectal
Colonoscopia sin hallazgos patológicos	Antecedentes personal de neoplasia conocida
Consentimiento informado firmado	Antecedentes familiares de EII
	GC sistémicos en el últimos mes
	Mujeres embarazadas

5.3. Valoración, seguimiento y recolección de muestras

5.3.1. Individuos con CU activa

La evaluación clínica y el seguimiento de los individuos con CU activa incluidos fue realizado por médicos de la Unidad de EII del Servicio de Aparato Digestivo del HUGTiP. Se realizaron un total de 3 visitas; 1) visita antes de iniciar el tratamiento (basal); 2) visita al 3º-5º día de tratamiento GC (3º día); 3) visita al 7º día de tratamiento (7º día).

En la visita basal se registraron datos epidemiológicos y datos relativos al brote de CU (clínicos, biológicos) y, a todos los individuos, se les realizó un estudio endoscópico (rectosigmoidoscopia o colonoscopia) con toma de biopsias de áreas de mucosa cólica macroscópicamente afectada para su estudio anatomopatológico, y para el estudio del transcriptoma. Posteriormente a la toma de muestras se inició, en todos los pacientes, tratamiento con GC sistémicos. La pauta de GC (principio activo y vía de administración) se decidió en función de la gravedad del brote de CU y las características de cada individuo (Tabla 11).

Tabla 11 – Pautas de tratamiento con GC sistémicos utilizadas

Gravedad	Tipo de GC	Vía de administración	Dosis
Brote moderado	Prednisona	Oral	1 mg/Kg/día
Brote grave	Metilprednisolona	Endovenosa	0,8 mg/Kg/día

* ambas estrategias recibieron calcio y vitamina D

Se aceptó como tratamiento concomitante el uso mesalazina y/o de tiopurinas, éstas últimas siempre que el paciente las estuviera recibiendo de forma previa al brote índice. En caso de estar recibiendo GC de acción local, este se suspendió al menos 24h antes del momento de la inclusión, y en estos casos se tomaron biopsias de segmentos proximales.

En la valoración del 3º día se registraron datos relativos al brote de CU (clínicos y biológicos), y se les realizó una nueva endoscopia (rectosigmoidoscopia o colonoscopia) con toma de biopsias de áreas de mucosa cólica macroscópicamente afectada, para su estudio anatomopatológico, y para el estudio del transcriptoma. En aquellos individuos en los que en esta valoración se detectaron criterios de mala respuesta, se les inició terapia de rescate (CsA o IFX). Los criterios de mala respuesta a GC aplicados fueron, tener más de 8 deposiciones diarias, o entre 3 y 8 deposiciones diarias junto a una PCR > 45 mg/L en el momento de la valoración.

La tercera valoración de los pacientes con CU incluidos fue realizada al 7° día de tratamiento con GC sistémicos. En dicha visita se registraron datos relativos al brote de CU (clínicos y biológicos), y basándonos en ellos se clasificó a los pacientes en, **a)** Respondedores a GC sistémicos (Re), aquellos con enfermedad inactiva o actividad leve según la clasificación de Montreal y que no hubieran necesitado de tratamiento de rescate hasta ese momento; o **b)** Refractarios a GC sistémicos (noRe), aquellos con actividad moderada o grave según la clasificación de Montreal, o que hubieran recibido tratamiento de rescate antes de dicho plazo. En la tabla 12 se resumen los procedimientos realizados durante cada una de las visitas realizadas a lo largo del estudio.

Tabla 12 - Procedimientos realizados en las diferentes visitas del estudio

Parámetro valorado	Basal	3° día	7° día
Historia clínica y examen físico	√	√	√
Estudio de laboratorio	√	√	√
Estudio endoscópico y obtención de muestras de tejido	√	√	
Valoración de criterios de mala respuesta a GC		√	
Valoración del tipo de respuesta a GC (Re o noRe)			√

5.3.2. Individuos controles sanos

La evaluación clínica y el seguimiento de los controles sanos (controles) fue realizada por médicos del Servicio de Aparato Digestivo de LaFe. Durante dicha visita se registraron datos epidemiológicos y clínicos de cada sujeto. Además, a todos los controles se les realizó una colonoscopia durante la que se tomaron biopsias cólicas para estudio anatomopatológico y para estudio del transcriptoma.

5.3.3. Confección de los grupos del estudio

En base al tipo de respuesta obtenida al 7º día (Re o noRe), y al momento temporal de la toma de biopsias (basal o 3º día), se conformaron 5 grupos, que se resumen en la tabla 13.

Tabla 13 – Grupos del estudio

Grupo (G)	Descripción	Abreviatura
Grupo 1 (G1)	Controles sanos (individuos sin CU)	Control
Grupo 2 (G2)	CU respondedores antes de iniciar GC	Re basal
Grupo 3 (G3)	CU refractarios antes de iniciar GC	noRe basal
Grupo 4 (G4)	CU respondedores entre el 3º y 5º día de GC	Re 3º día
Grupo 5 (G5)	CU refractarios entre el 3º y 5º día de GC	noRe 3º día

5.4. Recolección y almacenamiento de las muestras

Siempre que fue técnicamente posible, se recogieron un total de 6 biopsias de colon durante el estudio endoscópico que fueron almacenadas en función del objetivo, de la siguiente manera, **a)** 2 biopsias se incluyeron en formol para estudio anatomopatológico; **b)** 2 biopsias se incluyeron en líquido RNA-*later* durante 24h y luego se congelaron a - 80° C, para el estudio del transcriptoma; y, **c)** 2 biopsias se congelaron gradualmente en compuesto OCT (*Optimal Cutting Temperatura*) mediante baño en hielo seco junto a 2-metilbutano/acetona para preservar epítomos. Estas últimas biopsias no fueron utilizadas para el presente estudio.

5.5. Homogenización de las muestras, extracción del RNA, extracción de las proteínas, y comprobación de la calidad de las muestras

Se utilizaron las biopsias cólicas pre-tratadas con RNA-*later* y almacenadas a - 80° C para el estudio del transcriptoma. Para extraer el RNA y las proteínas de estas muestras, el primer paso fue su homogenización con el sistema

GentleMACS™ Dissociator (Miltenyi Biotec S.L., España). Una vez homogeneizadas se obtuvieron tres fases: **a)** Fase acuosa superior que corresponde al RNA; **b)** Interfase que corresponde al DNA; y **c)** Fase inferior que corresponde a las proteínas. Para completar la extracción del RNA se utilizó un *kit de Qiagen (miRNeasy Mini Kit de Qiagen)* que permite recuperar pequeños RNA, siguiendo las indicaciones del fabricante. Tras recuperar el RNA de cada muestra se comprobó su integridad con el bioanalizador *EXPERION (Bio-Rad, USA)*. Las muestras con un *RNA integrity number (RIN)* superior a 6 se utilizaron en las siguientes fases del estudio. En el anexo 1 se explica de forma más detallada el protocolo utilizado para la extracción del RNA y de las proteínas.

5.6. Análisis de las muestras y estudios experimentales realizados

5.6.1. Secuenciación de miR

Las muestras con un RIN superior a 6 fueron enviadas a la empresa CIC-B para el estudio de miR mediante secuenciación masiva en paralelo (*next generation sequencing*). Esta técnica permite la secuenciación simultánea de miles de fragmentos de DNA o RNA. En nuestro caso partiendo de fragmentos de RNA se formaron bibliotecas, previo paso a DNA complementario (cDNA), para posteriormente secuenciar dichas moléculas. Tras la secuenciación, el resultante de lecturas se alinea con un genoma de referencia para producir un mapa de transcripción que consiste en el nivel de expresión de cada miR. Las ventajas de esta técnica es que no se limita a la detección de transcritos que corresponden a la secuencia genómica existente. Permite revelar variaciones de secuencia (por ejemplo, SNP) en las regiones transcritas, y ofrece un rango dinámico amplio entre los niveles de expresión sobre los cuales se pueden detectar las transcripciones, con un alto grado de reproducibilidad. En nuestro caso las bibliotecas se prepararon utilizando el *kit TruSeq Small RNA Sample*

(Cat. N° RS-200-0012, Illumina Inc.) siguiendo la guía *TruSeq® RNA* de *Illumina Inc.* Los resultados obtenidos se procesaron mediante el *software CASAVA1.8.2* de *Illumina* y se pasaron a formato *FASTq*. Este formato permite almacenar una secuencia de nucleótidos y su correspondiente puntuación. Mediante el sistema *sRNAbench* se detectaron todas aquellas lecturas secuenciadas que coincidieran con secuencias de miR humanos (*hsa-miR*) conocidos ya registrados en *miRBase*. Además el sistema *sRNAbench* permite encontrar coincidencias con otras librerías de secuencias transcritas, y también predecir nuevos miR. Con los resultados obtenidos se construyeron tablas con los recuentos de cada uno de los miR presentes en las muestras de cada uno de los pacientes de los diferentes grupos.

5.6.2. Microarrays para el estudio del transcriptoma de las muestras

De manera similar las muestras con elevado RIN se utilizaron para el estudio del transcriptoma completo mediante la técnica de *microarray*. Esta técnica está basada en la fijación de sondas (que representan los genes), sobre un sustrato sólido (cristal, plástico), expuesto a moléculas diana (muestra a estudio). El nivel de hibridación entre la sonda específica y la molécula diana se indica generalmente mediante fluorescencia y se mide por análisis de imagen, indicando el nivel de expresión del gen correspondiente a la sonda en la muestra que se está estudiando. En nuestro estudio se utilizó el *kit Human HT-12 Expresión v4.0 BeadChip* de *Illumina*, que permite el estudio de 12 muestras por chip y más de 47000 transcriptos por muestra (RNAm y miR). La técnica utilizada incluye la síntesis de cRNA mediante el *kit TargetAmp™ Nano-g™ biotina-ARNa Labeling Kit* de *Illumina®* (cat.num. TAN07924). La posterior amplificación, e hibridación se realizó de acuerdo al protocolo *Whole-Genome Gene Expression Direct Hybridization* *Illumina Inc.* Los datos brutos se extrajeron con el *software GenomeStudio* (*Illumina Inc.*), y posteriormente analizados mediante el *lumi Bioconductor Package* ²²². Se compararon los grupos mediante el *limma package* de *Bioconductor* para determinar aquellos RNAm y miR diferencialmente expresados ²²³.

5.6.3. Validación del resultado del microarray mediante real time Polymerase Chain Reaction

Se seleccionó un grupo de RNAm diferencialmente expresados en el estudio de microarray para su validación mediante *RT-PCR*. Esta técnica se utiliza para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la amplificación, que en nuestro caso fue el DNAc, de hebra simple, obtenido por retrotranscripción de RNA. Se utilizó para ello *TaqMan® Assays* (*Life Technologies*, USA). Los ciclos térmicos se realizaron utilizando el sistema *LightCycler480* (*Roche Diagnostics, Switzerland*). Se utilizaron para la validación del microarray muestras de todos los grupos (G1 a G5), y en dichas muestras se determinó mediante RT-PCR el nivel de los RNAm seleccionados. Los resultados de la RT-PCR obtenidos se correlacionaron con los resultados del microarray mediante un análisis estadístico de regresión lineal utilizando *IBM-SPSS* versión 22. El protocolo detallado de la metodología utilizada para realizar la RT-PCR se especifica en el anexo 2.

5.7. Procesamiento de los resultados

5.7.1. Software y criterios estadísticos aplicados

Para el análisis estadístico y la comparación de las variables epidemiológicas, clínicas, y biológicas basales de los pacientes con CU se utilizó el *software IBM-SPSS* versión 22 (*SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU*). Los datos se expresan en valor absoluto (tabaquismo, subíndice de mayo), media (sexo, extensión de la CU, AZA previa, GC previos, gravedad del brote de CU), media y rango (edad, valor de PCR). Se utilizaron los *test* de *Chi-cuadrado* para variables dicotómicas, y *t* de *Student* para variables continuas. Se considero diferencia estadísticamente significativa una $p < 0,05$. El *software IBM-SPSS* también fue

utilizado para realizar *test* estadísticos de regresión lineal y correlación de Pearson con datos del *microarrays* y RT-PCR, así como con datos de la secuenciación, *microarrays*, y *Western Blot* (WB).

Los *software* utilizados para la comparación de los resultados de la secuenciación de miR fueron los programas *Empirical Analysis of Digital Gene Expression Data in R (EDGER)* y *Differential gene expression analysis based on the negative binomial distribution (DESeq2)*. Se definió como expresión diferencial de un miR, una *False discovery Rate* (FDR) < 0,05, junto a un logaritmo de *fold change* (Log2FC) > 1 o < -1.

En el caso de los resultados del *microarrays*, el *software* utilizado para comparar los datos fue el programa *Linear Models for Microarray Data (limma) Bioconductor package*, y se estableció como diferencial a aquel transcripto con FDR < 0,05, junto a un *fold change* (FC) > 1,5 o < -1,5.

5.7.2. Comparaciones realizadas

Con el objetivo de responder a la hipótesis planteada se compararon los resultados de la secuenciación y del *microarrays* entre los diferentes grupos del estudio (tabla 14).

Tabla 14 – Comparaciones realizadas

Comparación (C)	Descripción
Comparación A	Control vs Re basal
Comparación B	Control vs noRe basal
Comparación C	Re basal vs noRe basal
Comparación D	Re basal vs Re 3º día
Comparación E	noRe basal vs noRe 3º día
Comparación F	Re 3º día vs noRe 3º día

5.8. Estudios *in silico* a partir de los datos experimentales obtenidos

Posiblemente los datos más importantes del estudio sean los resultados del perfil diferencial de miR y RNAm obtenidos tras el estudio mediante secuenciación y *microarrays*. Sin embargo, en un intento de profundizar y explorar estos resultados, se decidió realizar un estudio *in silico*, siempre teniendo muy presente que se basan en proyecciones teóricas y que necesariamente deberán ser confirmadas en el futuro mediante nuevos estudios experimentales. Para organizar el método exploratorio *in silico*, se establecieron criterios de búsqueda bien definidos que se detallan a continuación.

5.8.1. Búsqueda de dianas potenciales de los miR diferenciales

Se utilizaron las plataformas *online Target Human Scan 6.2* (THS) ²²⁴ y *miR Data Base* (miRDB) ²²⁵⁻²²⁶⁻²²⁷⁻²²⁸, para la búsqueda de potenciales RNAm dianas de los miR diferenciales de la secuenciación. Las mencionadas plataformas ofrecen la posibilidad de filtrar las dianas según diferentes criterios. En nuestro caso el criterio de filtro utilizado en THS fue el de seleccionar aquellas dianas que interactúan con 7 u 8 nt de la *seed region* del miR. La *seed region* hace referencia a los nt de las posiciones 2 a 8 del miR, y es considerada presumiblemente como la región con mayor probabilidad de interacción con los RNAm. Se entiende que a mayor número de coincidencia entre los nt de la *seed region* del miR con el RNAm, existe mayor probabilidad y potencia en dicha interacción. En la plataforma miRDB el filtro utilizado fue seleccionar a aquellos miR con un índice de miRDB > 50. Dicho índice está basado en un algoritmo computacional que considera como interacción RNAm-miR altamente probable, un índice > 80. En nuestro caso se decidió reducir el nivel de exigencia para aumentar el número de dianas potenciales, debido a la intención exploratoria y no restrictiva de esta fase del estudio.

5.8.2. Búsqueda de vías enriquecidas a partir de las dianas potenciales

Utilizando las listas de dianas potenciales obtenidas de THS y miRDB se estudiaron, *in silico*, vías potencialmente enriquecidas. Para ello se utilizó la herramienta informática *GeneCodis*, que permite el análisis funcional de una lista de genes mediante la integración de diferentes fuentes de información, y encuentra patrones de anotaciones relacionadas entre sí ²²⁹⁻²³⁰⁻²³¹. Este enfoque integrador ofrecido por *GeneCodis* ha demostrado ser útil para la interpretación de grandes fuentes de datos. Entre las diferentes posibilidades que ofrece esta plataforma se encuentra la de estudiar las vías de señalización *KEGG Pathways (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathways)* que están enriquecidas. Se utilizó esta opción para estudiar las vías enriquecidas utilizando las dianas de cada miR de forma individual, y también utilizando las dianas de forma conjunta de todos los miR diferenciales de Re por un lado, y todos los miR diferenciales de noRe por otro.

5.8.3. Búsqueda de miR a partir de dianas potenciales (Reversión del sistema)

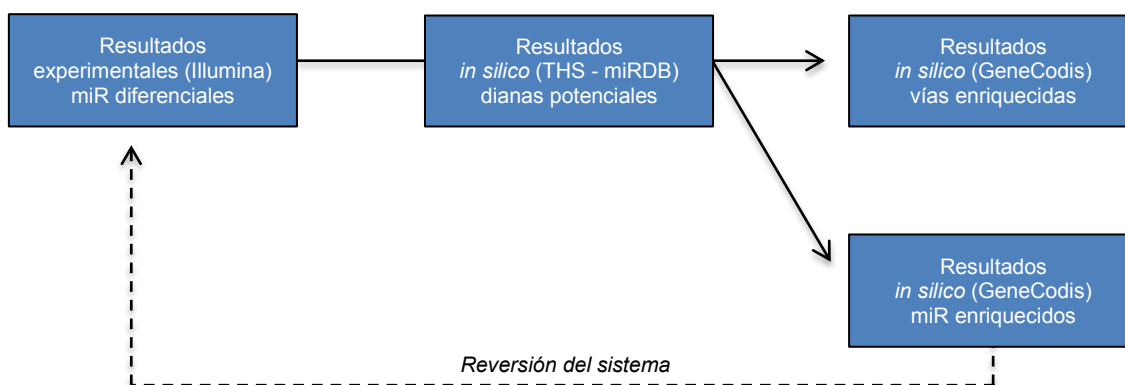
Utilizando las listas de dianas potenciales obtenidas a partir de THS y miRDB se estudiaron, *in silico*, aquellos miR que podrían estar vinculados a ellas. Para ello se utilizó otra función de la plataforma *GeneCodis* que permite conocer los miR estadísticamente enriquecidos a partir de un grupo de genes. Se consideró como una reversión del sistema positiva cuando el miR inicial (obtenido de la secuenciación) apareció entre los 3 principales miR enriquecidos con *GeneCodis*, y reversión negativa cuando esto no sucedió.

5.8.4. Vías y genes asociados a los RNAm diferenciales del *microarrays*

Se utilizó la herramienta informática *KEGG pathway database* para la búsqueda de vías de señalización asociadas a los RNAm diferencialmente

expresados del estudio de *microarrays* ²³²⁻²³³. Se elaboraron listas con los genes directamente asociados a ellos en su *upstream* o *downstream* directo.

Figura 7 – Resumen de los estudios *in silico* a partir de los resultados de la secuenciación de miR

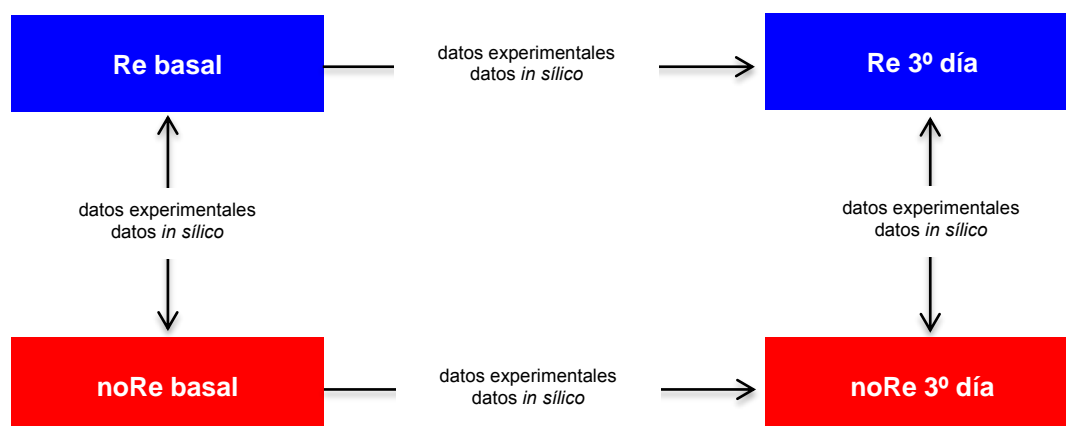


5.8.5. Integración de los datos obtenidos del estudio in silico

Tomando como punto de partida los RNAm diferenciales del estudio de *microarrays* o genes directamente asociados a ellos (*up* o *downstream*), se buscaron coincidencias de interacciones tanto validadas como potenciales entre dichos RNAm, y los miR diferenciales de la secuenciación. Una interacción RNAm-miR validada corresponde a aquella para la que existen estudios experimentales que la corroboren, y se utilizó para detectar estas interacciones la plataforma *miRWALK* ²³⁴. Por otro lado, una interacción RNAm-miR potencial corresponde a aquella que se supone posible por la complementariedad de nt entre el RNAm y el miR, pero para la que no existen aún estudios experimentales que la corroboren. Se utilizó para detectar estas interacciones las ya conocidas THS 6.2 y miRDB.

A través de este trabajo de integración de datos experimentales e *in silico* se busca poder generar modelos de respuesta a GC potenciales para Re y noRe a GC sistémicos (Figura 8).

Figura 8 – Integración de datos y modelos de respuesta a GC



5.9. Estudio de la expresión proteica mediante *Western Blot*

Se seleccionaron los RNAm diferencialmente expresados de los modelos de respuesta generados, y se determinó su nivel de expresión mediante técnica de WB. Se priorizaron aquellas muestras que correspondieran a individuos de los que dispusiéramos de muestras apareadas (basales y 3º día), y aquellos de los que tuviéramos datos de secuenciación y *microarrays*.

El WB es una técnica utilizada para detectar proteínas en una muestra determinada mediante electroforesis en gel con lo que se separan las proteínas a partir de su peso molecular o estructura, que luego son transferidas a una membrana adsorbente desde donde se busca la proteína de interés con anticuerpos específicos contra ella. Lo que se detecta finalmente es la unión antígeno-anticuerpo por actividad enzimática o fluorescencia. En nuestro caso para realizar el WB se utilizó la fracción proteica que había sido separada de las muestras durante la extracción del RNA (anexo 1).

El objetivo de estudiar las muestras mediante WB, y determinar el nivel de expresión de proteínas, fue darle sustento a los hallazgos experimentales e *in silico*, y solidez a los modelos generados. El protocolo completo de la metodología utilizada para realizar el WB se detalla en el anexo 3.

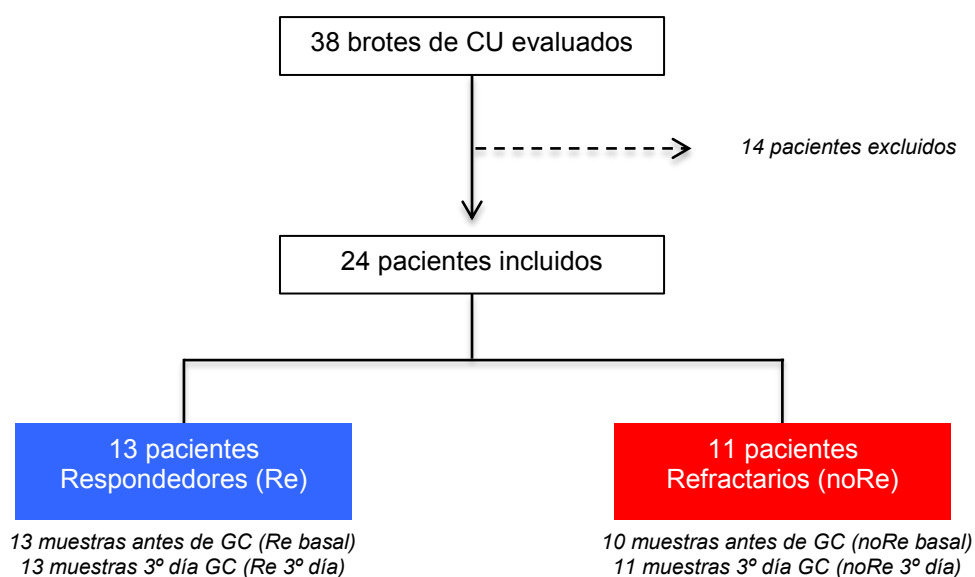
Resultados

6. RESULTADOS

6.1. Pacientes incluidos

Entre julio de 2011 y julio de 2013, se evaluaron para su inclusión, 38 individuos con brotes de actividad de CU que acudieron a la Unidad de EII del HUGTiP. De todos ellos 14 individuos fueron excluidos por no cumplir criterios para el inicio de GC sistémicos. Los otros 24 pacientes fueron incluidos, y a ellos se les tomaron muestras de tejido cólico basales y al 3º de tratamiento con GC sistémicos. Posteriormente al 7º día de tratamiento, se clasificó a 13 pacientes como Re y a 11 pacientes como noRe a GC sistémicos (Figura 9).

Figura 9 - Diagrama de flujo de inclusión de pacientes y recogida de muestras



Al comparar las principales variables epidemiológicas y clínicas entre los grupos Re y noRe, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en aquellas variables asociadas a la gravedad del brote (índice de Montreal basal y PCR basal), y ausencia de diferencias en el resto de variables comparadas.

En la tabla 15 y 16 se resumen las principales características de cada uno de los grupos, teniendo en cuenta todos los pacientes incluidos, o sólo aquellos a los que se les estudió al menos una muestra mediante secuenciación y/o microarrays.

Tabla 15 – Características basales de todos los pacientes con CU incluidos

Variable	Re (n=13)	noRe (n=11)	(p)
Edad (años)	44 (22 – 83)	47 (26 – 82)	0,72
Mujeres (%)	30,8	54,5	0,22
Tabaquismo (no – si – ex fumador)	4 – 3 – 5	6 – 1 – 4	0,47
CU extensa (%)	86,6	72,7	0,41
AZA ^(a) previo al brote (%)	23	9	0,57
GC ^(b) en brotes previos (%)	53,8	63,6	0,47
Brote actual grave (%)	7,7	54,5	0,01
Endoscopia - Subíndice de Mayo (leve – moderado – grave)	2 – 10 – 1	3 – 6 – 1 ^(c)	0,56
Valor de PCR (mg/L)	25 (2,4 – 119)	115 (35 – 324)	0,004

a) AZA: azatioprina. b) GC: glucocorticoides. c) 1 paciente no tenía endoscopia basal.

Tabla 16 – Características basales de pacientes cuyas muestras fueron utilizadas para estudios experimentales

Variable	Re (n=10)	noRe (n=10)	(p)
Edad (años)	44,8 (22 – 83)	46,6 (26 – 82)	0,84
Mujeres (%)	30	60	0,18
Tabaquismo (no – si – ex fumador)	3 – 2 – 4	6 – 1 – 3	0,49
CU extensa (%)	80	70	0,5
AZA ^(a) previo al brote (%)	30	10	0,36
GC ^(b) en brotes previos (%)	60	70	0,5
Brote actual grave (%)	0	50	0,01
Endoscopia - Subíndice de Mayo (leve – moderado – grave)	1 – 9 – 0	3 – 5 – 1 ^(c)	0,24
Valor de PCR (mg/L)	18,49 (2,4 – 30,6)	118,5 (35 – 324)	0,005

a) AZA: azatioprina. b) GC: glucocorticoides. c) 1 paciente no tenía endoscopia basal.

En el mismo periodo de tiempo se incluyeron 10 individuos controles sanos, que acudieron al servicio de endoscopia de LaFe para realizarse una colonoscopia en la no se encontraron lesiones, y que cumplían además los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados. Se obtuvieron muestras de tejido cólico de estos pacientes siguiendo los protocolos desarrollados en el apartado de material y métodos.

6.2. Muestras útiles para el análisis del transcriptoma

Utilizando *miRNeasy Mini Kit de Qiagen* se obtuvo el RNA total de 57 muestras de tejido intestinal: 1) 10 muestras de controles, 2) 13 muestras de Re basal, 3) 10 muestras de noRe basal, 4) 13 muestras de Re 3º día, 5) 11 muestras de noRe 3º día. La integridad de las muestras se evaluó en los laboratorios del HUGTiP con el Bioanalizador *Experion*, obteniendo adecuada integridad en 39 de las 57 muestras. En la empresa CIC-B se reevaluó la integridad de las 39 muestras mediante el Bioanalizador *Agilent*, siendo excluidas tras este análisis una muestra extra del grupo Re basal y otra del noRe basal, para la secuenciación y *microarrays* respectivamente. En el anexo 4 se resume el valor de integridad obtenido mediante cada Bioanalizador y se adjunta una tabla con los códigos y cantidad de muestras, que de cada grupo, fueron finalmente utilizadas para la secuenciación y *microarrays*.

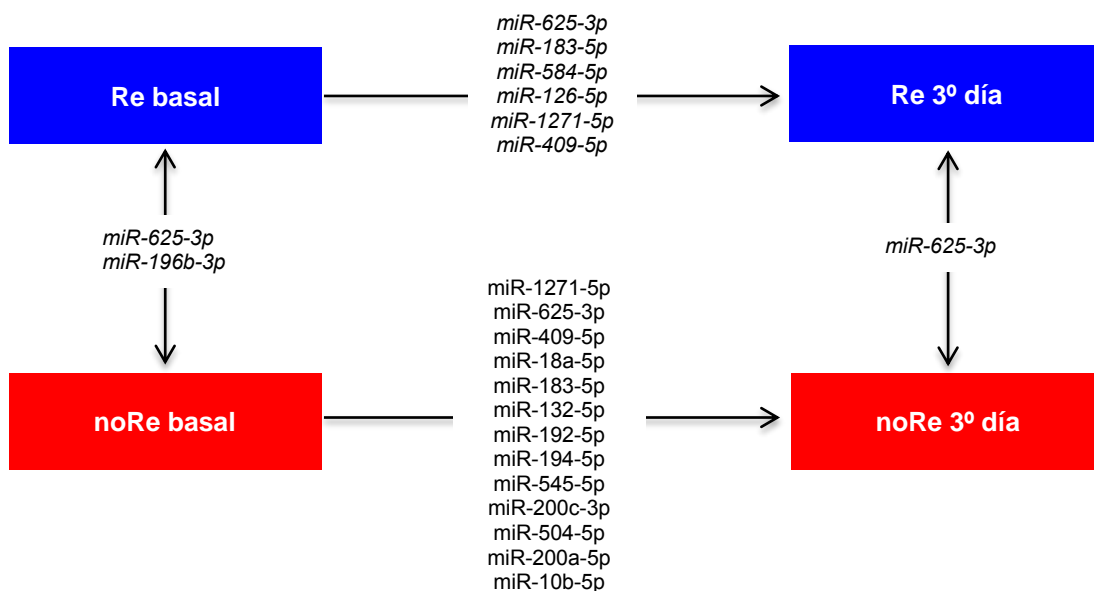
6.3. Resultados de la secuenciación y comparación entre grupos

Se secuenciaron finalmente miR de 38 muestras de tejido cólico. Se compararon los perfiles de miR de cada grupo para detectar aquellos con expresión diferencial.

Como era de esperar, fueron evidentes las diferencias encontradas entre los perfiles de miR de tejido cólico entre controles vs Re basal, y controles vs noRe basal. De los datos globales de estas comparaciones se puede extraer que

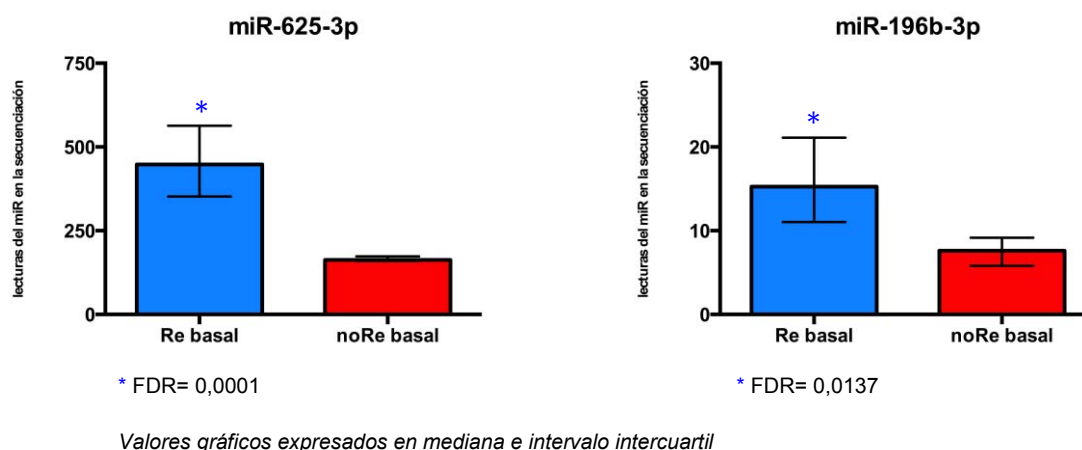
más de 60 miR mostraron expresión diferencial entre controles y Re basal, mientras que casi 100 miR se mostraron diferencialmente expresados entre controles y noRe basal. Si bien estos datos no dejan de ser interesantes, ya se habían reportado perfiles de miR diferenciales entre controles y pacientes con CU, por lo que en el presente estudio, hemos decidido centrarnos en aquellas comparaciones que involucraban a pacientes con CU activa Re y noRe a GC entre si. Los resultados de las principales comparaciones entre pacientes con CU activa se resumen a continuación en la figura 10.

Figura 10 - miR diferenciales en tejido cólico entre grupos de pacientes con CU activa (resultados de la secuenciación de miR)



De las comparaciones entre pacientes con CU activa, destaca el perfil diferencial de miR en tejido cólico entre Re basal vs noRe basal. Los miR-625-3p, y miR-196b-3p se mostraron sobreexpresados en Re basal respecto a los noRe basal (Figura 11).

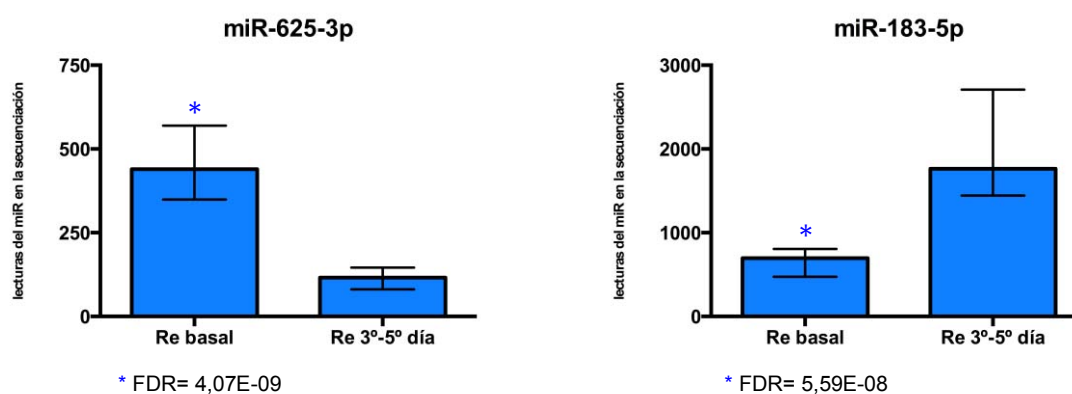
Figura 11 – miR diferenciales en tejido cólico entre Re basal y noRe basal a GC

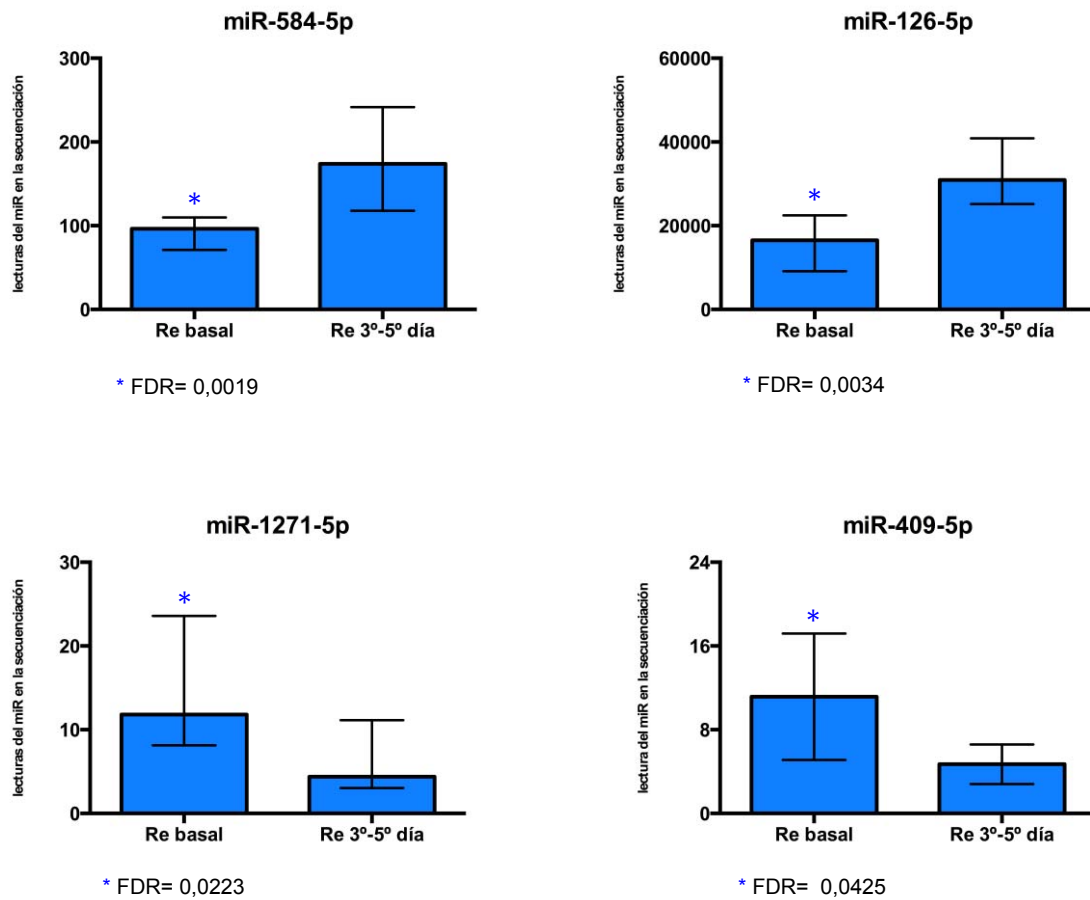


Las diferencias basales encontradas en la comparación intergrupar, Re basal vs noRe basal, podrían tener aplicabilidad para diferenciar los grupos Re y noRe incluso antes de iniciar el tratamiento con GC.

Otro interesante dato que ofrece la secuenciación es el efecto que tiene el tratamiento con GC sistémicos sobre el perfil de miR de tejido cólico en un mismo grupo de pacientes (intragrupa). La comparación Re basal vs Re 3º día muestra 6 miR con expresión diferencial, de los que 3 miR (miR-183-5p; miR-584-5p; miR-126-5p) se encuentran infraexpresados; y 3 miR (miR-625-3p; miR-1271-5p; miR-409-5p) sobreexpresados en las muestras de tejido cólico de Re basal respecto a Re 3º día (Figura 12).

Figura 12 – miR diferenciales en tejido cólico entre Re basal y Re 3º día

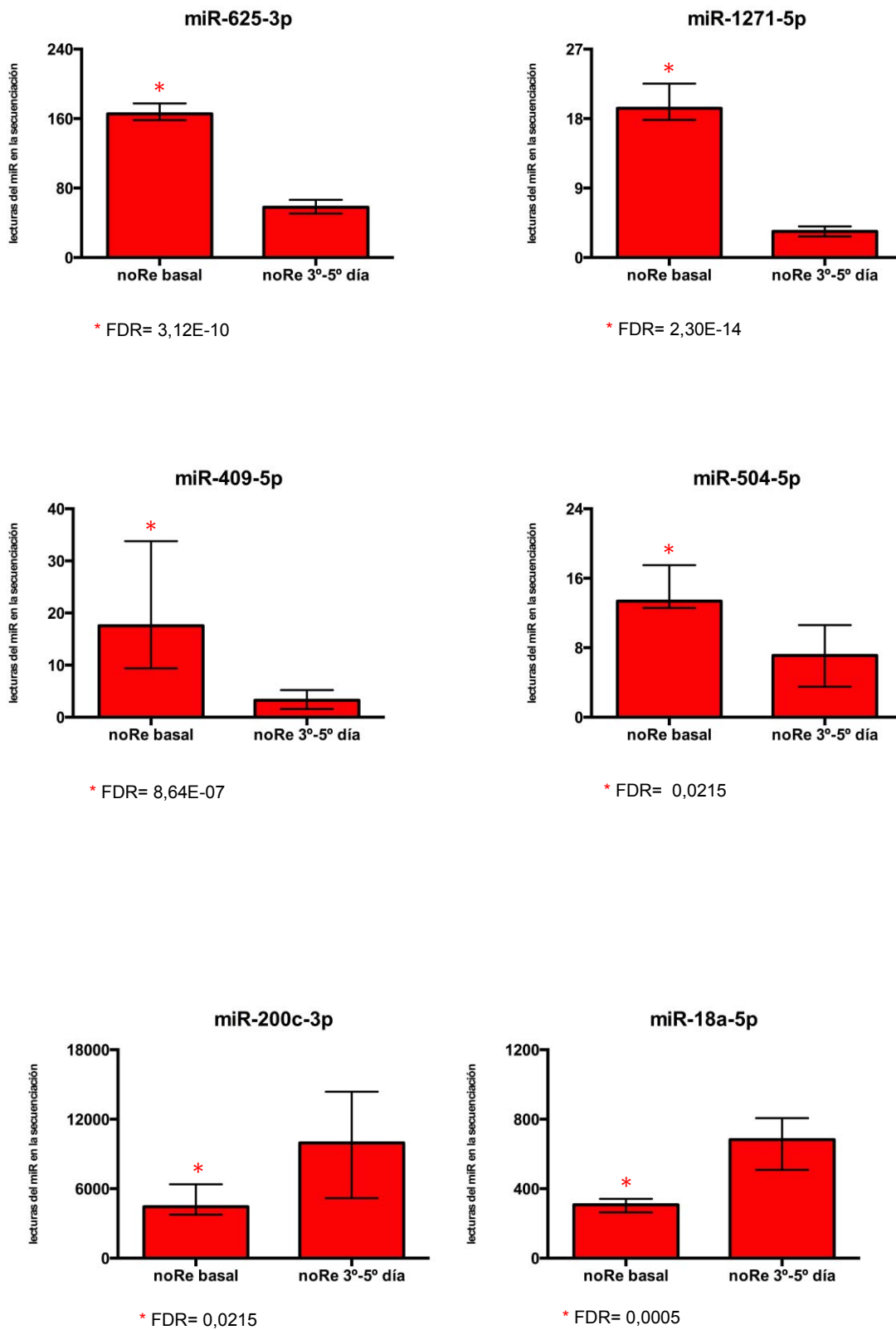


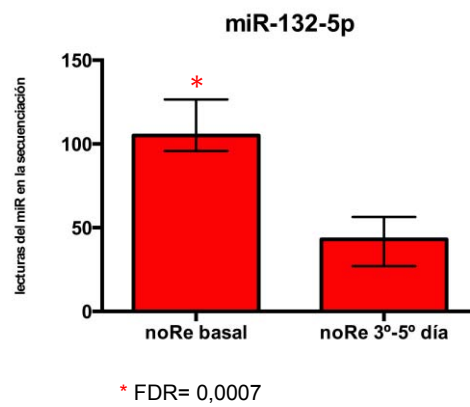
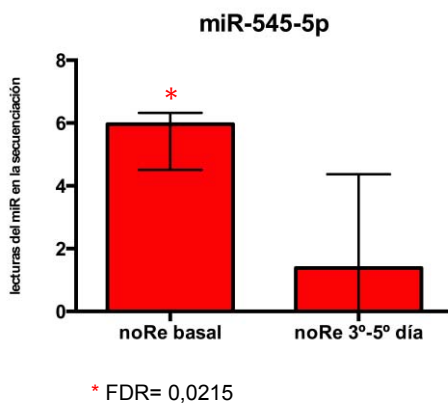
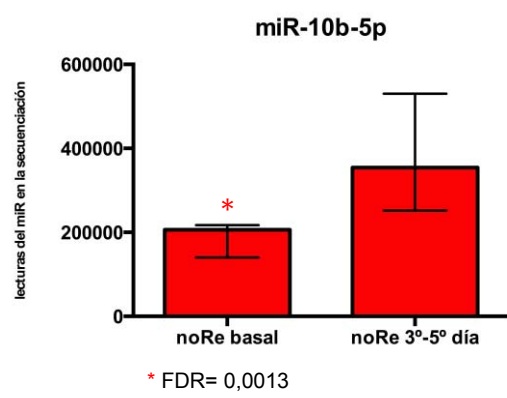
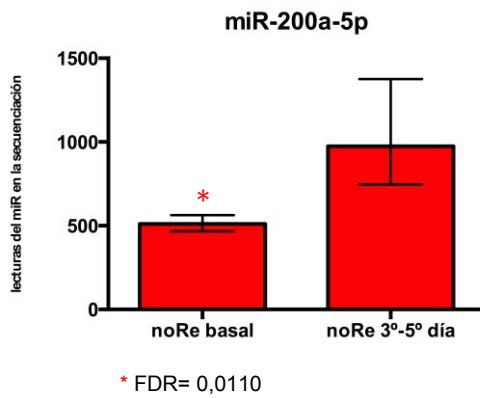
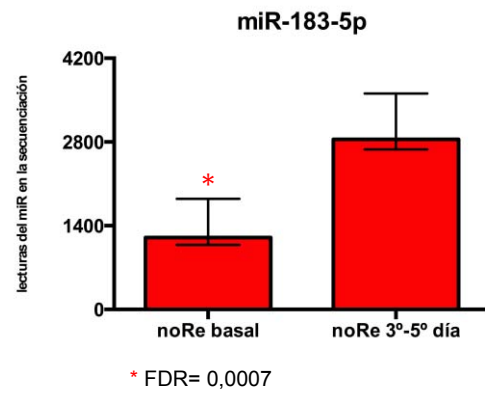
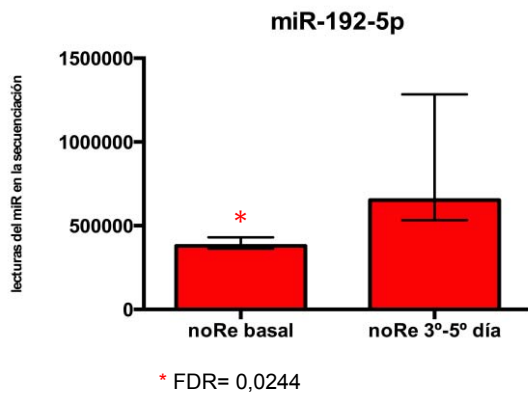


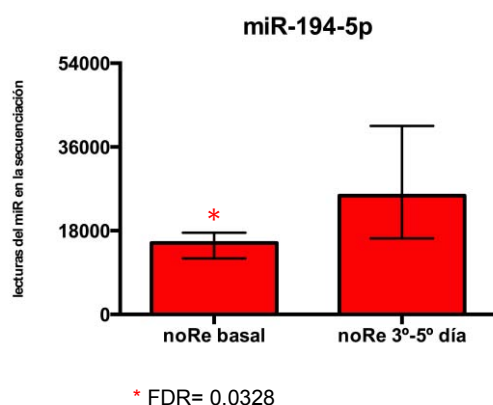
Valores gráficos expresados en mediana e intervalo intercuartil

La otra comparación intragrupo entre noRe basal vs noRe 3º día muestra 13 miR con expresión diferencial en tejido cólico, de los que 9 miR (miR-200c-3p; miR-18a-5p; miR-192-5p; miR-183-5p; miR-200a-5p; miR-10a-5p; miR-545-5p; miR-132-5p; miR-194-5p) se encuentran infraexpresados; y 4 miR (miR-625-3p; miR-1271-5p; miR-409-5p; miR-504-5p) sobreexpresados en noRe basal respecto a noRe 3º día (Figura 13).

Figura 13 – miR diferenciales en tejido cólico entre noRe basal y noRe 3º día







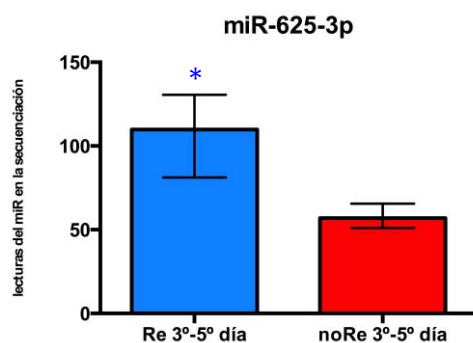
Valores gráficos expresados en mediana e intervalo intercuartil

Estas diferencias encontradas en las comparaciones intragrupo podrían ser útiles para comprender los distintos mecanismos de respuesta al fármaco que presenta cada subfenotipo de pacientes.

Por último, los hallazgos de la comparación entre Re 3° día vs noRe 3° día fueron sutiles, y solo el miR-625-3p se mostró sobreexpresado en las muestras de tejido cólico de Re 3° día respecto a noRe 3° día (Figura 14). El valor de este hallazgo probablemente sea menos relevante, ya que es un miR diferencial que ya se encuentra basalmente, y por lo tanto su aplicabilidad pronóstica pierde utilidad.

En el anexo 5 se amplían los resultados de todas las comparaciones en formato de tablas, *heatmaps* y *volcanoplots*, incluidas aquellas entre controles y pacientes con CU activa.

Figura 14 – miR diferenciales en tejido cólico entre Re 3º día y noRe 3º día



* FDR= 0,0101

Valores gráficos expresados en mediana e intervalo intercuartil

La mayoría de los miR diferenciales de nuestro estudio han sido relacionados con funciones biológicas vinculadas a procesos neoplásicos. Algunos de ellos (miR-196b-3p; miR-200c-3p; miR-192-5p; miR-200a-5p; mir-194-5p) forman parte de los miR diferenciales de las comparaciones entre CU activa vs CU inactiva y controles del estudio de Van Der Goten y colaboradores ¹⁹¹. De nuestro conocimiento, ninguno de estos miR, se había vinculado previamente con la respuesta a GC sistémicos.

Tabla 17 – Secuencia de nt de los miR diferenciales

miR	Secuencia de nt (<i>miRBase</i>)
miR-196b-3p	UCGACAGCACGACACUGCCUUC
miR-625-3p	GACUUAUGAACUUUCCCCUCA
miR-183-5p	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU
miR-584-5p	UUAUGGUUUGCCUGGGACUGAG
miR-126-5p	CAUUUUUACUUUUUGGUACGCG
miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU
miR-1271-5p	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA
miR-504-5p	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC
miR-200c-3p	UAAUACUGCCGGUAAUGAUGGA
miR-18a-5p	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG
miR-192-5p	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC
miR-200a-5p	CAUCUUACCCGACAGUGCUGGA
miR-10b-5p	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG
miR-132-5p	ACCGUGCCUUUCGAUUUGUACU
miR-545-5p	UCAGUAAAUGUUUUAUUAGAUGA
miR-194-5p	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA

6.4. Resultados del *microarrays* y comparaciones entre grupos

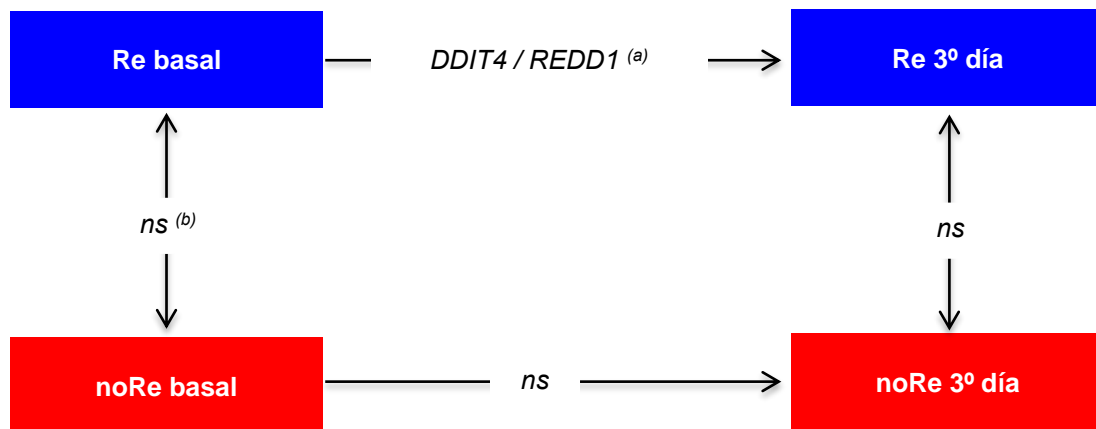
Se estudiaron mediante *microarrays* 38 muestras de tejido cólico con el *kit Human HT-12 HiScanSQ de Illumina*. Para validar los resultados del *microarray* se realizó RT-PCR de un grupo seleccionado de transcritos y posteriormente se compararon los resultados (*microarrays* y RT-PCR) mediante análisis de regresión lineal y correlación de Pearson. En el anexo 7 se muestran los resultados de la regresión lineal obtenida utilizando los valores de *microarrays* y RT-PCR. Como se puede apreciar se obtuvieron buenas correlaciones, lo que da solidez y valida en cierta medida a los resultados del *microarrays*.

Como era de esperar las principales diferencias obtenidas mediante *microarrays* se encontraron en las comparaciones realizadas entre controles vs Re basal; y controles vs noRe basal, que mostraron 929 y 1083 transcritos diferenciales, respectivamente.

Sin embargo, el único transcrito diferencial obtenido de las comparaciones realizadas entre pacientes con CU activa, fue el *DNA-Damage-Inducible Transcript 4* (DDIT4), también conocido como *Regulated in Development and DNA damage response 1* (REDD1), y a partir de ahora DDIT4/REDD1, en la comparación Re basal vs Re 3º día (Figura 15).

En el anexo 6 se adjunta información suplementaria sobre los resultados del *microarrays* de todas las comparaciones, con tablas, *heatmaps*, y *volcanoplots* de cada una de ellas.

Figura 15 – Transcritos diferenciales en tejido cólico entre grupos de pacientes con CU (resultados del *microarrays*)



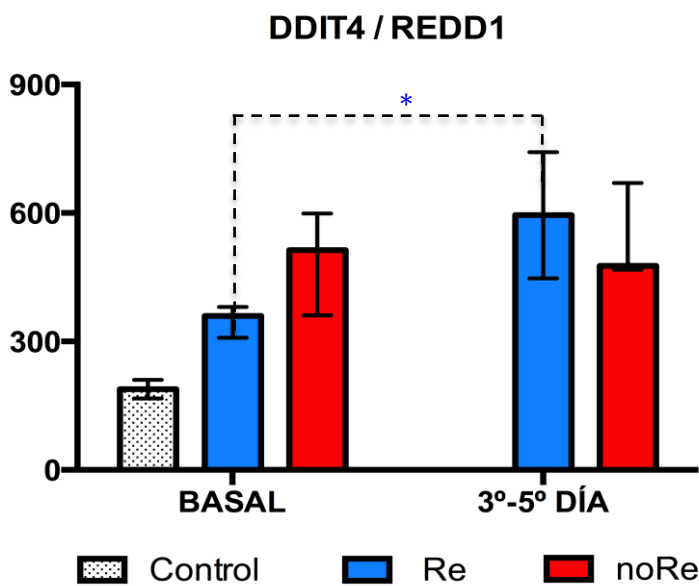
a) DDIT4 / REDD1: *DNA-damage-inducible transcript 4 / regulated in development and DNA damage response 1*
 b) ns: no significativo

El estudio mediante microarrays ha permitido obtener una visión global del transcriptoma completo de tejido cólico (RNAm y miR). Como era de esperar las diferencias obtenidas entre los grupos control y de pacientes con CU activa fueron muy claras. Sin embargo las diferencias encontradas en las comparaciones de pacientes con CU entre sí, fueron discretas. Es importante destacar que estamos comparando grupos de pacientes con una misma enfermedad, con similar actividad inflamatoria, y que se diferencian casi de forma exclusiva por la diferente respuesta terapéutica obtenida a un fármaco. Esto hace difícil poder encontrar perfiles diferentes de expresión de transcritos, hecho que se hace aún más evidente si tenemos en cuenta que estamos trabajando con un reducido número de muestras.

Sin embargo, el hallazgo de un transcrito como DDIT4/REDD1, infraexpresado en Re basal respecto a Re 3º día, es alentadora. Este transcrito, se expresa en respuesta a la hipoxia, participando básicamente en el *upstream* de la vía de señalización *mamalian target of rapamycin (mTOR)*, en donde juega un papel inhibitor de la misma a través de sus acciones sobre el gen *tuberous sclerosis 1/2 (TSC1/2)* ²³⁵. El hallazgo de este transcrito nos acerca a otros genes, y vías de señalización, como el gen *hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF1A)*, la vía de

mTOR, el gen y vía del mismo nombre *vascular endothelial growth factor* (VEGF), la vía de la autofagia, o el gen *ribosomal protein S6 kinase beta-1* (S6K), entre otras. En la figura 16 se resume la expresión de DDIT4/REDD1 en los diferentes grupos del estudio.

Figura 16 – Nivel de expresión del RNAm DDIT4/REDD1 en tejido cólico de los diferentes grupos estudiados



* FDR= 0,0324. Se destaca la comparación Re basal vs Re 3º día aunque también se encontraron diferencias significativas entre controles con el resto de grupos.

Si bien serán necesarios futuros estudios para confirmar estos hallazgos, consideramos que llegados a este punto era oportuno aplicar el uso de herramientas informáticas y realizar un estudio *in silico* con el fin de acercarnos a nuevas hipótesis de respuesta y refractariedad, utilizando como punto de partida los hallazgos diferenciales del transcriptoma de Re y noRe a GC.

6.5. Estudios *in silico* a partir de los datos de la secuenciación

6.5.1. Predicción de RNAm dianas a partir de miR diferenciales

En el anexo 8 se encuentran tablas con las dianas potenciales sobre las que podría actuar cada uno de los miR diferenciales obtenidas utilizando las herramientas THS y miRDB.

6.5.2. Vías enriquecidas a partir de las dianas potenciales

Utilizando las dianas potenciales del punto 6.5.1, se estudiaron las vías potencialmente enriquecidas con la plataforma *GeneCodis*. En el anexo 9 se muestran tablas con las vías enriquecidas obtenidas utilizando las dianas de cada miR diferencial de forma individual, y tablas con las vías enriquecidas utilizando las dianas de forma conjunta de los miR diferenciales de la comparaciones intergrupales (Re basal vs noRe basal); e intragrupo (Re basal vs Re 3º día, y noRe basal vs noRe 3º día). Las vías más destacadas de estas últimas comparaciones se muestran en las siguientes tablas 18, 19, y 20.

Tabla 18 - Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales entre Re basal vs noRe basal

Nº genes	Hyp*	Vía enriquecida
6 genes	0.0001	(KEGG) 04120: <i>Ubiquitin mediated proteolysis</i>
3 genes	0.0003	(KEGG) 04350: <i>TGF-beta signaling pathway</i>
6 genes	0.0006	(KEGG) 04144: <i>Endocytosis</i>
5 genes	0.0008	(KEGG) 04722: <i>Neurotrophin signaling pathway</i>
3 genes	0.0097	(KEGG) 04070: <i>Phosphatidylinositol signaling system</i>
4 genes	0.0099	(KEGG) 04141: <i>Protein processing in endoplasmic reticulum</i>
3 genes	0.0255	(KEGG) 04110: <i>Cell cycle</i>

* Hyp = Corrected hypergeometric pValue

Tabla 19 - Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales entre Re basal vs Re 3º día

Nº genes	Hyp*	Vía enriquecida
64 genes	2,08E-08	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
60 genes	2,25E-10	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
47 genes	3,84E-07	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
39 genes	1,13E-03	(KEGG) 04510: Focal adhesion
36 genes	1,93E-06	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
36 genes	2,05E-03	(KEGG) 04144: Endocytosis
35 genes	3,81E-07	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
35 genes	8,96E-07	(KEGG) 04360: Axon guidance
32 genes	0.0028	(KEGG) 04080: Neuroactive ligand-receptor interaction
31 genes	1,43E+00	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway

* Hyp = Corrected hypergeometric pValue

Tabla 20 - Vías enriquecidas a partir de dianas de miR diferenciales entre noRe basal vs noRe 3º día

Nº genes	Hyp*	Vía enriquecida
95 genes	2,76E-14	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
89 genes	1,24E-17	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
67 genes	1,88E-12	(KEGG) 04510: Focal adhesion
64 genes	2,77E-09	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
61 genes	3,02E-09	(KEGG) 04144: Endocytosis
52 genes	5,95E-13	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
50 genes	5,35E-08	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
47 genes	5,83E-03	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway
46 genes	3,68E-08	(KEGG) 04360: Axon guidance
43 genes	1,05E-05	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway

* Hyp = Corrected hypergeometric pValue

En conjunto, estos datos indican una cierta similitud en las acciones biológicas, que se desarrollan durante el tratamiento, en los subfenotipos Re y noRe, no obstante lo cual, tanto por el número de genes implicados, como por la potencia de selección estadística, parece que los pacientes noRe manifiestan

una mayor intensidad en lo que respecta a la señalización intra y extracelular de mecanismos de regeneración tisular y diferenciación celular.

6.5.3. Reversión del sistema

El estudio de reversión del sistema utilizando la plataforma *GeneCodis* mostró que mayoritariamente se obtuvo el mismo miR *in silico*, que el obtenido de la secuenciación, utilizando las dianas de los miR diferenciales (tabla 21).

Tabla 21 – miR enriquecidos a partir de dianas potenciales de miR diferenciales

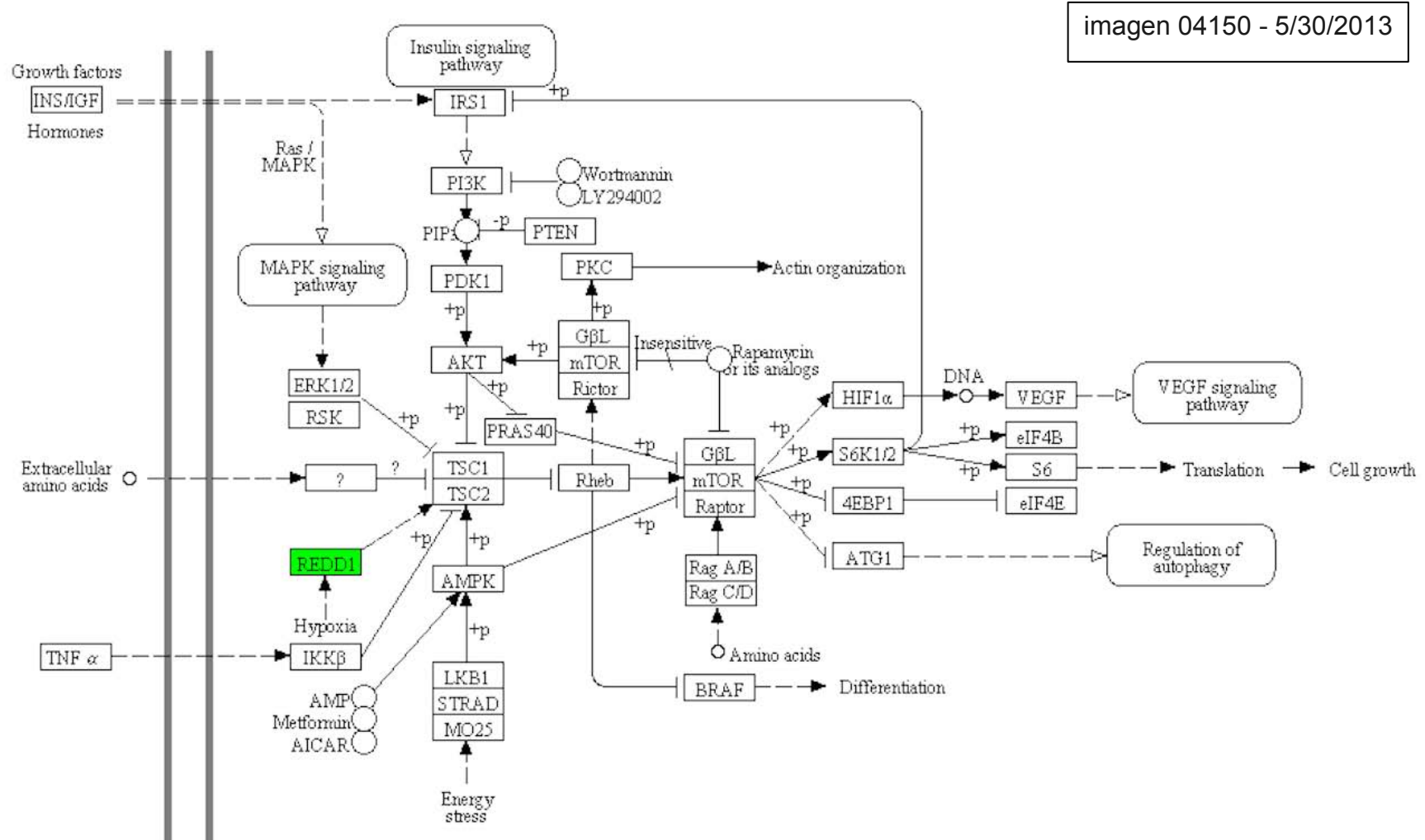
miR (Illumina)	miR <i>in silico</i> (dianas THS)	miR <i>in silico</i> (dianas miRDB)	Reversión
miR-196b-3p	miR-196a / miR-196b / miR-379	-	Positiva
miR-625-3p	-	miR-625 / miR519a / miR-338	Positiva
miR-183-5p	miR-183 / miR-652 / miR-543	miR-183 / miR-652 / miR-200c	Positiva
miR-584-5p	miR-584 / miR-429 / miR-548c	miR-584 / miR-497 / miR-548d	Positiva
miR-126-5p	-	miR-126 / miR-548c / miR-144	Positiva
miR-1271-5p	miR-96 / miR-182 / miR-200a	miR-96 / miR-30b / miR-183	Negativa
miR-409-5p	miR-409-5p / miR-30b / miR-933	miR-409-5p / miR-30c / miR-630	Positiva
miR-18a-5p	miR-18b / miR-18a	miR-18a / miR-18b / miR-519a	Positiva
miR-132-5p	-	miR-628	Negativa
miR-194-5p	-	miR-194 / miR-200b / miR-542	Positiva
miR-10b-5p	miR-10b / miR-10a	miR-10a / miR-10b / miR-557	Positiva
miR-200a-5p	miR-200a / miR-141 / miR-429	miR-200a / miR-200b / miR-338	Positiva
miR-504-5p	miR-504	miR-504 / miR-219-5p / miR-10b	Positiva
miR-200c-3p	miR-200c / miR-200b / miR-429	miR-200b / miR-200c / miR-429	Positiva
miR-545-5p	-	miR-545 / miR-452 / miR-200b	Positiva
miR-192-5p	miR-215 / miR-192 / miR-499-5p	miR-215 / miR-192 / miR-141	Positiva

El objetivo de este ejercicio de reversión de datos fue vincular los datos de los estudios experimentales, con datos teóricos del estudio *in silico*.

6.6. Estudios *in silico* a partir de los resultados del *microarrays*

Como se ha comentado previamente, el único transcrito diferencial de las comparaciones entre pacientes con CU activa, fue DDIT4/REDD1. El estudio de este transcrito en la plataforma *KEGG pathway database* mostró que como principal vía asociada a DDIT4/REDD1 se encuentra mTOR. La vía de señalización mTOR esta constituida por una red proteica involucrada en una amplia gama de procesos biológicos como el crecimiento y la diferenciación celular, la transcripción de RNAm, la organización del citoesqueleto, la formación de ribosomas, o la autofagia, entre otras ²³⁶⁻²³⁷⁻²³⁸. En la figura 17 se muestra la vía de señalización mTOR con sus principales componentes, y en la figura 18 se muestran las principales vías asociadas a mTOR. Es interesante destacar que gran parte de las vías asociadas a mTOR aparecen en los listados de vías enriquecidas obtenidas utilizando dianas potenciales (THS y miRDB) de los miR diferenciales (anexo 9).

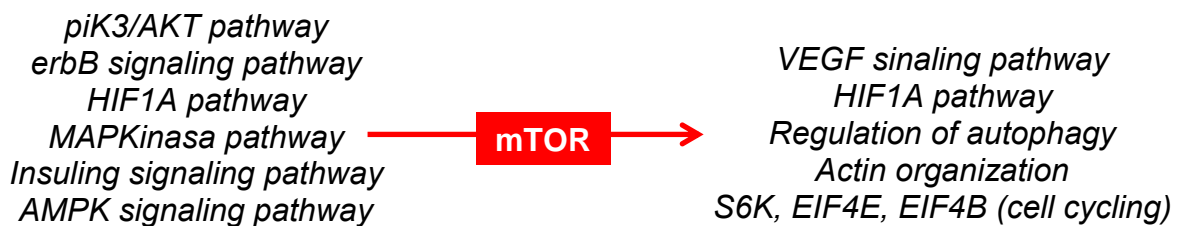
Figura 17 – Mammalian Target of Rapamycin signaling Pathway o vía mTOR



Fuente: KEGG pathway database ²³²⁻²³³. Se ha solicitado autorización a responsables de KEGG pathway database para utilizar este gráfico.

Como puede apreciarse DDIT4/REDD1 (en la figura 17 denominado REDD1) es un componente importante de esta vía de señalización, participando en su upstream, actuando como inhibidor de mTOR, a través del estímulo de TSC1/TSC2 que es un inhibidor de Rheb, que a su vez es un estimulante de mTOR.

Figura 18 – Vías de señalización asociadas a mTOR



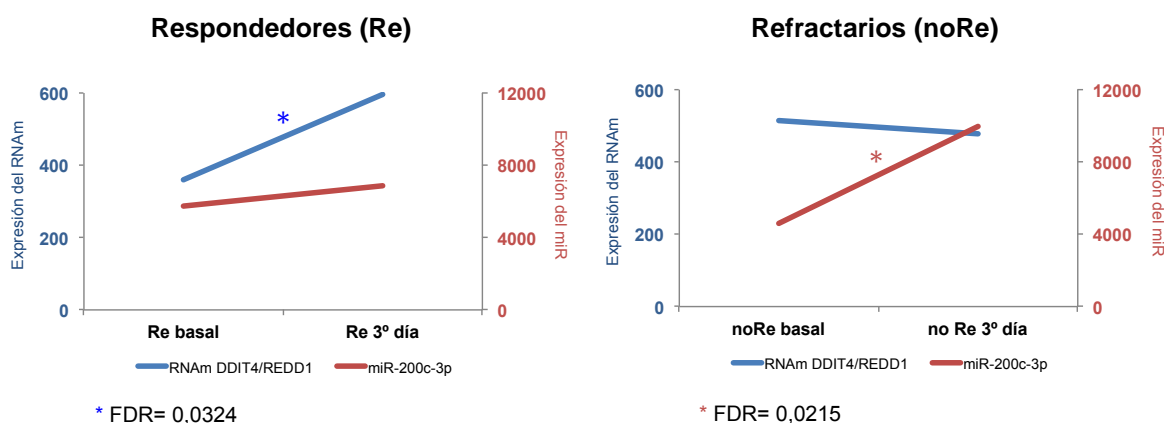
Se podría decir que mTOR constituye una especie de interruptor funcional entre el metabolismo anabólico y catabólico de la célula, modulando diferentes procesos biológicos como la fagocitosis, la biogénesis ribosomal, la reorganización del citoesqueleto, la autofagia, o la vascularización, entre otros, en respuesta a diferentes estímulos.

6.7. Integración de los resultados de la secuenciación y microarrays

Se estudió detalladamente la vía mTOR por ser la principal vía asociada a DDIT4/REDD1. Para ello se creó un listado de los principales componentes de esta vía de señalización, y se estudió en cada uno de ellos la existencia o no de interacción con miR diferenciales de la secuenciación. Se utilizaron las plataformas THS y miRDB para la búsqueda de interacciones potenciales, y miRWalk para la búsqueda de interacciones validadas. En el anexo 10 se adjuntan tablas con dichos resultados, e información añadida de las interacciones.

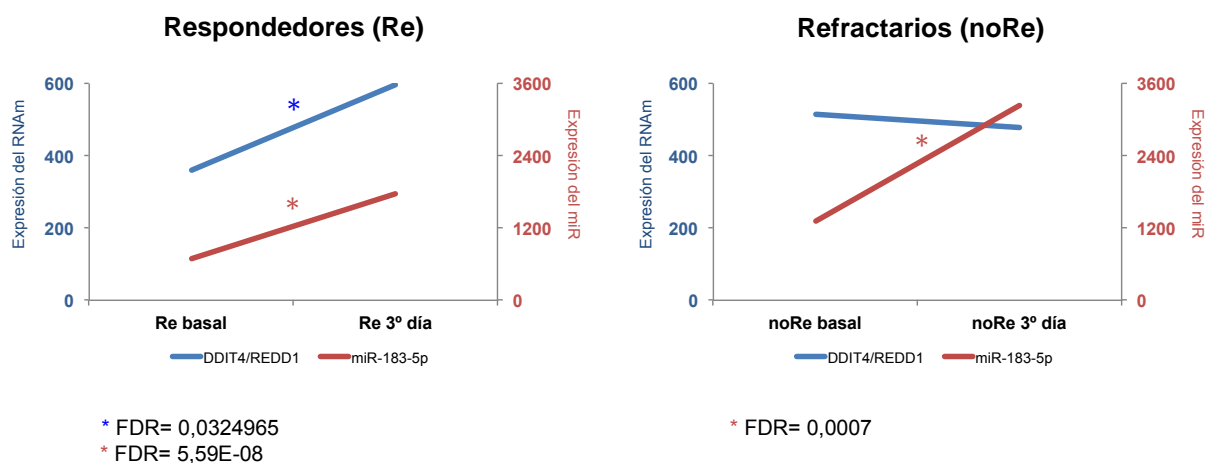
De todas las interacciones entre RNAm de mTOR y miR diferenciales de la secuenciación, destaca la interacción validada entre DDIT4/REDD1 y el miR-200c-3p²³⁹, en la que por un lado DDIT4/REDD1 se ha vinculado a los GC²⁴⁰⁻²⁴¹⁻²⁴²⁻²⁴³, y por el otro lado el miR-200c-3p se ha vinculado a la CU¹⁹¹. Todo esto la convierte en relevante, y podría sugerir que estemos ante una interacción con un papel importante en la respuesta a GC de los pacientes con CU. En el figura 19 se muestra el comportamiento de estos transcritos en los grupos Re y noRe.

Figura 19 – Nivel de expresión de los transcritos DDIT4/REDD1 y miR-200c-3p



Destaca también la interacción potencial entre DDIT4/REDD1 y el miR-183-5p. Ya hemos comentado el vínculo de DDIT4/REDD1 con los GC. Sin embargo en este caso el miR-183-5p no se ha asociado hasta la fecha con la CU ni con los GC. En el figura 20 se muestra el comportamiento de estos transcritos en los grupos Re y noRe.

Figura 20 – Nivel de expresión de los transcritos DDIT4/REDD1 y miR-183-5p



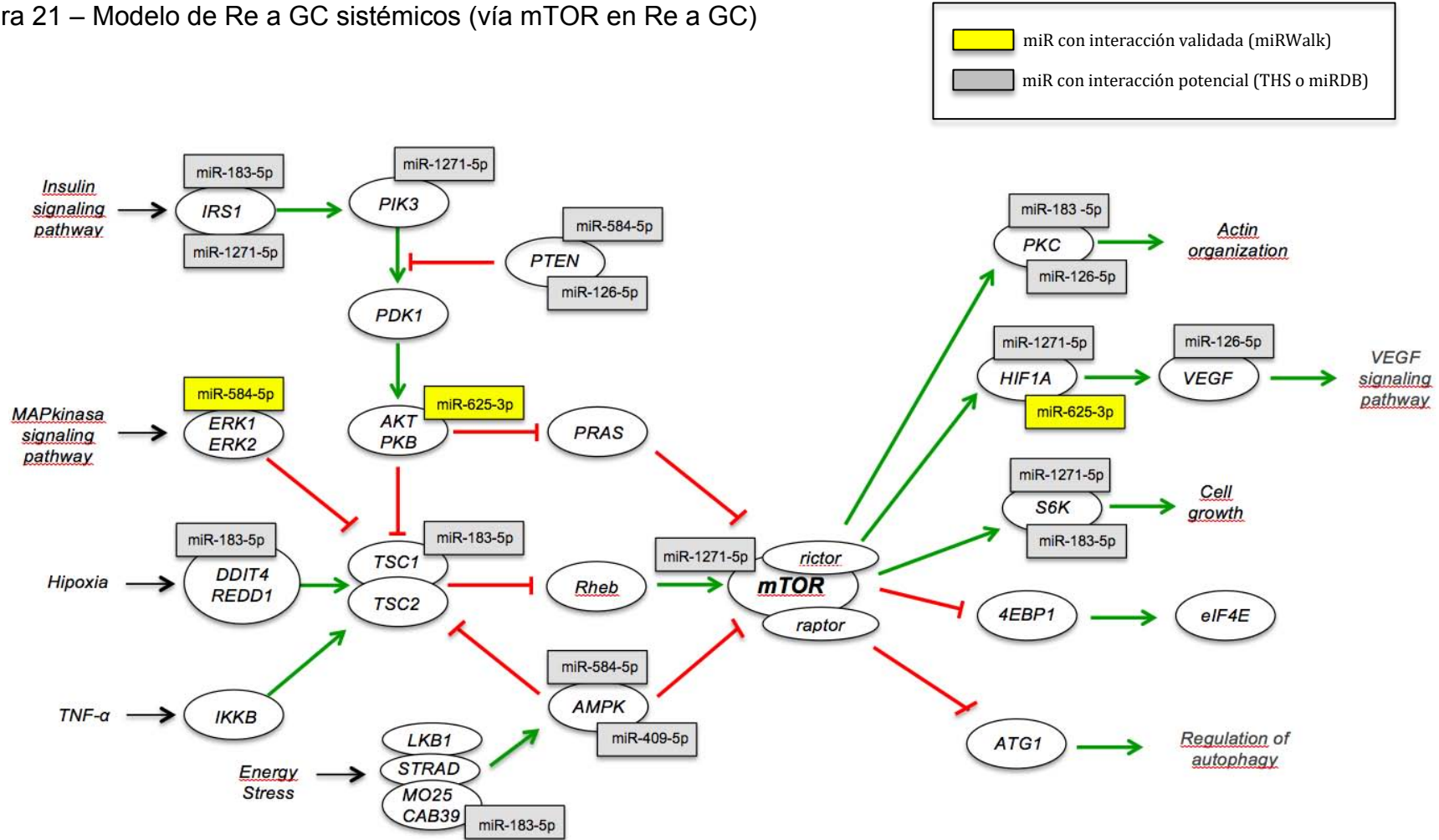
6.8. Modelos de respuesta y refractariedad

El trabajo *in silico* realizado a partir de datos experimentales nos ha permitido cercar el foco de atención hacia algunas vías de señalización concretas. El único transcrito diferencial obtenido del *microarrays* de las comparaciones entre pacientes con CU activa, nos ha llevado a una nueva hipótesis sobre el posible vínculo entre la vía de señalización mTOR y la respuesta a los GC en pacientes con CU.

Somos conscientes de que los miR diferenciales obtenidos del estudio experimental, modulan cientos de genes que participan en numerosas vías de señalización diferentes a mTOR. Sin embargo, cuando se manejan gran cantidad de datos, debemos intentar seleccionar los más relevantes para poder profundizar en el estudio de dicha selección, porque de otra manera sería inasumible. Es por ello que el uso de herramientas informáticas es cada vez más utilizado en este tipo de estudios, permitiendo seleccionar del conjunto de datos, los que al menos de forma teórica, mediante algoritmos, y con criterios preestablecidos, se muestren como los más relevantes.

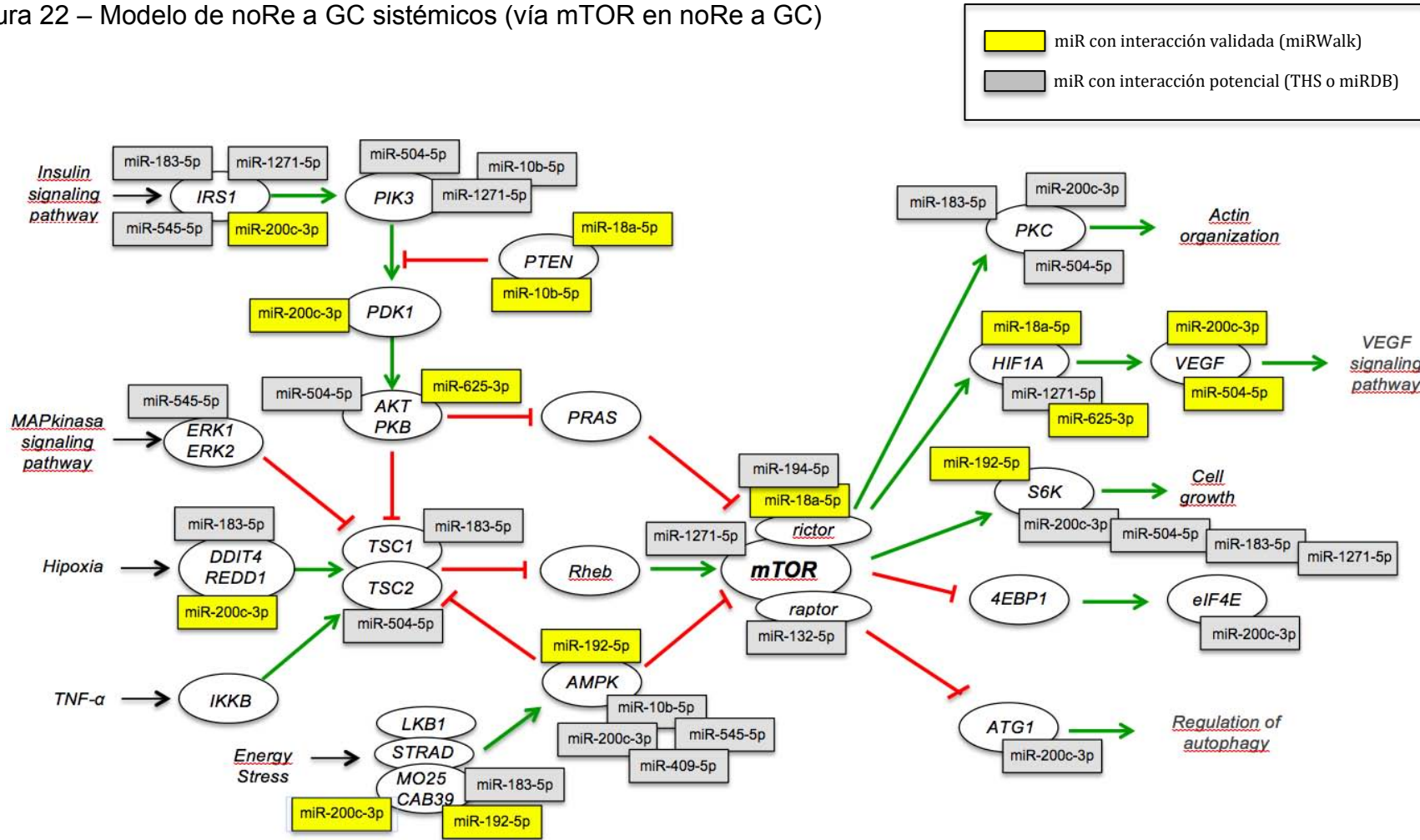
En nuestro estudio, los datos obtenidos nos llevaron a generar 2 modelos teóricos de respuesta a GC (Re y noRe), utilizando de una manera simplista la vía mTOR como eje principal, sobre la que se integraron nuestros datos experimentales e *in silico*, para de esta manera, intentar explicar una compleja situación como la refractariedad a GC en pacientes con brotes moderados y severos de CU (Figura 21 y 22).

Figura 21 – Modelo de Re a GC sistémicos (vía mTOR en Re a GC)



En este gráfico vemos la vía mTOR simplificada, a la que se le añaden los miR diferenciales obtenidos mediante secuenciación de la comparación intragrupo Re (Re basal vs Re 3º día). Solo se incluyen aquellos miR diferenciales que tienen además interacción potencial o validada con algún componente de mTOR.

Figura 22 – Modelo de noRe a GC sistémicos (vía mTOR en noRe a GC)



En este gráfico vemos la vía mTOR simplificada, a la que se le añaden los miR diferenciales obtenidos mediante secuenciación de la comparación intragrupo noRe (noRe basal vs noRe 3º día de GC). Solo se incluyen aquellos miR diferenciales que tienen además interacción potencial o validada con algún componente de mTOR.

Como puede observarse en las figuras anteriores, el modelo noRe muestran una mayor implicación de miR en la potencial y validada regulación global de la vía mTOR. Curiosamente, en el marco de las interacciones RNAm-miR de estos pacientes, el miR-200c-3p es uno de los que más dianas puede bloquear, además de uno de los que tiene mayor capacidad de modular la vía mTOR tanto desde su upstream (actividades quinasa, acción sobre DDIT4/REDD1), hasta el *downstream* (*Vascular Endotelial Growth Factor - VEGF*), aspectos que no se reproducen en el mapa de interacción para pacientes con buena respuesta a los GC.

6.9. Western Blot de transcritos diferenciales y relevantes de los modelos

Se seleccionó para su estudio mediante WB al gen DDIT4/REDD1. Se realizó el Western Blot en muestras de 3 pacientes Re, y en muestras de 3 pacientes noRe que cumplieron los siguientes criterios de, **a)** ser un paciente con muestra suficiente para el estudio de proteínas de muestras apareadas (basal y 3º día), y **b)** ser un paciente del que dispusiéramos de valores del microarrays, y valores de la secuenciación. En la imagen 5 y figura 23 se muestran los resultados del WB para DDIT4/REDD1.

Imagen 5 – Resultados del Western Blot para DDIT4/REDD1

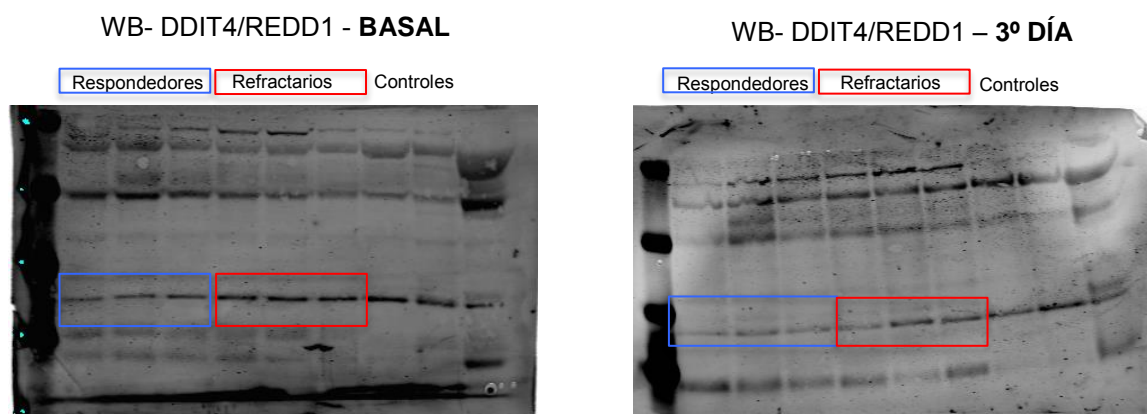
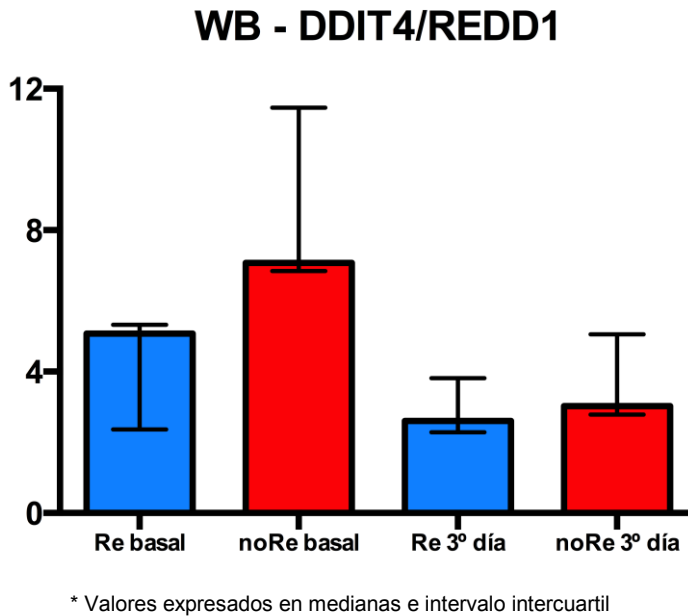
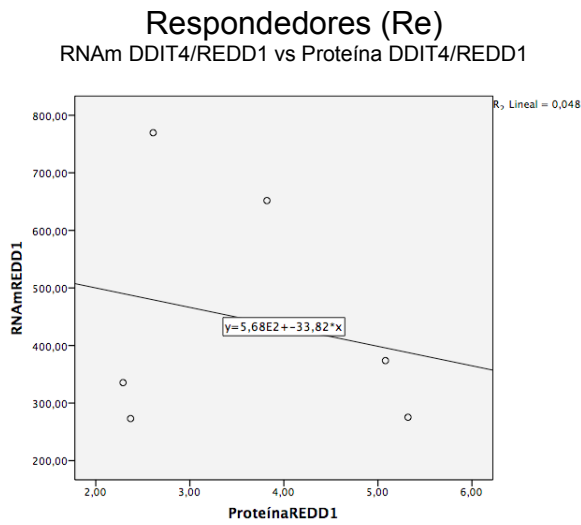


Figura 23 – Resultados del Western Blot para DDIT4/REDD1



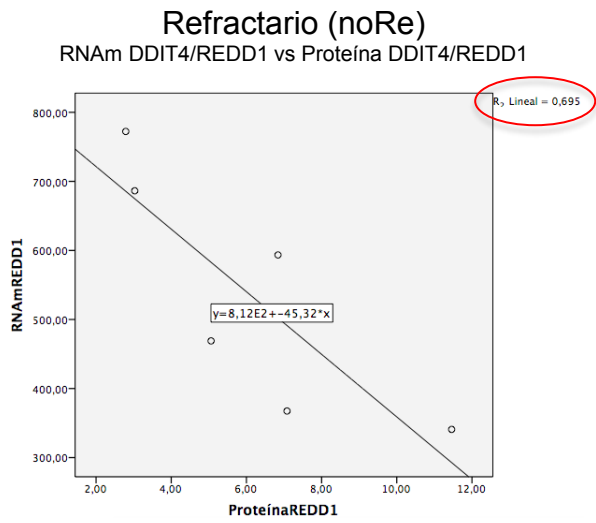
Se realizaron regresiones lineales y correlaciones de Pearson para vincular los resultados del WB (proteína), con los resultados del *microarrays* (RNAm) y de la secuenciación (miR). En el figura 24 se muestran los resultados de las regresiones lineales y correlaciones de Pearson realizadas más relevantes, y como puede apreciarse en algunas de ellas los valores de correlación obtenidos fueron significativos. A pesar de constituir un hallazgo sumamente interesante, la interpretación de estos datos es compleja y excede a los objetivos de este estudio.

Figura 24 - Regresiones lineales y Correlaciones de Pearson más relevantes



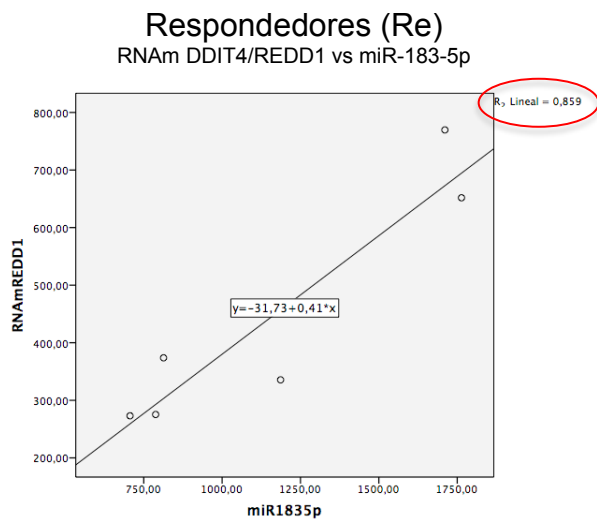
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,219 ^a	,048	-,190	1,49598	,048	,202	1	4	,676



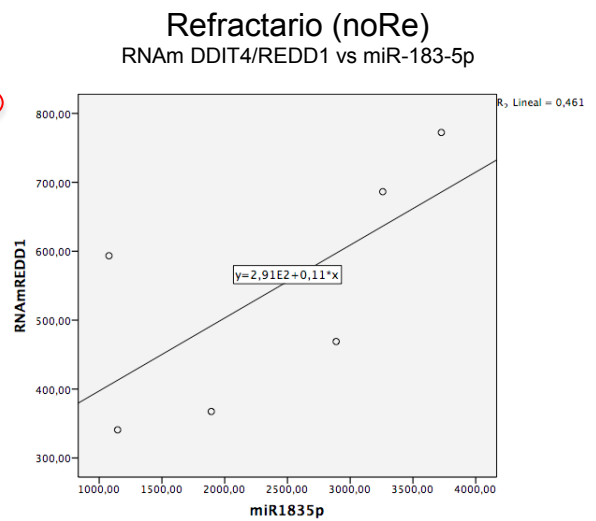
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,834 ^a	,695	,619	1,98481	,695	9,119	1	4	,039



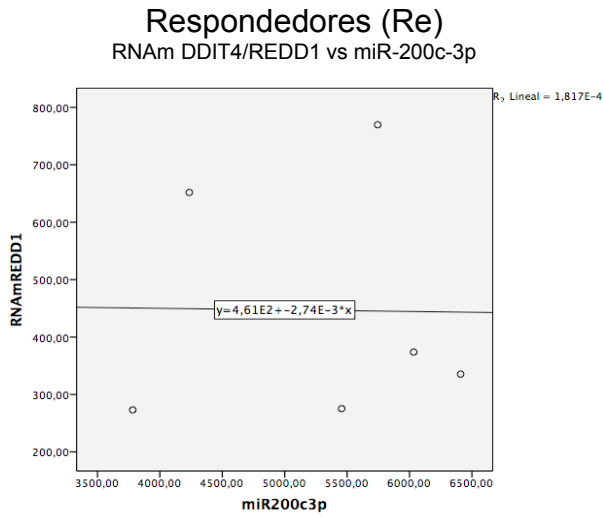
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,927 ^a	,859	,824	88,6560	,859	24,441	1	4	,008



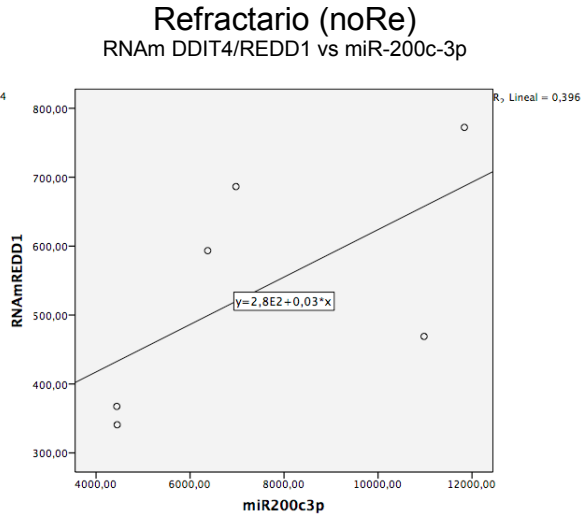
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,679 ^a	,461	,326	920,310	,461	3,417	1	4	,138



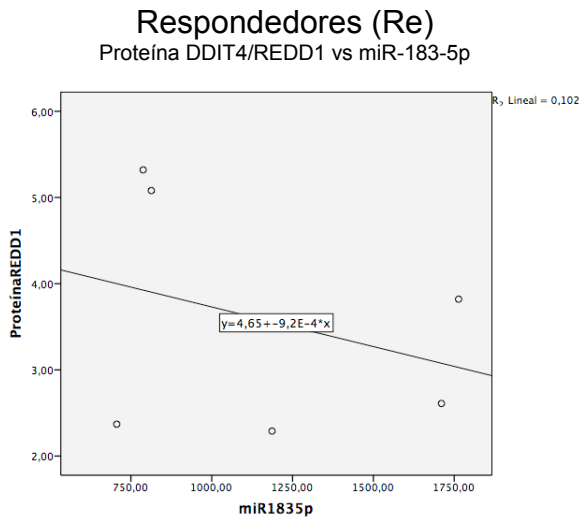
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,013 ^a	,000	-,250	236,382	,000	,001	1	4	,980



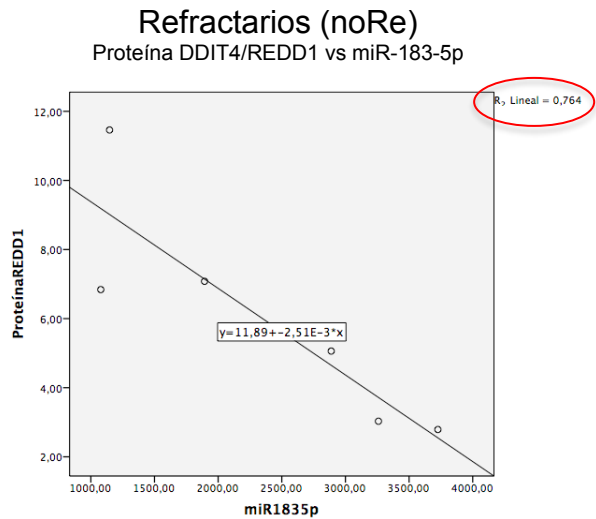
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,630 ^a	,396	,246	2777,30	,396	2,627	1	4	,180



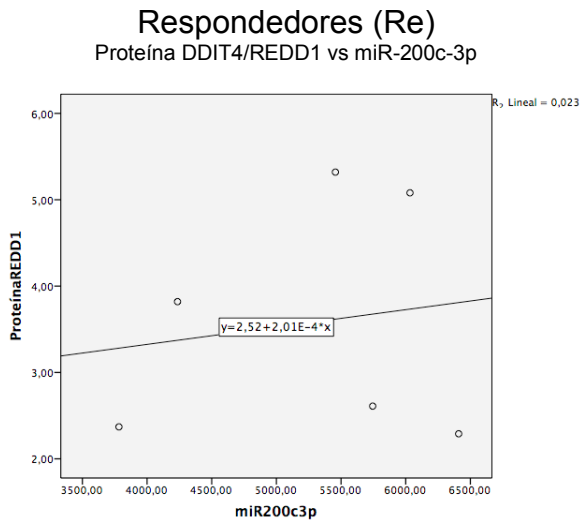
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,319 ^a	,102	-,123	1,45307	,102	,454	1	4	,537



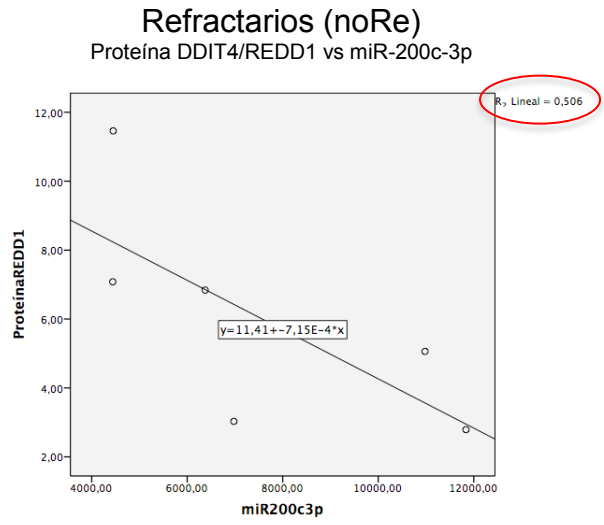
Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,874 ^a	,764	,705	1,74613	,764	12,950	1	4	,023



Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,153*	,023	-,221	1,51536	,023	,095	1	4	,773



Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Estadísticas de cambios				
					Cambio de cuadrado de R	Cambio en F	df1	df2	Sig. Cambio en F
1	,711*	,506	,382	2,52756	,506	4,090	1	4	,113

La tabla completa con los valores de WB, microarray, y secuenciación con los que se realizaron las regresiones lineales y correlaciones de Pearson se encuentra en el anexo 11.

Discusión

7. DISCUSIÓN

Desde hace más de medio siglo se utilizan los GC sistémicos para el tratamiento de los brotes moderados y graves de CU ⁸⁶. A pesar de su efectividad, aproximadamente un 40% de pacientes presentará una respuesta inadecuada a los mismos ⁷⁵. Hasta la fecha no se conocen los mecanismos exactos asociados a esta mala respuesta, y tampoco somos capaces de predecir en que pacientes se va a producir dicha situación. Hemos mencionado la característica temporal y variable de la corticorefractariedad en esta enfermedad, lo que sugiere la posibilidad de que factores no constitutivos del individuo y propios de cada brote, inclinen la balanza hacia uno u otro escenario. Por otro lado sabemos que en el genoma humano se encuentra codificada toda la información necesaria para producir los diferentes tipos celulares, pero que se transcriben solo aquellos genes propios de cada estirpe celular, y aquellos necesarios en función de los requerimientos que se generen en situaciones concretas (inflamación, hipoxia, isquemia, etc.). El conjunto de transcritos de una célula u órgano constituyen el transcriptoma celular que no está solo compuesto por los RNAm que codifican para una proteína, sino también por moléculas de pequeño tamaño conocidas como miR que modulan de forma post-transcripcional la expresión final de esos genes hacia proteínas. El conocimiento de estos miR abre un abanico de posibilidades diagnósticas y terapéuticas, que aún no han sido explotadas al máximo en la EII.

En lo que se refiere al presente estudio consideramos sumamente relevante el carácter traslacional del mismo, que partiendo de un problema clínico frecuente como la corticorefractariedad, clasifica y selecciona las muestras de tejido cólico de los pacientes con CU activa, utilizando herramientas clínico-biológicas cotidianas, para posteriormente aplicar complejos análisis experimentales sobre dichas muestras, con el fin de dar un enfoque diferente a un problema que lleva décadas sin resolverse. La exploración de datos ómicos mediante la integración de los perfiles de RNAm y miR, para precisar los mecanismos moleculares implicados en la respuesta a los GC en la CU, constituye un abordaje original.

De nuestro conocimiento, se ha publicado solo un estudio que presenta algunas similitudes a nuestro trabajo, aunque también claras diferencias. En dicho estudio exploran perfiles de miR en sangre de pacientes con CU corticosensibles y corticorefractarios mediante *microarrays*, para después confirmar los hallazgos en plasma y tejido cólico mediante RT-PCR. Entre los resultados más destacados encuentran un grupo de miR diferenciales en plasma entre corticosensibles y corticorefractarios, y una asociación entre uno de estos miR diferenciales (miR-195) con la proteína Smad7 ¹⁸⁵. Consideramos que nuestro trabajo aporta un mejor diseño para el estudio del escenario de la refractariedad a GC en la CU. En primer lugar, en nuestro estudio, la determinación de miR fue realizada mediante *next generation sequencing*, técnica más sensible y específica que el *microarrays*. Si bien la secuenciación se aplica cada vez con mayor frecuencia en campos como la oncología, existen pocas referencias de su aplicación en el estudio de la EII ²⁴⁴⁻²⁴⁵⁻²⁴⁶⁻²⁴⁷⁻²⁴⁸, y ninguna de ellas aplicada al estudio de perfiles de miR. En segundo lugar, la obtención de muestras en momentos diferentes del tratamiento (antes y durante GC) aporta datos hasta ahora no evaluados en este escenario. En este sentido la referencia más próxima de un diseño similar, sea la de un estudio realizado en pacientes con Esofagitis Eosinofílica (EEo) en el que se tomaron muestras a pacientes antes y durante el tratamiento con GC ²²¹. Por último consideramos que es más preciso explorar inicialmente el transcriptoma de tejido cólico, por ser el que mejor representa lo que sucede a nivel molecular en los pacientes con CU refractarios a GC sistémicos, y posteriormente, buscar similitudes en plasma, y no a la inversa.

Somos conscientes de que el presente estudio tiene diversas limitaciones, siendo la principal el número de pacientes incluidos y el número de muestras finalmente analizadas. No se ha llegado a cumplir la propuesta inicial de incluir 35 pacientes con brotes moderados o graves de CU, debido a que el número de brotes fue menor del esperado durante el periodo de reclutamiento. Por otro lado, el tipo de muestra, la metodología de obtención de las mismas y los complejos métodos para la extracción del RNA, ocasionaron que muchas de ellas tuvieran una integridad insuficiente para los análisis experimentales

aplicados (secuenciación y *microarrays*). Todo ello ha llevado a la confección de grupos con un número de muestras menor al deseado, y a que algunas de las muestras no estuvieran apareadas. A pesar de todo ello, consideramos que los resultados obtenidos son relevantes y de alta calidad experimental como lo sugieren las elevadas correlaciones obtenidas en la comprobación de los *microarrays* mediante RT-PCR, y en los estudios de interacción.

Entre los hallazgos más relevantes de nuestro estudio, destaca el haber podido confirmar nuestra hipótesis, demostrando que existe un perfil diferencial en el transcriptoma de muestras de tejido cólico de pacientes Re y noRe a GC sistémicos antes de iniciar el tratamiento con GC. Los miR-625-3p y miR-196b-3p, sobreexpresados en Re respecto a noRe a nivel basal (antes de iniciarse el tratamiento), nunca habían sido vinculados a la respuesta a GC, y el miR-625-3p tampoco se había vinculado nunca a la CU. Sin embargo el miR-196b-3p se había encontrado previamente como diferencial en comparaciones de pacientes con CU activa y controles ¹⁹¹.

Para el miR-196b-3p existen pocas dianas validadas, entre las que destacan el gen *SUV39H1 (suppressor of variegation 3-9 homolog 1)* implicado en la remodelación de la cromatina, que como sabemos es fundamental para una correcta transcripción de genes e importante en la respuesta a GC ¹²³, y el gen *NR4A3 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 3)* que codifica a un miembro de la superfamilia de receptores *steroid-thyroid hormone-retinoid*, muy similar a la proteína del receptor GC. Hemos encontrado solo una publicación específicamente vinculada con la forma madura del miR-196b-3p, que hace referencia a la capacidad que tiene la oxitocina para aumentar los niveles de este miR en células miométricas humanas ²⁴⁹. Cabe destacar que otras formas maduras del miR-196b como el miR-196b-5p se han vinculado a mTOR e incluso a la EII, pero corresponden a secuencias de nt diferentes a nuestro miR diferencial ²⁵⁰⁻²⁵¹⁻¹⁸⁷.

Entre las interacciones validadas más destacables del miR-625-3p se encuentra la que se produce con el gen *HIF1-A*, regulador de múltiples

funciones celulares en respuesta a la hipoxia y vinculado a la activación de numerosos genes que participan en la apoptosis, la angiogénesis, o el metabolismo energético. Además HIF1-A junto a AKT (también diana del miR-625-3p), forman parte de la vía mTOR que, como se desprende de nuestros hallazgos experimentales e *in silico*, podría estar implicada en la respuesta a GC sistémicos en pacientes con brotes moderados y graves de CU. Otras dianas relevantes del miR-625-3p son los genes CSNK2A1 (*casein kinase 2 alpha 1*); BAG4 (*BCL2 associated athanogene 4*); PEG10 (*paternally expressed 10*); PAK2 (*p21 (RAC1) activated kinase 2*), que se asocian con la apoptosis; o el gen TNIP1 (*TNFAIP3 interacting protein 1*) vinculado a diferentes enfermedades autoinmunes. No existen muchos estudios que vinculen al miR-625-3p con enfermedades concretas y la mayoría de las publicaciones provienen del campo de la oncología. Entre las más destacadas se encuentra la que lo vincula con el mesotelioma maligno (MM), siendo lo más destacable de este estudio la consideración de este miR como potencial biomarcador de MM en pacientes expuestos al asbesto ²⁵²⁻²⁵³. En otro interesante estudio se sugiere que la sobreexpresión del miR-625-3p podría ser de utilidad como marcador de mala respuesta al tratamiento con fluoropirimidina y oxaliplatino en el cáncer colorectal ²⁵⁴. De los escasos estudios que existen sobre este miR fuera del campo de la oncología destaca uno en el que se le relaciona de forma inversa con los niveles de colesterol y, por lo tanto, podría adquirir relevancia en pacientes con síndrome metabólico y riesgo cardiovascular ²⁵⁵.

Por último, del estudio *in silico* de los miR-625-3p, y miR-196b-3p se desprende que las principales vías enriquecidas por sus dianas potenciales son la vía de la endocitosis y la vía de la proteólisis, respectivamente. En cualquier caso, lo más importante que se obtiene de la integración de todos estos datos es que, además de moléculas con gran influencia sobre diferentes procesos biológicos, estos miR podrían ser utilizados como potenciales biomarcadores. De hecho, estas moléculas ya se han propuesto para este fin, incluso en la EII (como se comenta en la introducción), permitiendo diferenciar controles, de CU, y/o de EC. Sin embargo, ya disponemos en la actualidad de múltiples variables clínicas, biológicas, endoscópicas e histopatológicas que nos permiten

diagnosticar la enfermedad, o diferenciar formas activas de inactivas, por lo que la utilidad de los mencionados biomarcadores, en dichos contextos, podría ser poco útil en la práctica clínica diaria. Por el contrario, la aplicabilidad de los miR como biomarcadores en la predicción de la respuesta a GC tendría una mayor relevancia, debido a la imposibilidad de lograrlo con las herramientas actuales. Como hemos comentado poco a poco comienzan a aparecer estudios orientados a utilizar los miR con este objetivo ¹⁸⁵, y es posible que en un futuro próximo dispongamos de nuevos datos al respecto.

El resultado del *microarray* de nuestro estudio, no mostró diferencias significativas entre los grupos Re y noRe a nivel basal. Sin embargo, un enfoque más amplio de esta comparación muestra que 34 transcritos tienen una FDR < 0,05 y que estas diferencias, si bien no llegan a cumplir los criterios pre-establecidos para considerar a un transcrito como diferencial (era necesario también un FC > o < de 1,5), sugieren firmemente que estos grupos no son completamente iguales. Entre estos transcritos destacamos el gen SVIP (*small VCP interacting protein*) o el TECPR2 (*tectonin beta-propeller repeat containing 2*), ambos asociados a la autofagia ²⁵⁶⁻²⁵⁷. Es posible que la ausencia de hallazgos diferenciales mayores en el transcriptoma obtenido mediante *microarrays* entre estos grupos se deba a la similitud de los subfenotipos comparados, que presentan un elevado componente inflamatorio capaz de enmascarar singularidades moleculares. Por el contrario, las diferencias en los *microarrays* entre controles y pacientes con CU activa fueron notorias. El análisis *in silico* de las vías enriquecidas por los más de 900 transcritos diferenciales de la comparación control vs Re basal, y de los más de 1000 transcritos diferenciales de la comparación control vs noRe basal, muestra similitudes, pero también algunas diferencias que son difíciles de interpretar. En cualquier caso, muchos de los transcritos diferenciales encontrados en estas comparaciones, se encuentran vinculados a vías de señalización relacionadas a la inflamación, inmunidad, o barrera epitelial, entre otras.

Habíamos planteado como objetivos secundarios de nuestro estudio, evaluar los cambios en el transcriptoma provocados por el tratamiento con GC para

intentar comprender el potencial mecanismo asociado al fracaso a los GC. De nuestros resultados se desprende que existen 6 miR diferenciales (miR-183-5p; miR-584-5p; miR-126-5p; miR-625-3p; miR-1271-5p; miR-409-5p), y un transcrito diferencial (DDIT4/REDD1) entre las muestras cólicas de los grupos Re basal vs Re 3° día. Este dato adquiere más relevancia si tenemos en cuenta que la comparación de las muestras cólicas noRe basal vs noRe 3° día, mostró 13 miR diferenciales (miR-200c-3p; miR-18a-5p; miR-192-5p; miR-183-5p; miR-200a-5p; miR-10a-5p; miR-545-5p; miR-132-5p; miR-194-5p; miR-625-3p; miR-1271-5p; miR-409-5p; miR-504-5p), 9 de los cuales fueron exclusivos de los noRe. Hasta la fecha no se habían reportado cambios similares en el perfil de expresión de miR de pacientes con CU tratados con GC. De hecho lo poco que conocemos sobre la influencia de los GC sobre el perfil de miR, o de la influencia de algunos miR sobre la respuesta a GC, proviene de estudios realizados en otras enfermedades. Por ejemplo, un estudio realizado en niños con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) tratados con GC detectó que la sobreexpresión del miR 15b/16 aumenta la sensibilidad al fármaco, mientras que la inhibición del mismo induce resistencia ²⁵⁸. Se ha descrito también que el tratamiento con GC disminuye la expresión de miR-17-92, lo que ocasiona la sobreexpresión de la proteína Bim o BCL211L (*BCL2 like 11*), con función pro-apoptótica, mientras que la sobreexpresión de miR-17-92, disminuiría la expresión de Bim y atenuaría la capacidad pro-apoptótica mediada por GC ²⁵⁹. Otro estudio constató que la disminución de miR-17 y el consiguiente aumento de Bim no se produjo en un tipo celular especial de LLA resistentes a GC ²⁶⁰. Por otro lado en muestras de médula ósea de pacientes pediátricos con LLA se identificó que la infraexpresión de miR-355 se asocia a mala respuesta a GC y, al parecer, la sobreexpresión de este miR aumentaría la sensibilidad a la apoptosis inducida por Prednisona ²⁶¹. Estudios en timocitos de ratas, utilizando técnicas de *microarrays* y secuenciación, mostraron que los miR están sustancialmente disminuidos durante la apoptosis inducida por GC, lo que podría estar asociado a la inhibición de enzimas relacionadas con la biogénesis de miR ²⁶². Uno de los pocos estudios realizados en células no tumorales sobre el efecto de los GC en el perfil de miR, demostró que el nivel de miR-24 aumenta hasta 3 veces tras la estimulación con GC de células

CD3/CD28 de voluntarios sanos ²⁶³. Algo más reciente es el antes citado estudio realizado en pacientes con EEO. En este estudio se demostró la existencia de un perfil diferencial de 36 miR (32 sobreexpresados y 4 infraexpresados) entre las biopsias obtenidas antes de GC respecto a aquellas obtenidas después GC ²²¹.

Los hallazgos de nuestro estudio ponen de manifiesto 2 aspectos fundamentales; por un lado, que el tratamiento con GC sistémicos ocasiona cambios en el transcriptoma del colon de pacientes con CU y, por otro lado, que estos cambios son diferentes en pacientes Re y noRe a GC sistémicos. De los 15 miR diferenciales (si tenemos en cuenta ambas comparaciones intragrupo), el miR-200c-3p, el miR-200a-5p, el miR-192-5p, miR-194-5p, aparecen ya en algún estudio previo vinculados a diferentes situaciones de la CU ¹⁹¹. Es justamente en este estudio de Van Der Goten y colaboradores, en el que se asocia al miR-200c-3p de manera inversa con los genes IL8 y CDH11, a su vez relacionados con procesos inflamatorios y con la barrera epitelial intestinal, respectivamente. En nuestro caso el miR-200c-3p se mostró infraexpresado en noRe basal respecto a noRe 3º día, es decir, aumenta su expresión significativamente tras la exposición a GC en pacientes noRe. De este miR se conocen más de 700 interacciones potenciales y alrededor de 300 interacciones validadas entre las que destacan la interacción con el gen DDIT4/REDD1, vinculado a la respuesta a GC y componente de la vía mTOR, o la interacción con el gen VEGFA, vinculado a la CU y componente de la vía de señalización del mismo nombre localizada en el downstream de la vía mTOR. Otra interacción relevante de este miR es la que se produce con el gen IK β , inhibidor de NF-kB, que se encuentra vinculado a procesos inflamatorios y a la respuesta a GC. Se desprende además de nuestro estudio *in silico* que el miR-200c-3p es uno de los miR con mayor participación sobre la vía mTOR. Por último, este miR junto a los miR-183-5p, miR-126-5p y miR-18a-5p tienen como diana potencial al gen del receptor de GC conocido como NR3C1 (*nuclear receptor subfamily 3 group C member 1*) con todo lo que esto puede suponer en la respuesta a GC (anexo 8).

Los restantes miR diferenciales obtenidos de las comparaciones intragrupo, se asocian a procesos biológicos similares, como la autofagia, la endocitosis, la apoptosis, la proteólisis, la angiogénesis, la regulación del citoesqueleto, las vías asociadas a mantenimiento de uniones intercelulares, vías vinculadas a moléculas de adhesión, vía de la MAPKinasa, o vía mTOR, entre otras. Estos datos del estudio *in silico* realizado a partir de las dianas potenciales de cada uno de estos miR (anexo 9), muestran una elevada similitud con las funciones biológicas diferenciales obtenidas a partir de los microarrays. Añadiendo a ello una búsqueda de bibliografía sobre publicaciones relevantes vinculadas a estos miR, encontramos la asociación del miR-126-5p con el gen VEGFA ²⁶⁴⁻²⁶⁵, o el vínculo descrito entre el miR-18a con los genes VEGFA y HIF1A ²⁶⁶. En este último estudio se menciona además que la sobreexpresión del miR-18a reduce la forforilación de 2 sustratos de mTOR indicando que este miR podría ejercer un efecto inhibitor sobre mTOR.

Posiblemente la piedra angular de los resultados obtenidos de nuestro estudio y el vínculo de los resultados experimentales con los resultados *in silico*, haya sido el hallazgo del transcrito diferencial DDIT4/REDD1 en la comparación Re basal vs Re 3º día. Este gen no había sido vinculado hasta ahora con la CU o con la EII, pero sí con los GC, como hemos comentado previamente. En este sentido, Corradetti y colaboradores demostraron que DDIT4/REDD1 es un regulador negativo de mTOR y se sobreexpresa en situaciones de estrés, hipoxia, en incluso por exposición a GC ²⁴³. De ahí que uno de los alias de este gen sea Dig2 (*Dexametasone inducible gene* o gen inducido por dexametasona). En otro estudio, Otulakowski y colaboradores añaden que la expresión de DDIT4/REDD1 en respuesta a dexametasona sería dependiente del tipo celular, habiendo observado que la exposición a GC reprime la expresión de RNAm DDIT4/REDD1 en células epiteliales pulmonares fetales, y en células alveolares tipo II de adultos, mientras que aumentan su expresión en fibroblastos ²⁴². Wolff y colaboradores asociaron la inhibición de mTOR mediada por DDIT4/REDD1 con la sensibilidad o la resistencia a GC en la LLA. En este sentido la inducción de DDIT4/REDD1 por GC fue escasa en un tipo celular resistentes a GC ²⁴¹. Por último, en otro interesante estudio se asoció la

acción de los GC sobre DDIT4/REDD1 con algunos efectos secundarios del fármaco como la atrofia cutánea. En este estudio ratones *knock-out* para DDIT4/REDD1 mostraron protección frente a los efectos deletéreos conocidos de los GC sobre epidermis, dermis y tejido subcutáneo, pero sin embargo los efectos anti-inflamatorios de los GC fueron similares al de los ratones *wild-type*²⁴⁰. En nuestro estudio hemos encontrado que el tratamiento con GC aumenta los niveles de expresión del RNAm DDIT4/REDD1 en Re y noRe, siendo este aumento significativo en Re 3º día respecto a Re basal. Curiosamente el estudio mediante WB de la proteína DDIT4/REDD1 mostró que los niveles de expresión se redujeron en ambos grupos tras el tratamiento con GC, siendo esta reducción más marcada en noRe.

Fue a partir del hallazgo de DDIT4/REDD1 que se profundizó en el estudio de la vía mTOR, por ser la principal vía asociada a dicho gen. La proteína mTOR es una serina/treonina/quinasa y un componente esencial de la vía de señalización del mismo nombre. Esta vía de señalización está muy conservada evolutivamente y regula una gran variedad de procesos biológicos como el crecimiento y la proliferación celular, la transcripción y traducción de genes, la autofagia, la organización del citoesqueleto, o la fagocitosis, entre otros²³⁸. A pesar de no existir evidencia actual de una relación directa entre mTOR y CU, tras realizar una búsqueda ordenada en Pubmed con los términos MESH “*colitis ulcerative*” y “*TOR Serine-Threonine Kinases*”, y el conector “AND”, encontramos 2 publicaciones que de alguna manera relacionan estos términos. Uno de estos estudios muestra datos sobre el diseño de un compuesto (*compuesto 14*) con potente capacidad para la inhibición de la vía mTOR y cuya utilización suprime las anomalías macro y microscópicas asociadas a colitis inducida químicamente en modelos murinos²⁶⁷. En otro estudio se relaciona el aumento de la proteína CAP-D3 (*chromosome-associated protein D3*) y la inhibición de genes que codifican proteínas transportadoras de aminoácidos SLC7A5 (*solute carrier family 7 member 5*) y SLC3A2 (*solute carrier family 3 member 2*) con la autofagia bacteriana en células cólicas. Al parecer en pacientes con CU activa se encontrarían reducidos los niveles de la proteína CAP-D3 y aumentados los niveles de SLC7A5 y SLC3A2 respecto a

controles. Se sugiere en el estudio que el mecanismo por el que CAP-D3 regularía la autofagia sería a través del control de la actividad de mTOR²⁶⁸.

La integración de los resultados experimentales e *in silico* nos han permitido desarrollar modelos teóricos de respuesta a GC de pacientes Re y noRe. La base de ambos modelos la constituye la vía mTOR, sobre la que se han desplegado los diferentes hallazgos de ambos subfenotipos. Ya hemos comentado que es insuficiente intentar explicar la refractariedad solo mediante esta vía de señalización y que en una situación tan compleja como los brotes moderados o graves de CU se encuentran involucrados miles de genes que actúan en cientos de vías de señalización, muchas de las cuales están además interrelacionadas entre sí. Pero, por otro lado, consideramos que no haber explorado esta vía de señalización hubiera constituido un error, debido a que disponemos de evidencia experimental y resultados del estudio *in silico* que la señalan como potencialmente relevante. Dicho esto, el análisis de los modelos Re y noRe generados muestran claras diferencias cuantitativas y cualitativas en lo que se refiere al número y tipo interacciones RNAm - miR encontradas. En conjunto puede decirse que existe una mayor participación de miR en la vía mTOR de los pacientes noRe, destacando sobre el resto las interacciones que ejerce el miR-200c-3p (ya vinculado a la CU), con múltiples componentes de la vía mTOR.

Por último los resultados del WB nos han permitido conocer algunos interesantes aspectos de la regulación génica. Como hemos comentado, por un lado hemos podido constatar que la expresión proteica de DDIT4/REDD1 se relaciona de forma inversa a la expresión de su RNAm principalmente en los pacientes noRe a GC sistémicos, a diferencia de los pacientes Re donde no existe ninguna correlación. Este hallazgo daría sustento a la posibilidad de que sean justamente la regulación post-transcripcional llevada a cabo por miR la que ocasione estos hallazgos discordantes entre el transcrito y la proteína según la condición experimental. En este sentido, en algunas de las regresiones lineales realizadas en pacientes noRe hemos encontrado que los valores de expresión de la proteína DDIT4/REDD1 muestra una marcada

correlación inversa con la expresión de miR-183-5p y de miR-200c-3p, los cuales son los únicos miR diferenciales de nuestro estudio con capacidad de interactuar con DDIT4/REDD1.

En conjunto, estos resultados sugieren la existencia de miR de tejido cólico capaces de clasificar los pacientes en respondedores o no antes de iniciar el tratamiento con GC sistémicos. No obstante, la verdadera capacidad de estos miR para actuar como biomarcadores deberá ser comprobada en una población independiente más amplia. Pero a la vez, el enfoque holístico del estudio, integrando distintas fuentes de información ómica, ha permitido generar un nuevo punto de vista sobre el mecanismo por el fracasan los GC en algunos pacientes con CU activa. A pesar que estos resultados deberán ser comprobados en posteriores estudios experimentales, los datos obtenidos dirigen su atención hacía distintos componentes de la vía de señalización mTOR y la influencia que la hipoxia pueda ejercer en este entorno inflamatorio.

Conclusiones

8. CONCLUSIONES

- 1) Los miR-625-3p y miR-196b-3p están diferencialmente expresados en la mucosa cólica de los pacientes con brotes moderados o graves de colitis ulcerosa respondedores y no respondedores a glucocorticoides sistémicos antes de iniciar el tratamiento.
- 2) El transcriptoma de mucosa cólica se modifica de forma diferente en paciente respondedores y no respondedores tras el tratamiento con GC sistémicos, destacando el cambio en la expresión del RNAm DDIT4/REDD1 exclusivamente en los pacientes respondedores.
- 3) Los resultados de los estudios experimentales e *in silico*, sugieren que una regulación post-transcripcional llevada a cabo por miR sobre diferentes componente de la vía de señalización mTOR y la potencial influencia de aspectos como la hipoxia, podrían influir en la respuesta terapéutica a glucocorticoides en la colitis ulcerosa.
- 4) En esta regulación de la vía mTOR, los miR-183-5p y miR-200c-3p podrían jugar un papel clave en la respuesta al tratamiento glucocorticoideo, entre otros, por actuar sobre DDIT4/REDD1.

Anexos

ANEXO 1- Metodología para la extracción del RNA total y de las proteínas de las muestras de tejido cólico

SOLUCIONES Y MATERIALES

A. Homogenización

- *Qiazol (kit QIAGEN): 700µl/50mg tejido*
- Tubos M para *gentleMACS dissociator (Miltenyi Biotec)*
- Mortero con N₂ líquido
- *Eppendorfs RNase/DNase-free*

B. RNA

- Cloroformo
- *kit QIAGEN: miRNeasy Mini kit*
- Columnas *RNeasy* y reactivos para *QIAcube (QIAGEN)* para protocolo “*miRNeasy Mini kit; Aqueous Fase*”
- *Eppendorfs RNase/DNase-free*

C. Proteínas

- *Buffer de lisis celular UREA 10M / DDT 5mM*

PROTOCOLO

A- Homogenización (Mortero-N₂ líquido & GentleMacs)

1. Poner 700ul de Qiazol (para 50-60mg de tejido) en el *tubo M* del gentleMACS Dissociator y tararlo.
2. Poner el tubo en hielo
3. Enfriar el mortero con N₂ líquido una minutos antes
4. Añadir el tejido sin descongelar y disgregarlo a pequeños golpes de martillo hasta que quede como un polvo
5. Añadir el material al *tubo M* con el Qiazol (mantenerlo en hielo)
6. Limpiar el mortero y material empleado con DNA-tor entre muestra y muestra

7. Pesar los *tubos M* con la muestra para saber si se debe añadir más QIAzol
8. Homogeneizar con programa RNA_2 del *gentleMACS Dissociator* (tantas veces como sea necesario para no ver ningún trozo).
9. Centrifugar los *tubos M*: 1', a 4°C, a 2500 rpm para recoger todo el volumen.
10. Trasladar todo el volumen del *tubo M* a *ependorfs RNase/DNase-free*.
11. Dejar 5' a temperatura ambiente.
12. Añadir 140 µl cloroformo para 700 µl de QIAzol a cada *ependorf*.
13. Mezclarlo bien, mirando que el tubo este bien tapado. Dejar 3' a temperatura ambiente.
14. Centrifugar 15', 4°C, 12000xg.
15. Se obtendrán 3 fases: Fase acuosa superior = RNA; Interfase = DNA; última fase inferior = Proteínas y restos celulares.
16. Recuperar la fase acuosa (RNA) y el resto de fases se guardan a 4°C.

B- Extracción del RNA (Fase superior)

Seguir el protocolo (*miRNeasy Mini Kit; Aqueous Fase*) de *QIAcube* para la extracción del RNA.

17. Transferir la parte superior (Acuosa) a tubos de 2ml *Eppendorf RNase/DNase-free*, y ponerlo en el lugar que le corresponde del *QIAcube*.
18. Poner todos los reactivos, columnas y *ependorfs* necesarios dentro del *QIAcube*.
19. Programar el volumen de elución final: 30µl.
20. Cuando termine el programa de RNA poner todo en hielo.

21. OPCIONAL: si hemos utilizado más de una columna por muestra (debido a que había más de 700 µl de Qiazol) ajuntar todas las eluciones en un tubo.
22. Añadir *SUPERase-In RNase Inhibitor* a las muestras a 1U/µl (cf)
23. Cuantificar el RNA con *Nanodrop* antes de congelar.
24. Alicuotar:
 - 3 alícuotas de 2 µl en epp 1.5ml. (*Experion* y *Nanodrop*).
 - 3 alícuotas con 1ug de RNA en tubos de 0.2ml (RT-PCR)

C- Extracción de Proteínas

25. Recuperar las fases intermedia e inferior y mezclarlas bien.
26. Añadir 210 µl de Etanol absoluto frío.
27. Mezclar por inversión (10 veces) y dejar en 3' a temperatura ambiente.
28. Centrifugar a 2000xg, 4°C, 20'.
29. Recuperar el sobrenadante (300 µl) en un tubo limpio.
30. Añadir 4 volúmenes de acetona fría (a -20°C).
31. Mezclar y dejar 2'30h a -20°C.
32. Centrifugar 10' a máxima velocidad a 4°C.
33. Descartar el sobrenadante y dejar secar el *pellet* al aire.
34. Añadir 100 µl de solución 10M UREA/5mM DTT y con *pellet tester* deshacer pellet y añadir 200 µl más de solución UREA/DTT
35. Dejar 1h a temperatura ambiente
36. Incubar 3' a 95°C en el baño seco.
37. Poner las muestras en hielo y sonicar 1' en el baño de ultrasonidos.
38. Centrifugar a 10000xg, 10', a temperatura ambiente.
39. Recuperar el sobrenadante donde se encuentran las proteínas.
40. Cuantificar con el *Bradford* (*BioRad*).
41. Congelar en alícuotas a -80°C hasta su uso para *Western Blot*.

ANEXO 2 – Metodología utilizada para realizar RT-PCR

A. Protocolo de retrotranscripción con el kit *PrimeScript™ RT reagent (Perfect Real Time)* para sondas *TaqMan*

1. Descongelar el kit *PrimeScript™ RT reagent (Perfect Real Time)* (TAKARA, Japón)
2. Preparar cálculos para todas las retrotranscripciones (RT)
 - RT de volumen final de 10µL
 - RNA total a retrotranscribir = 1µg
3. Preparar Master Mix (MM) conjunta

Reactivos	Volumen por muestra (µL)
5X <i>PrimeScript buffer (for Real Time)</i>	2
<i>PrimeScript RT Enzyme MIX*</i>	0,5
Oligo dT <i>Primer</i> (50uM)	0,5
<i>Random 6 Mers</i> (100uM)	2
<i>total RNA</i> (1ug)	X
<i>RNase-free H₂O</i>	X
TOTAL	10ul
MM por cada muestra	5ul
H ₂ O + muestra	5ul

* Hacer *spin* breve antes de pipetear volumen

4. Primero poner 5 µL de MM en cada tubo/muestra, y después 5 µL de muestra y H₂O = 10 µL volumen final/muestra
5. Programar el Termociclador: 15min a 37°C, 5 seg a 85°C, y HOLD 4°C
6. Con el cDNA resultante hacer alícuotas (en tubo o placa de PCR).
7. Congelar a -80°C.

B. Protocolo TaqMan® Gene Expression Assays

1. La evaluación de la expresión génica se hará mediante PCR a tiempo real con Sondas TaqMan (TaqMan® Gene Expression assays, ThermoFisher Scientific).
2. Después de un proceso de optimización, se estableció que la cantidad mínima de cDNA necesaria para la reacción de PCR de todos los genes a valorar era de 20ng/muestra.
3. Para determinar el mejor *housekeeping gene* se usaron los programas de NormFinder y geNorm con los que se obtuvo que GUSB y HMBS eran los genes que presentaban una expresión más homogénea intra- e inter-grupo en nuestras condiciones.
4. La reacción de PCR a tiempo real se hizo de la siguiente manera:

a) Preparamos la *PCR reaction mix* para cada sonda *taqman*:

Reactivos	Volumen por muestra (µL)
20 x Taqman Gene Expression Assay	0,5
Taqman Gene Expression Master Mix	5
RNAse free H2O	2,5
cDNA template (20ng/µL)	2
TOTAL	10

- b) Dispensar en placas de 384 la *PCR reaction mix* (8 µL) y la muestra (2 µL)
- c) Poner la placa en el *LightCycler (Roche)* y programar los ciclos de PCR según indica el fabricante.

ANEXO 3 – Metodología utilizada para realizar el *Western Blot*

A. Precipitación de proteínas a muy baja concentración

Debido a la baja concentración proteica que obtuvimos en la extracción, para poder cargar los 60 µg de proteína/pocillo de gel, necesitamos hacer una precipitación previa.

Material

- Sodium- Deoxycholat detergente (DOC) (Sigma Aldrich, España)
- Ácido tricloroacético (TCA) (Sigma Aldrich, España)
- Acetona (Sigma Aldrich, España)

Hemos seguido el siguiente protocolo:

1. Coger el volumen necesario para tener los µg de proteína que queremos precipitar.
2. Añadir 1/100 volumen (0,01%) al 2 % de DOC.
3. Vortear y dejar reposar durante 30' a 4°C
4. Añadir 1/10 volumen (0,1%) de TCA al 100%
5. Vortear y dejar toda la noche a 4°C
6. Centrifugar 15' a 4°C a una velocidad máxima (16000 xg)
7. Descartar el sobrenadante cuidadosamente y quedarse con el *pellet*.
Hacerlo por inversión sobre papel absorbente
8. Limpiar el *pellet* añadiendo 300 µL de acetona a -20°C y centrifugar 10' a 16000 xg a 4°C.
9. Dejar secar los *pellets* a temperatura ambiente durante 10'.

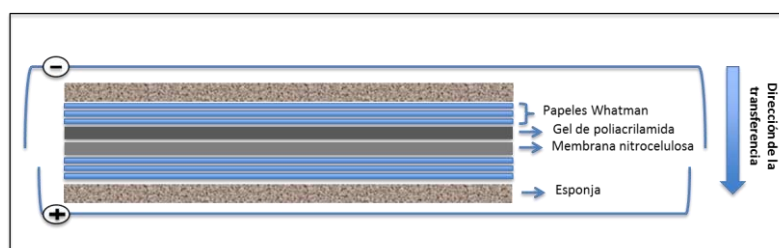
B. Protocolo de *Western Blot*

Material

- Tampón Carga NuPAGE® LDS 4x (ThermoFisher Scientific, España)
- NuPAGE® Reducing agent 10x (ThermoFisher Scientific, España)

- Geles *NuPAGE*[®] *Novex*[®] Bis-Tris acrilamida (*ThermoFisher Scientific*, España)
- Buffer de electroforesis *NuPAGE*[®] *MOPS SDS Running Buffer* (20X) (*ThermoFisher Scientific*, España)
- Papel *Whatman*[®] (*Millipore*, España)
- Membrana de nitrocelulosa de 0.45µm (*BioRad*, España)
- Buffer de Bloqueo *Odyssey* (*LI-COR*, España)
- *Tween* -20 (TW-20) (*Sigma-Aldrich*, España)
- Buffer de transferencia: 197mM Glicina, 27mM TRIS, 20% metanol
- Buffer *Tris-Buffered saline* (TBS) (*Sigma-Aldrich*, España) y TBS con *Tween*-20 (0.1%) (TBS-T).
- Anticuerpos primarios y secundarios

10. Preparar las muestras en un volumen final de 25µl: añadir 23 µl de tampón de carga LSD 1x y 2.5 µl de *reduction agent* 10x al *pellet* precipitado de proteína.
11. Mezclar y poner 10 min a 70° en el baño seco.
12. Cargar las muestras y el marcador de peso molecular en el gel de Bis-acrilamida al 10%.
13. Dejar correr la electroforesis a 200V (aproximadamente durante 1h), en *buffer MOPS*.
14. Recuperamos el gel y montamos la transferencia según el esquema:



Tanto la membrana como los papeles *Whatman* se mojarán previamente con buffer de transferencia.

15. Conectar la fuente a 20V y dejar transfiriendo 60 minutos.

16. Parar la transferencia y recuperar la membrana
17. Poner membrana en un tubo de 50 ml con 10 ml de *buffer* de bloqueo *Odyssey*.
18. Dejamos incubar 1 hora a temperatura ambiente y agitación.
19. Preparar *Buffer* anticuerpo primario (3 ml/membrana: 3ml de *Buffer* bloqueo *Odyssey* + 3ul TW-20 + anticuerpo primario)
20. Incubar toda la noche a 4°C y agitación.
21. Decantar solución de incubación.
22. Hacer cuatro lavados de 10' con TBS-T a temperatura ambiente y agitación.
23. Preparar anticuerpos secundarios (5 ml/membrana: 2,5 ml TBS + 2,5 ml *Buffer* de bloqueo *Odyssey* + 5µL TW-20 + anticuerpo secundario)
24. Incubar membrana durante 1 hora en agitación, a temperatura ambiente y en oscuridad.
25. Hacer cinco lavados de 10' con TBS-T a temperatura ambiente, agitación y en oscuridad. El último lavado se hará en TBS, para eliminar el *Tween* de la membrana, que puede dar marcaje de fondo en el escaneo.
26. Escanear la membrana en el escáner *Odyssey* (LI-COR)

Los anticuerpos y a las diluciones que se recogen en la siguiente tabla:

Anticuerpo Primarios	Dilución	Peso molecular (KDa)	Casa Comercial
REDD1 (DDIT4)	1/250	35	<i>Proteintech</i>
Anticuerpo Secundarios	Dilución		Casa Comercial
<i>Donkey Anti-rabbit</i>	1/20000		<i>Licor</i>
<i>Donkey Anti-goat</i>	1/20000		<i>Licor</i>
<i>DonkeyAnti-mouse</i>	1/20000		<i>Licor</i>

ANEXO 4 - Resultado de la integridad, y lista de las muestras utilizadas para los estudios experimentales

A. Integridad del RNA (Bioanalizador *Experion* y *Agilent*)

Grupo	Integridad <i>Experion</i>	Código Biogune	Integridad <i>Agilent</i>
Control	2,6	-	-
Control	2,9	-	-
Control	2,6	-	-
Control	6,5	D61	7
Control	6,8	D02	7,5
Control	7,4	D85	9,2
Control	2,5	-	-
Control	6,6	D49	6,9
Control	6,8	D73	7,4
Control	7	D14	7,4
Re basal	2	-	-
Re basal	2,1	-	-
Re basal	6,7	D26	4,4
Re basal	2,2	-	-
Re basal	2	-	-
Re basal	7,1	D28	8
Re basal	6,1	D78	7,3
Re basal	7,2	D07	7,7
Re basal	6,5	D31	7
Re basal	8	D55	7,9
Re basal	7,7	D30	7,6
Re basal	6,8	D52	7,3
Re basal	7,6	D54	7,4
noRe basal	8,8	D29	8,6
noRe basal	2,6	-	-
noRe basal	6,7	D04	7,6
noRe basal	3,5	-	-
noRe basal	7,4	D06	8,1
noRe basal	6,2	D75	7,3
noRe basal	6,8	D77	7,6
noRe basal	2	-	-
noRe basal	7,8	D05	7,9
noRe basal	7,2	D53	8,1
Re 3° día	7,8	D76	8
Re 3° día	2,6	-	-
Re 3° día	3,7	-	-
Re 3° día	2,8	-	-
Re 3° día	2,1	-	-
Re 3° día	8,6	D40	8,4
Re 3° día	7,9	D90	7,7
Re 3° día	6,4	D19	7
Re 3° día	6,9	D43	7,1
Re 3° día	7,1	D67	7,8
Re 3° día	7,2	D42	8
Re 3° día	6,6	D64	7,4
Re 3° día	6,8	D66	7,6
noRe 3° día	8,5	D17	8,8
noRe 3° día	7,6	D87	7,4
noRe 3° día	8,2	D89	8
noRe 3° día	2,2	-	-
noRe 3° día	2,5	-	-
noRe 3° día	7,6	D88	7,7
noRe 3° día	6,5	D16	8
noRe 3° día	7,4	D91	7,1
noRe 3° día	2,6	-	-
noRe 3° día	8,5	D41	7,7
noRe 3° día	8	D65	8,3

B. Muestras utilizadas para los estudios experimentales

Control	D02	D14	D49	D61	D73	D85				Total 6
Re basal	D07	D26 ^(a)	D28	D30	D31	D52	D54	D55	D78	Total 9
noRe basal	D04	D05	D06 ^(b)	D29	D53	D75	D77			Total 7
Re 3º día	D19	D40	D42	D43	D64	D66	D67	D76	D90	Total 9
noRe 3º día	D16	D17	D41	D65	D87	D88	D89	D91		Total 8

- a) no utilizada para la secuenciación
b) no utilizada para el *microarrays*

ANEXO 5 – Resultados de la secuenciación de miR

A. Comparación entre controles y Re basal

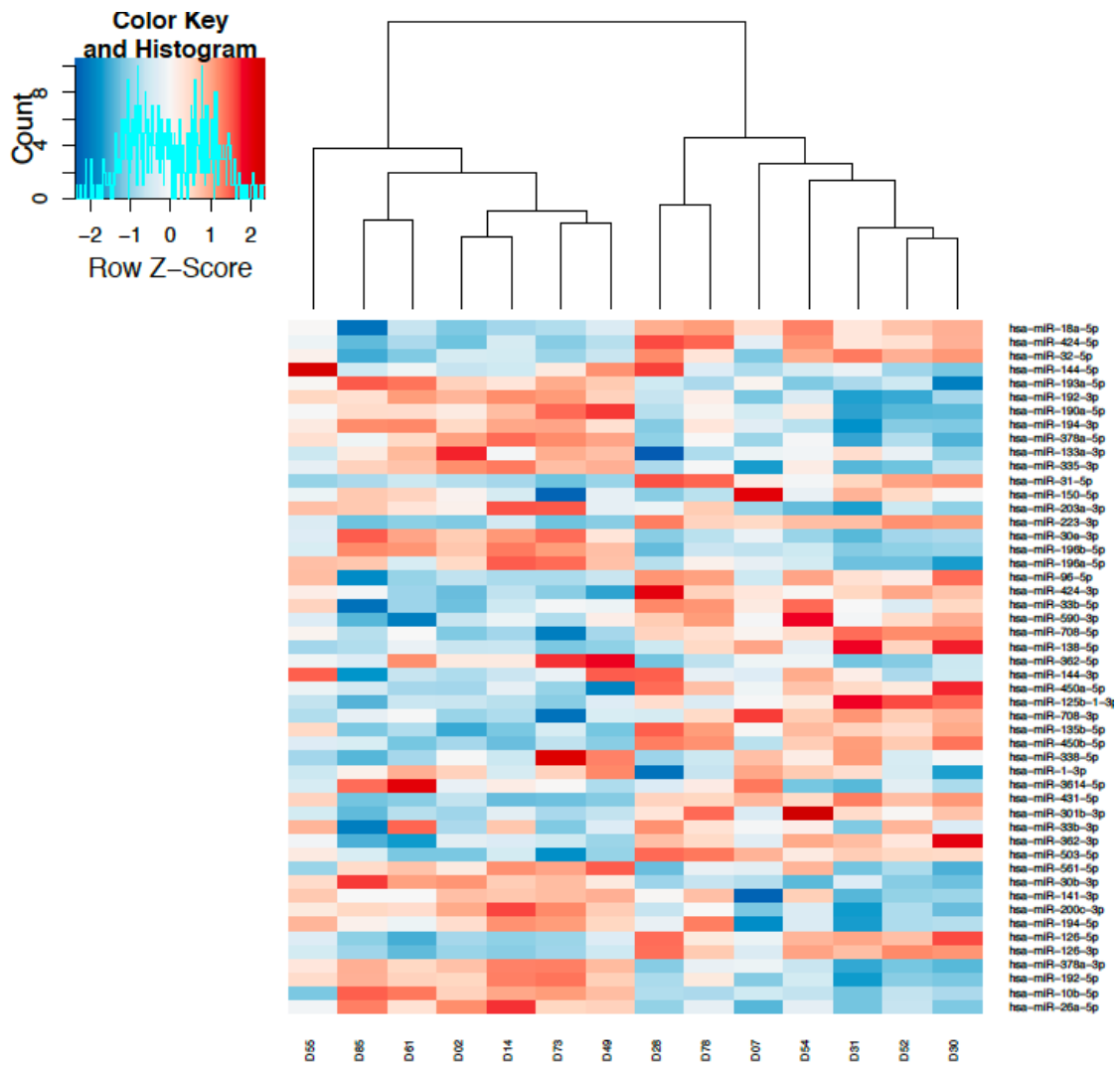
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G1 vs G2

miR	logFC	FDR
hsa-miR-10b-5p	-2,099404081	9,99E-28
hsa-miR-196b-5p	-1,709768388	2,44E-22
hsa-miR-223-3p	2,160096916	8,02E-16
hsa-miR-10a-5p	-1,117717411	1,67E-12
hsa-miR-30e-3p	-1,311169726	1,80E-11
hsa-let-7b-5p	-0,977474848	1,06E-10
hsa-miR-135b-5p	1,981815083	1,22E-10
hsa-miR-431-5p	2,068894804	1,31E-10
hsa-miR-130b-3p	0,988300702	1,04E-09
hsa-miR-126-3p	1,781883869	1,61E-09
hsa-miR-28-3p	-1,095137246	3,29E-09
hsa-miR-92a-3p	-1,108431186	8,46E-09
hsa-miR-126-5p	1,636932216	3,05E-08
hsa-miR-31-5p	3,333284685	3,05E-08
hsa-miR-18a-5p	1,532920121	3,05E-08
hsa-miR-424-5p	1,598603632	3,74E-08
hsa-miR-22-3p	1,033688721	4,01E-08
hsa-miR-15a-5p	0,776502853	4,41E-08
hsa-miR-16-2-3p	1,203984216	4,58E-08
hsa-miR-26a-5p	-1,209925884	6,97E-08
hsa-miR-151a-3p	-0,904892853	7,74E-08
hsa-miR-503-5p	2,359578413	2,54E-07
hsa-miR-450b-5p	1,839926466	6,22E-07
hsa-miR-1296-5p	-1,084284019	8,65E-07
hsa-miR-96-5p	1,320633251	1,00E-06
hsa-miR-378a-3p	-1,569361365	1,03E-06
hsa-miR-155-5p	1,101747735	1,06E-06
hsa-miR-708-5p	1,699659152	1,32E-06
hsa-miR-335-3p	-1,25390665	1,55E-06
hsa-miR-30b-3p	-1,662161684	1,91E-06
hsa-let-7a-5p	-0,898761537	2,87E-06
hsa-miR-424-3p	1,55616965	3,06E-06
hsa-miR-30d-5p	-0,77817067	3,42E-06
hsa-miR-193a-5p	-1,254810677	3,96E-06
hsa-miR-200c-3p	-1,318907099	4,53E-06
hsa-miR-450a-5p	1,527816139	8,51E-06
hsa-let-7g-5p	-0,501658984	8,51E-06
hsa-miR-30b-5p	-0,523110141	1,30E-05
hsa-miR-30c-5p	-0,489433271	1,33E-05
hsa-miR-9-5p	-1,040672691	1,42E-05
hsa-miR-194-3p	-1,589555547	1,54E-05
hsa-miR-20a-5p	-0,96651501	1,73E-05
hsa-miR-148a-3p	0,795736531	2,87E-05
hsa-miR-584-5p	1,132738626	3,02E-05
hsa-miR-151a-5p	-0,725181775	3,16E-05
hsa-miR-192-5p	-1,480961717	3,57E-05
hsa-miR-381-3p	-0,872890178	3,57E-05
hsa-miR-29b-3p	1,069227319	4,21E-05
hsa-miR-148b-5p	0,908945915	4,79E-05
hsa-miR-32-5p	1,090436429	4,83E-05

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G1 vs G2

miR	logFC	FDR
hsa-miR-10b-5p	-2,105090569	4,86E-25
hsa-miR-196b-5p	-1,69864181	9,16E-17
hsa-miR-223-3p	2,308971855	3,44E-15
hsa-miR-431-5p	2,211148757	3,74E-12
hsa-miR-135b-5p	2,13281655	4,47E-11
hsa-miR-30e-3p	-1,301070601	1,40E-09
hsa-miR-126-3p	1,915921613	3,44E-09
hsa-miR-31-5p	4,801601882	3,44E-09
hsa-miR-10a-5p	-1,090648262	2,49E-08
hsa-miR-126-5p	1,751012942	4,52E-08
hsa-miR-503-5p	2,714352225	5,75E-08
hsa-miR-18a-5p	1,642002868	1,36E-07
hsa-miR-424-5p	1,730251507	1,52E-07
hsa-miR-378a-3p	-1,629738767	2,35E-07
hsa-miR-92a-3p	-1,092170024	2,35E-07
hsa-miR-28-3p	-1,073148716	2,87E-07
hsa-let-7b-5p	-0,954784531	3,36E-07
hsa-miR-450b-5p	2,027683631	4,63E-07
hsa-miR-26a-5p	-1,197917726	4,87E-07
hsa-miR-16-2-3p	1,277966802	5,60E-07
hsa-miR-22-3p	1,09996846	8,07E-07
hsa-miR-708-5p	1,87467767	1,26E-06
hsa-miR-155-5p	1,171327403	1,79E-06
hsa-miR-30b-3p	-1,751351472	2,00E-06
hsa-miR-130b-3p	1,042957315	2,45E-06
hsa-miR-424-3p	1,702112726	2,45E-06
hsa-miR-96-5p	1,40575571	2,84E-06
hsa-miR-200c-3p	-1,330999571	4,00E-06
hsa-miR-335-3p	-1,259941162	5,91E-06
hsa-miR-193a-5p	-1,274117228	7,43E-06
hsa-miR-194-3p	-1,671349854	9,85E-06
hsa-miR-539-3p	1,614796678	1,01E-05
hsa-miR-450a-5p	1,670316801	1,12E-05
hsa-miR-151a-3p	-0,87324903	1,28E-05
hsa-miR-192-5p	-1,540754203	1,89E-05
hsa-miR-1296-5p	-1,074554864	3,20E-05
hsa-miR-29b-3p	1,146902532	4,67E-05
hsa-miR-9-5p	-1,049201035	4,67E-05
hsa-miR-15a-5p	0,820070874	4,67E-05
hsa-let-7a-5p	-0,876920779	4,67E-05
hsa-miR-190a-5p	-1,713251235	4,85E-05
hsa-miR-584-5p	1,207706288	5,39E-05
hsa-miR-148a-3p	0,855617842	6,85E-05
hsa-miR-20a-5p	-0,954927552	7,20E-05
hsa-miR-378a-5p	-1,430916099	7,20E-05
hsa-miR-362-5p	-1,222690298	9,89E-05
hsa-miR-369-3p	1,143604388	0,000104616
hsa-miR-32-5p	1,172595329	0,000108118
hsa-miR-183-3p	1,8299655	0,000143591
hsa-miR-362-3p	1,647917115	0,000178697

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G1 vs G2



B. Comparación entre controles y noRe basal

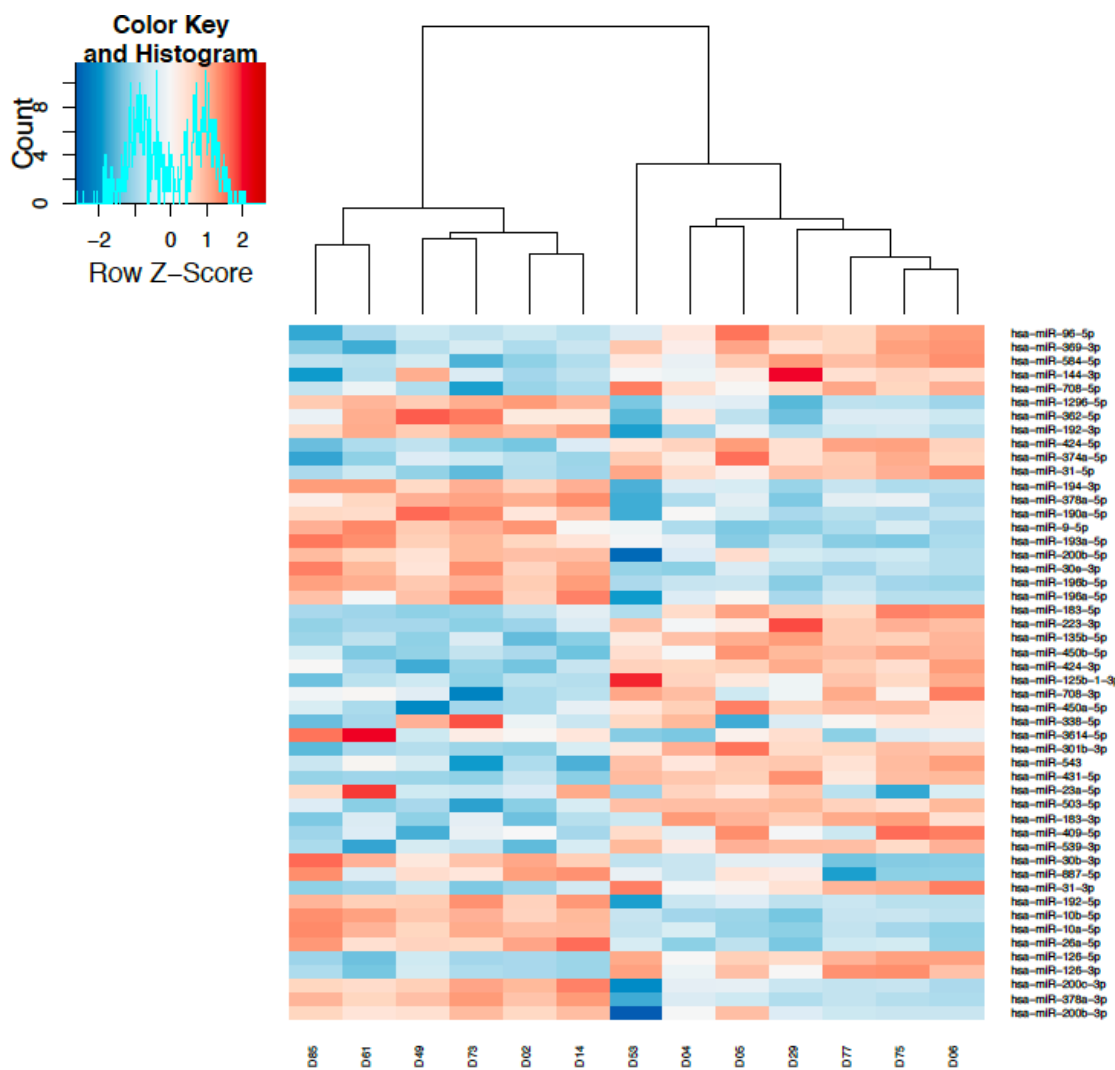
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G1 vs G3

miR	logFC	FDR
hsa-miR-196b-5p	-2,198204572	2,20E-47
hsa-miR-10b-5p	-2,937681492	1,26E-40
hsa-miR-10a-5p	-1,683395143	5,69E-29
hsa-miR-31-5p	4,059543497	2,50E-24
hsa-miR-126-5p	2,471402843	5,29E-22
hsa-miR-378a-3p	-2,428903665	4,66E-20
hsa-miR-30e-3p	-1,551582511	1,04E-19
hsa-miR-194-3p	-2,721316446	2,87E-19
hsa-miR-431-5p	2,801262329	6,05E-18
hsa-let-7b-5p	-1,302563659	7,82E-18
hsa-miR-330-5p	1,410630653	4,73E-16
hsa-miR-32-5p	1,404827301	5,90E-16
hsa-miR-192-5p	-2,422512198	5,91E-16
hsa-miR-424-5p	1,528209644	1,45E-15
hsa-miR-135b-5p	2,245959063	1,70E-15
hsa-miR-130b-3p	1,127599871	3,10E-15
hsa-miR-26a-5p	-1,591526258	6,87E-15
hsa-miR-1296-5p	-1,667351031	2,72E-14
hsa-miR-192-3p	-2,072340613	1,23E-13
hsa-miR-223-3p	2,306567866	1,82E-13
hsa-miR-22-3p	1,241676191	7,60E-13
hsa-miR-30d-5p	-0,941647274	9,77E-13
hsa-miR-126-3p	1,950047724	1,01E-12
hsa-miR-20a-5p	-1,260247744	1,09E-12
hsa-miR-450b-5p	2,142936401	2,00E-12
hsa-let-7a-5p	-1,339039591	2,01E-12
hsa-miR-92a-3p	-1,048672989	2,08E-12
hsa-miR-9-5p	-1,543549869	2,36E-12
hsa-miR-532-5p	-1,1122351	9,58E-12
hsa-miR-15a-5p	0,813931797	1,10E-11
hsa-miR-301b-3p	2,148191534	2,89E-11
hsa-miR-93-5p	-0,741070595	3,32E-11
hsa-miR-584-5p	1,950281807	5,79E-11
hsa-miR-369-3p	1,591949965	1,01E-10
hsa-miR-193a-5p	-1,496116708	2,04E-10
hsa-let-7f-5p	-1,014189998	2,79E-10
hsa-miR-190a-5p	-2,268129433	4,90E-10
hsa-miR-125b-1-3p	2,372713902	5,14E-10
hsa-miR-374a-5p	1,419702092	5,49E-10
hsa-miR-378a-5p	-2,107710881	6,34E-10
hsa-miR-424-3p	1,562442141	8,44E-10
hsa-let-7g-5p	-0,83357918	9,73E-10
hsa-miR-30b-3p	-1,939974525	1,13E-09
hsa-miR-708-5p	2,17603666	1,67E-09
hsa-miR-200c-3p	-1,822017112	1,79E-09
hsa-miR-503-5p	2,676987842	1,85E-09
hsa-miR-16-5p	0,915507954	2,81E-09
hsa-miR-28-3p	-0,994473306	5,29E-09
hsa-miR-450a-5p	1,636381257	5,29E-09
hsa-miR-17-3p	1,052399891	1,69E-08

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G1 vs G3

miR	logFC	FDR
hsa-miR-10b-5p	-2,891340145	4,09E-33
hsa-miR-196b-5p	-2,121736392	1,31E-31
hsa-miR-31-5p	4,41638194	8,00E-23
hsa-miR-431-5p	2,962656121	1,11E-21
hsa-miR-126-5p	2,615899093	3,50E-20
hsa-miR-378a-3p	-2,401488566	7,07E-20
hsa-miR-194-3p	-2,721375025	1,92E-19
hsa-miR-10a-5p	-1,607437819	5,49E-18
hsa-miR-135b-5p	2,374093855	1,11E-16
hsa-miR-192-5p	-2,410882241	2,26E-16
hsa-miR-223-3p	2,500241813	1,78E-15
hsa-miR-30e-3p	-1,477638601	1,24E-14
hsa-miR-503-5p	2,924010499	4,54E-14
hsa-miR-450b-5p	2,281219529	2,80E-13
hsa-miR-424-5p	1,631257763	2,94E-13
hsa-miR-32-5p	1,4995567	6,94E-13
hsa-miR-192-3p	-2,037113697	6,94E-13
hsa-miR-126-3p	2,092237467	9,18E-13
hsa-miR-301b-3p	2,286273211	1,26E-12
hsa-miR-26a-5p	-1,510590193	2,19E-12
hsa-miR-330-5p	1,497789528	1,16E-11
hsa-miR-1296-5p	-1,61219862	2,41E-11
hsa-miR-584-5p	2,093953917	2,87E-11
hsa-miR-22-3p	1,347518322	4,95E-11
hsa-let-7b-5p	-1,225726115	8,40E-11
hsa-miR-130b-3p	1,22052825	8,57E-11
hsa-miR-125b-1-3p	2,577174529	1,06E-10
hsa-miR-708-5p	2,381397443	2,14E-10
hsa-miR-369-3p	1,698246878	2,38E-10
hsa-miR-424-3p	1,67491474	3,62E-10
hsa-miR-190a-5p	-2,314347373	3,94E-10
hsa-miR-200c-3p	-1,788775767	4,75E-10
hsa-miR-20a-5p	-1,188216853	5,48E-10
hsa-miR-30b-3p	-1,929975313	5,48E-10
hsa-miR-378a-5p	-2,096490884	8,04E-10
hsa-miR-9-5p	-1,48769284	1,24E-09
hsa-miR-539-3p	1,991111216	1,24E-09
hsa-miR-374a-5p	1,519100563	1,32E-09
hsa-let-7a-5p	-1,269806954	1,46E-09
hsa-miR-183-5p	1,761175821	1,81E-09
hsa-miR-450a-5p	1,753216032	2,38E-09
hsa-miR-193a-5p	-1,445234855	3,02E-09
hsa-miR-31-3p	4,703906836	1,24E-08
hsa-miR-532-5p	-1,028133203	2,52E-08
hsa-miR-196a-5p	-1,941917881	3,59E-08
hsa-miR-16-5p	1,013103212	7,21E-08
hsa-miR-92a-3p	-0,968579248	9,56E-08
hsa-miR-196b-3p	-1,471588429	1,14E-07
hsa-miR-183-3p	2,540429058	1,24E-07
hsa-miR-96-5p	1,537104402	1,24E-07

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G1 vs G3



C. Comparación entre Re basal y noRe basal

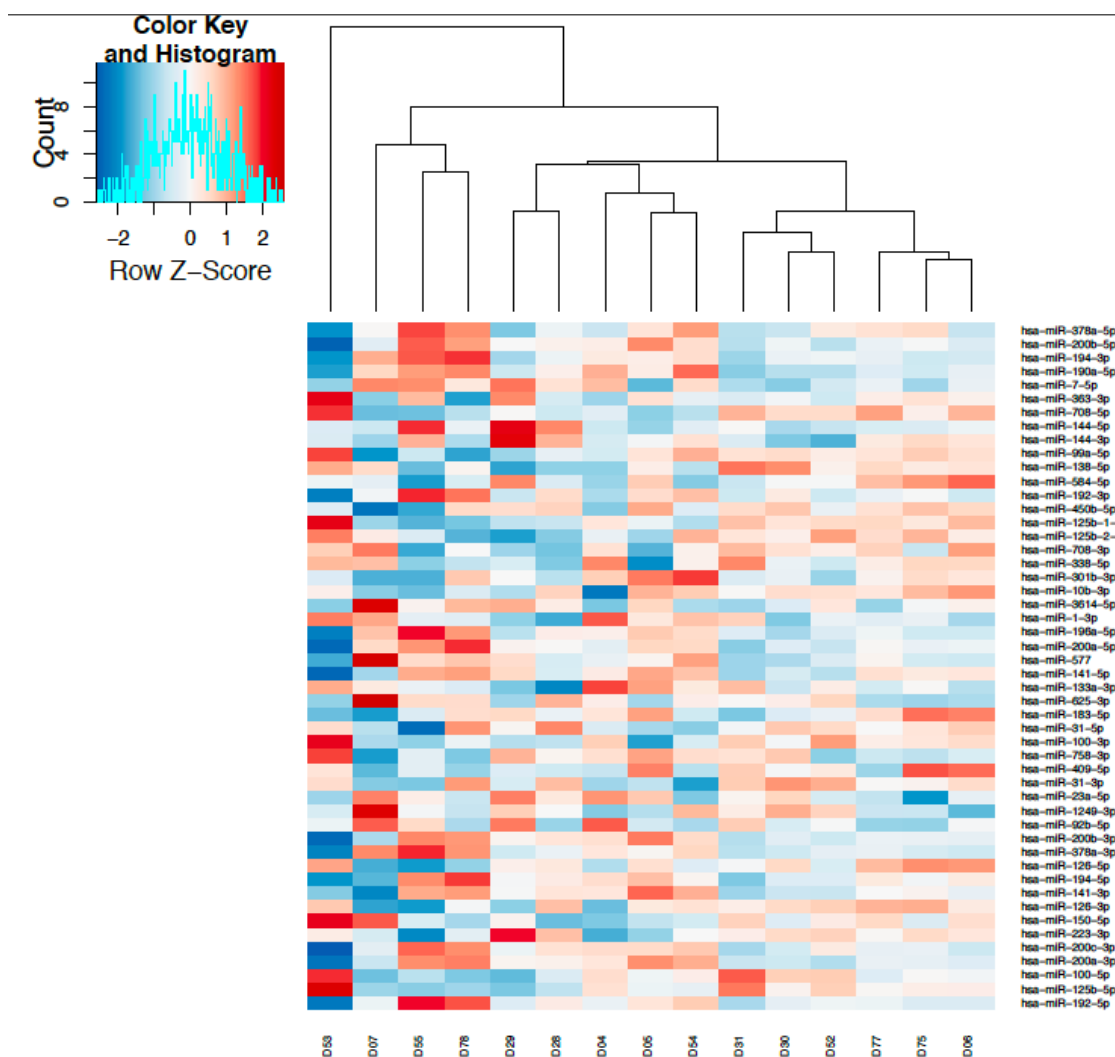
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G2 vs G3

miR	logFC	FDR
hsa-miR-625-3p	-1,220203991	0,00022402
hsa-miR-148a-5p	-0,797530505	0,002125212
hsa-miR-10b-5p	-0,744519002	0,002764681
hsa-miR-411-5p	0,563055015	0,002764681
hsa-miR-769-5p	-0,605336884	0,002764681
hsa-miR-660-5p	-0,511093929	0,002996135
hsa-miR-10a-5p	-0,519177353	0,009948328
hsa-miR-196b-3p	-0,835519432	0,012821532
hsa-miR-431-5p	0,641646626	0,012821532
hsa-miR-584-5p	0,726188849	0,01696619
hsa-miR-15b-3p	-0,505325727	0,016991655
hsa-miR-339-5p	-0,461706775	0,019874811
hsa-miR-1249-3p	-0,817990349	0,032478852
hsa-miR-497-5p	0,434128639	0,034303684
hsa-miR-369-5p	0,6229329	0,034303684
hsa-miR-370-3p	0,665934266	0,034748336
hsa-miR-377-3p	0,702476567	0,035449621
hsa-miR-183-5p	0,732712679	0,035449621
hsa-miR-532-5p	-0,527240169	0,038258965
hsa-miR-106b-3p	-0,531632632	0,048216219
hsa-miR-126-5p	0,671323331	0,057831193
hsa-miR-494-3p	0,691786505	0,058183828
hsa-miR-543	0,619167458	0,058183828
hsa-let-7a-5p	-0,401911747	0,058183828
hsa-miR-98-3p	0,522013052	0,058183828
hsa-miR-493-3p	0,595093632	0,058183828
hsa-miR-194-3p	-0,762180848	0,058183828
hsa-miR-331-5p	0,643449035	0,058183828
hsa-miR-193b-3p	-0,477515204	0,061898775
hsa-miR-196b-5p	-0,429534399	0,063423181
hsa-miR-338-3p	0,518422504	0,073217889
hsa-miR-192-3p	-0,672044243	0,078812285
hsa-miR-642a-5p	-0,610035342	0,082846757
hsa-miR-887-3p	-0,431936889	0,09132723
hsa-miR-454-5p	-0,542900983	0,09132723
hsa-miR-6503-3p	-0,657682398	0,09132723
hsa-miR-199a-5p	0,426002697	0,095109217
hsa-let-7g-5p	-0,310250585	0,097286025
hsa-miR-629-5p	-0,432356032	0,097628368
hsa-miR-378a-3p	-0,622312897	0,105445699
hsa-miR-744-3p	-0,546865857	0,105445699
hsa-miR-363-3p	0,573173256	0,113931677
hsa-miR-192-5p	-0,643677861	0,118135584
hsa-miR-1296-5p	-0,492518771	0,125555206
hsa-miR-574-3p	0,29882972	0,125555206
hsa-miR-369-3p	0,452369139	0,134758788
hsa-miR-9-5p	-0,428724026	0,150285473
hsa-let-7f-5p	-0,356731408	0,150285473
hsa-miR-664b-3p	-0,549344764	0,150772533
hsa-miR-144-5p	-0,595442062	0,151952102

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G2 vs G3

miR	logFC	FDR
hsa-miR-625-3p	-1,548954916	0,00013964
hsa-miR-148a-5p	-0,884385549	0,0059066
hsa-miR-10b-5p	-0,822919968	0,011147482
hsa-miR-196b-3p	-1,031216383	0,01372057
hsa-miR-769-5p	-0,643684872	0,035541841
hsa-miR-584-5p	0,859933088	0,036908187
hsa-miR-431-5p	0,712101267	0,036908187
hsa-miR-411-5p	0,596332605	0,046962371
hsa-miR-377-3p	0,832020813	0,046962371
hsa-miR-183-5p	0,923147034	0,046962371
hsa-miR-551b-3p	-1,106154492	0,051247765
hsa-miR-1249-3p	-1,073067891	0,052415572
hsa-miR-10a-5p	-0,551170163	0,062166053
hsa-miR-370-3p	0,782209507	0,062166053
hsa-miR-126-5p	0,826304709	0,062166053
hsa-miR-660-5p	-0,530932586	0,062166053
hsa-miR-331-5p	0,767058929	0,062166053
hsa-miR-369-5p	0,703082187	0,062166053
hsa-miR-494-3p	0,858215166	0,062628444
hsa-miR-194-3p	-1,065060144	0,077973986
hsa-miR-532-5p	-0,575066325	0,08431997
hsa-miR-106b-3p	-0,582053259	0,08431997
hsa-miR-15b-3p	-0,538986376	0,08431997
hsa-miR-642a-5p	-0,73837844	0,08431997
hsa-miR-98-3p	0,581731601	0,08431997
hsa-miR-3074-5p	-0,778391286	0,08431997
hsa-miR-493-3p	0,695438144	0,08431997
hsa-miR-543	0,731007002	0,08431997
hsa-miR-548v	-1,858705494	0,087485998
hsa-miR-545-5p	1,038764937	0,103460047
hsa-miR-192-3p	-0,8681974	0,103902331
hsa-miR-454-5p	-0,626425672	0,104357403
hsa-miR-744-3p	-0,641624182	0,107360126
hsa-miR-378a-3p	-0,802037689	0,115075557
hsa-miR-339-5p	-0,482737322	0,119552647
hsa-miR-338-3p	0,580634399	0,126360479
hsa-miR-192-5p	-0,87976139	0,132705847
hsa-miR-193b-3p	-0,522612636	0,13459604
hsa-miR-6503-3p	-0,853974844	0,138059521
hsa-miR-363-3p	0,705171827	0,138059521
hsa-miR-664b-3p	-0,683747878	0,150771503
hsa-miR-497-5p	0,458787187	0,150771503
hsa-let-7a-5p	-0,424498309	0,15697756
hsa-miR-629-5p	-0,476997727	0,175478444
hsa-miR-199a-5p	0,46450722	0,175478444
hsa-miR-125b-1-3p	0,842875883	0,175478444
hsa-miR-196b-5p	-0,462029875	0,175478444
hsa-miR-1296-5p	-0,569707396	0,17928883
hsa-miR-301a-5p	-0,941303609	0,17928883
hsa-miR-887-3p	-0,468697771	0,17928883

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G2 vs G3



D. Comparación entre Re basal y Re 3º día

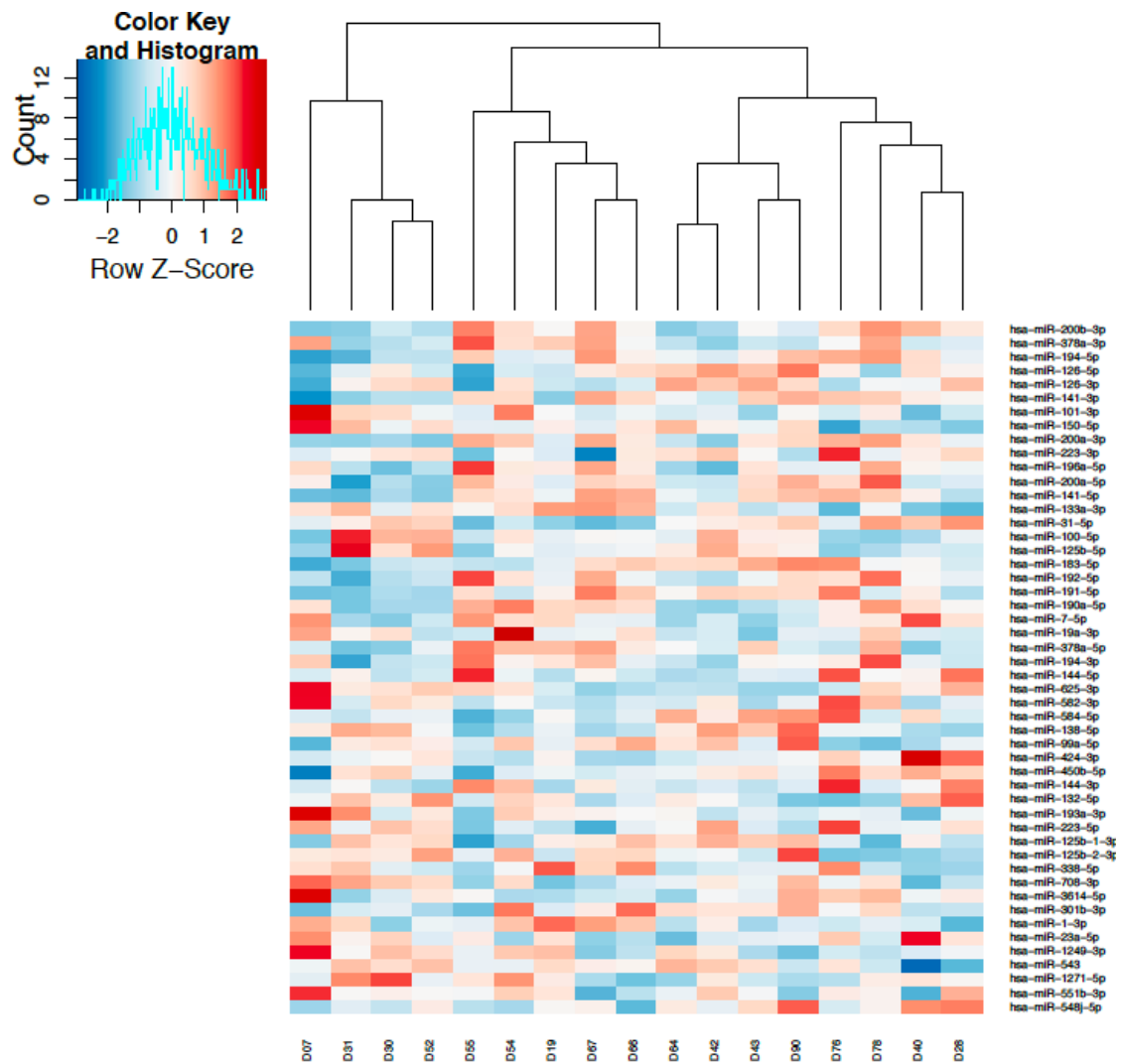
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G2 vs G4

miR	logFC	FDR
hsa-miR-625-3p	-1,562756301	5,90E-09
hsa-miR-183-5p	1,244394715	3,11E-07
hsa-miR-191-5p	0,837659104	0,000108667
hsa-miR-382-5p	0,769533033	0,000597839
hsa-miR-148b-3p	0,546578367	0,00129585
hsa-miR-9-5p	-0,674603636	0,001630081
hsa-miR-340-5p	-0,694745933	0,001665678
hsa-miR-584-5p	0,841475655	0,002011375
hsa-miR-411-5p	0,572539062	0,002240971
hsa-miR-126-5p	0,814991195	0,004431253
hsa-miR-148a-5p	-0,567577021	0,004470876
hsa-miR-146a-5p	0,600770495	0,015265654
hsa-miR-1271-5p	-0,872193324	0,015265654
hsa-miR-30d-3p	0,442497897	0,015281995
hsa-miR-27b-3p	0,283936122	0,024213353
hsa-miR-409-5p	-0,792459689	0,028460683
hsa-miR-101-3p	-0,60626645	0,034126339
hsa-miR-106b-3p	-0,489686941	0,035622304
hsa-miR-10b-5p	-0,507249471	0,035622304
hsa-miR-30c-2-3p	-0,573987584	0,038331937
hsa-miR-125a-5p	-0,549680426	0,041637638
hsa-miR-625-5p	-0,413819476	0,049331893
hsa-miR-3074-5p	-0,692932649	0,049331893
hsa-miR-301a-5p	-0,777741193	0,049331893
hsa-miR-370-3p	0,571189251	0,067622725
hsa-miR-431-5p	0,416986795	0,070712555
hsa-miR-423-3p	-0,457625688	0,077892169
hsa-miR-574-3p	0,275806422	0,079990913
hsa-miR-16-2-3p	-0,440457768	0,084293415
hsa-miR-425-5p	0,491609688	0,084293415
hsa-miR-152-3p	0,393019822	0,084293415
hsa-miR-30a-5p	-0,34218168	0,092520843
hsa-miR-497-5p	0,372916195	0,092520843
hsa-miR-27a-5p	-0,462992148	0,094232495
hsa-miR-33a-5p	-0,581972053	0,097153087
hsa-miR-30c-1-3p	0,52346945	0,120248665
hsa-miR-19a-3p	-0,538388368	0,120248665
hsa-miR-361-5p	0,27985522	0,126950612
hsa-miR-197-3p	-0,374422664	0,135271688
hsa-let-7d-5p	-0,367967469	0,135271688
hsa-miR-26a-2-3p	0,384644691	0,139442721
hsa-miR-551b-3p	-0,610999031	0,139442721
hsa-miR-331-5p	0,547249827	0,139442721
hsa-miR-125b-1-3p	0,529046553	0,139442721
hsa-miR-652-5p	-0,48008711	0,139442721
hsa-miR-96-5p	-0,425052557	0,139442721
hsa-miR-769-5p	-0,299047351	0,139442721
hsa-miR-141-5p	0,496435663	0,141914048
hsa-miR-887-3p	-0,386017853	0,16036158
hsa-miR-181a-3p	-0,413032719	0,16036158

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G2 vs G4

miR	logFC	FDR
hsa-miR-625-3p	-2,077272891	4,07E-09
hsa-miR-183-5p	1,56429199	5,59E-08
hsa-miR-191-5p	0,972633491	6,35E-05
hsa-miR-382-5p	0,889378717	0,001578547
hsa-miR-584-5p	1,056439508	0,00190397
hsa-miR-126-5p	1,03988946	0,00341833
hsa-miR-340-5p	-0,76113994	0,004551258
hsa-miR-148b-3p	0,605938673	0,00762079
hsa-miR-146a-5p	0,710950782	0,007627049
hsa-miR-9-5p	-0,72340752	0,008194399
hsa-miR-411-5p	0,642101657	0,010697838
hsa-miR-148a-5p	-0,598875482	0,017161241
hsa-miR-1271-5p	-1,307052346	0,022329088
hsa-miR-3074-5p	-0,898048754	0,027436026
hsa-miR-409-5p	-1,111470247	0,042570288
hsa-miR-101-3p	-0,706027402	0,042570288
hsa-miR-125a-5p	-0,612555569	0,059271799
hsa-miR-10b-5p	-0,538550144	0,070090795
hsa-miR-301a-5p	-1,374865498	0,080908149
hsa-miR-425-5p	0,596932486	0,081665105
hsa-miR-30c-2-3p	-0,642806131	0,081665105
hsa-miR-370-3p	0,714278947	0,081665105
hsa-miR-30d-3p	0,492401246	0,081665105
hsa-miR-106b-3p	-0,514578206	0,084782885
hsa-miR-423-3p	-0,484351609	0,152583666
hsa-miR-152-3p	0,454040307	0,153296905
hsa-miR-431-5p	0,473006284	0,153296905
hsa-miR-30c-1-3p	0,662295536	0,153296905
hsa-miR-331-5p	0,726751714	0,153296905
hsa-miR-33a-5p	-0,734710483	0,153802864
hsa-miR-141-5p	0,639805703	0,160378747
hsa-miR-125b-1-3p	0,702908547	0,160378747
hsa-miR-27a-5p	-0,511194411	0,160378747
hsa-miR-19a-3p	-0,673247568	0,160378747
hsa-miR-16-2-3p	-0,461331813	0,172875661
hsa-miR-758-3p	0,731198398	0,172875661
hsa-miR-625-5p	-0,422940835	0,18608256
hsa-miR-551b-3p	-0,917072035	0,19918947
hsa-miR-494-3p	0,683635633	0,20175674
hsa-miR-497-5p	0,422155821	0,20175674
hsa-miR-27b-3p	0,31353964	0,203491193
hsa-miR-18a-5p	0,49836619	0,207436166
hsa-miR-652-5p	-0,562795762	0,225701739
hsa-miR-30a-5p	-0,339622371	0,225701739
hsa-miR-26a-2-3p	0,442455474	0,225701739
hsa-let-7d-5p	-0,381927498	0,240661094
hsa-miR-335-3p	0,523321548	0,240661094
hsa-miR-454-5p	-0,482943171	0,240661094
hsa-miR-181a-3p	-0,449546016	0,240661094
hsa-miR-96-5p	-0,465751296	0,240661094

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G2 vs G4



E. Comparación entre noRe basal y noRe 3º día

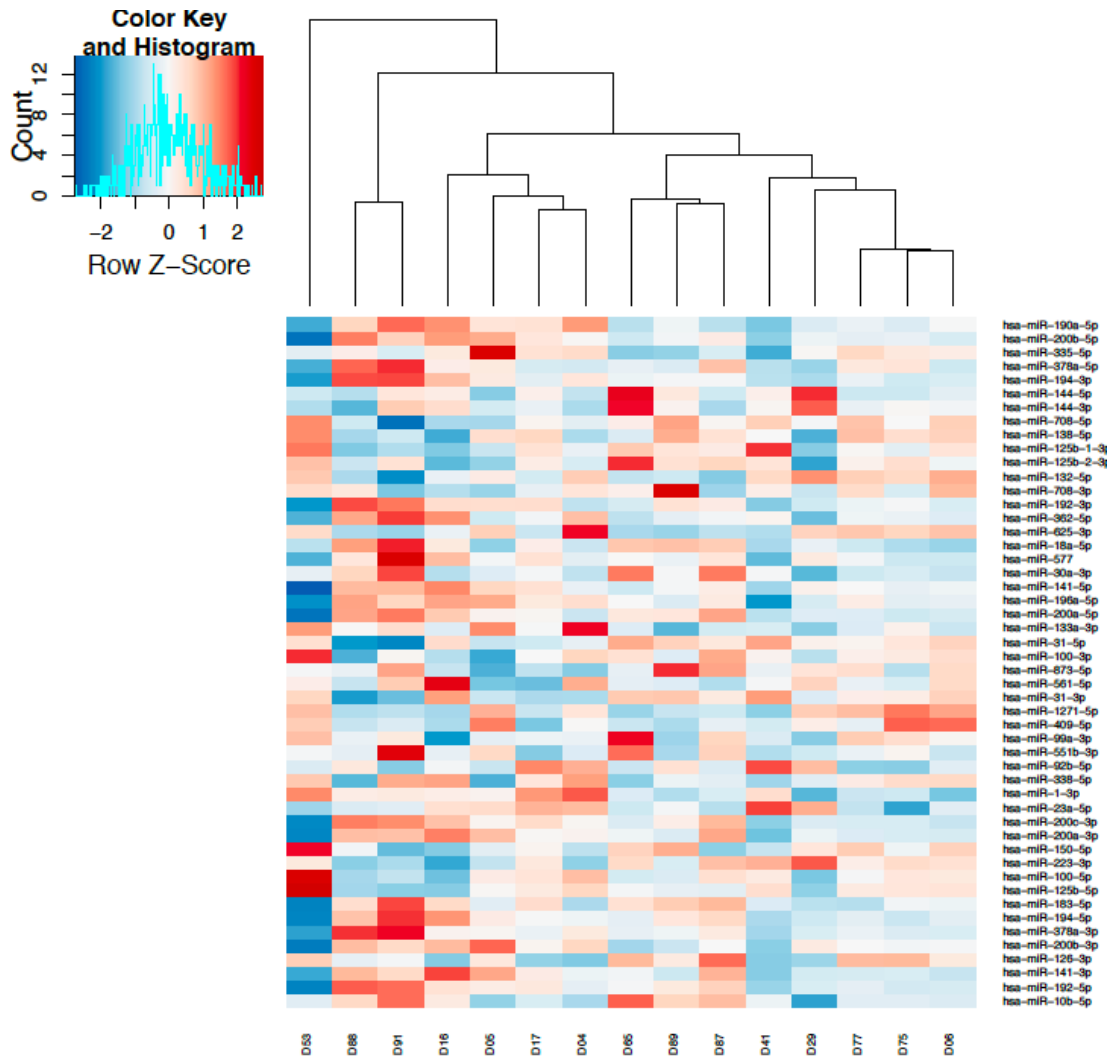
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G3 vs G5

miR	logFC	FDR
hsa-miR-1271-5p	-2,05416401	8,32E-12
hsa-miR-625-3p	-1,471312499	5,49E-11
hsa-miR-409-5p	-1,795212119	1,25E-06
hsa-miR-125a-5p	-0,877359972	5,78E-05
hsa-miR-191-5p	0,821367041	0,000112789
hsa-miR-32-5p	-0,730509869	0,000189555
hsa-miR-18a-5p	0,981922161	0,000189555
hsa-miR-148b-3p	0,515883354	0,000248662
hsa-miR-423-3p	-0,689549467	0,000445621
hsa-miR-338-3p	-0,769676754	0,000446831
hsa-miR-625-5p	-0,709466732	0,000448322
hsa-miR-10b-5p	0,952253625	0,000448322
hsa-miR-183-5p	1,078199202	0,000448322
hsa-miR-25-3p	0,429743019	0,000508184
hsa-miR-132-5p	-1,03291228	0,000627389
hsa-miR-29a-3p	-0,620093201	0,003000783
hsa-miR-345-5p	-0,535452408	0,003260569
hsa-miR-30a-3p	0,861920655	0,004351158
hsa-miR-221-5p	-0,619859065	0,004834464
hsa-miR-27b-3p	0,433023181	0,004834464
hsa-miR-30e-3p	0,715070576	0,005496687
hsa-miR-17-3p	-0,647501347	0,005617114
hsa-miR-590-3p	-0,585084552	0,005734091
hsa-miR-96-5p	-0,804162452	0,006117559
hsa-miR-200a-5p	0,893663507	0,006117559
hsa-miR-26a-2-3p	0,593541892	0,006117559
hsa-miR-16-2-3p	-0,567140408	0,006213351
hsa-miR-30d-3p	0,503688118	0,008759538
hsa-miR-660-5p	0,595788658	0,008759538
hsa-miR-369-5p	-0,738730302	0,011332753
hsa-miR-199b-5p	-0,491008933	0,013252455
hsa-miR-151a-3p	0,468113275	0,019045645
hsa-miR-103a-3p	0,311757423	0,019045645
hsa-miR-151a-5p	-0,424610697	0,019266637
hsa-miR-200c-3p	0,866796522	0,019389118
hsa-miR-29b-3p	-0,463417996	0,019764788
hsa-miR-192-5p	0,844449371	0,022999783
hsa-miR-143-5p	-0,669071237	0,025315291
hsa-miR-504-5p	-0,819760472	0,026476576
hsa-miR-194-5p	0,818223877	0,031498472
hsa-miR-425-3p	0,409916868	0,033738298
hsa-miR-136-5p	-0,412120436	0,034303175
hsa-miR-93-5p	0,295423462	0,034328685
hsa-miR-548e-3p	-0,607659974	0,035700621
hsa-miR-543	-0,698735229	0,035700621
hsa-miR-377-3p	-0,590038405	0,038231456
hsa-miR-382-5p	0,557456409	0,038728258
hsa-miR-431-3p	0,535936999	0,040884246
hsa-miR-651-5p	0,729738665	0,044809514
hsa-miR-376c-3p	-0,480731471	0,045852221

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G3 vs G5

Gen	logFC	FDR
hsa-miR-1271-5p	-2,604379098	2,30E-14
hsa-miR-625-3p	-1,655985363	3,12E-10
hsa-miR-409-5p	-2,711565495	8,64E-07
hsa-miR-125a-5p	-0,978226957	0,000405479
hsa-miR-18a-5p	1,061097756	0,000598292
hsa-miR-132-5p	-1,241946104	0,000747645
hsa-miR-183-5p	1,249136414	0,000747645
hsa-miR-191-5p	0,844154445	0,001385501
hsa-miR-10b-5p	1,038470464	0,001385501
hsa-miR-338-3p	-0,865688416	0,001921284
hsa-miR-32-5p	-0,808246438	0,001921284
hsa-miR-423-3p	-0,761226025	0,002316518
hsa-miR-625-5p	-0,784563948	0,004435989
hsa-miR-96-5p	-0,963411319	0,006766291
hsa-miR-30a-3p	0,950668864	0,008019764
hsa-miR-200a-5p	1,036644906	0,011064101
hsa-miR-29a-3p	-0,696263792	0,011507855
hsa-miR-30e-3p	0,742121992	0,015897345
hsa-miR-590-3p	-0,658329417	0,016812507
hsa-miR-17-3p	-0,73928861	0,016812507
hsa-miR-369-5p	-0,871879292	0,01841816
hsa-miR-221-5p	-0,694448604	0,018590244
hsa-miR-504-5p	-1,061986311	0,021550155
hsa-miR-200c-3p	1,071591339	0,021550155
hsa-miR-545-5p	-1,277512285	0,021550155
hsa-miR-16-2-3p	-0,64141436	0,022398505
hsa-miR-345-5p	-0,591487158	0,023915587
hsa-miR-192-5p	1,034559542	0,02442885
hsa-miR-143-5p	-0,794582453	0,029578883
hsa-miR-377-3p	-0,691946697	0,029578883
hsa-miR-194-5p	1,017687273	0,032838085
hsa-miR-548e-3p	-0,709883229	0,034895073
hsa-miR-543	-0,859378689	0,036728599
hsa-miR-148b-3p	0,496794612	0,037016188
hsa-miR-660-5p	0,602358118	0,037638331
hsa-miR-335-5p	-0,823951424	0,043071067
hsa-miR-199b-5p	-0,550970456	0,043370075
hsa-miR-329-3p	-0,906476827	0,050780855
hsa-miR-125b-5p	-0,921479599	0,060969165
hsa-miR-376c-3p	-0,553804375	0,062515875
hsa-miR-651-5p	0,860617326	0,062515875
hsa-miR-19a-3p	-0,630335404	0,069875326
hsa-miR-340-3p	-0,672943817	0,069875326
hsa-miR-29b-3p	-0,522754748	0,070041162
hsa-miR-26a-2-3p	0,588148672	0,070770469
hsa-miR-151a-5p	-0,477691174	0,070770469
hsa-miR-382-5p	0,581923723	0,080267564
hsa-miR-30d-3p	0,49294219	0,080267564
hsa-miR-190a-3p	-1,230714488	0,080267564
hsa-miR-431-3p	0,564871504	0,080267564

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G3 vs G5



F. Comparación entre Re 3º día y noRe 3º día

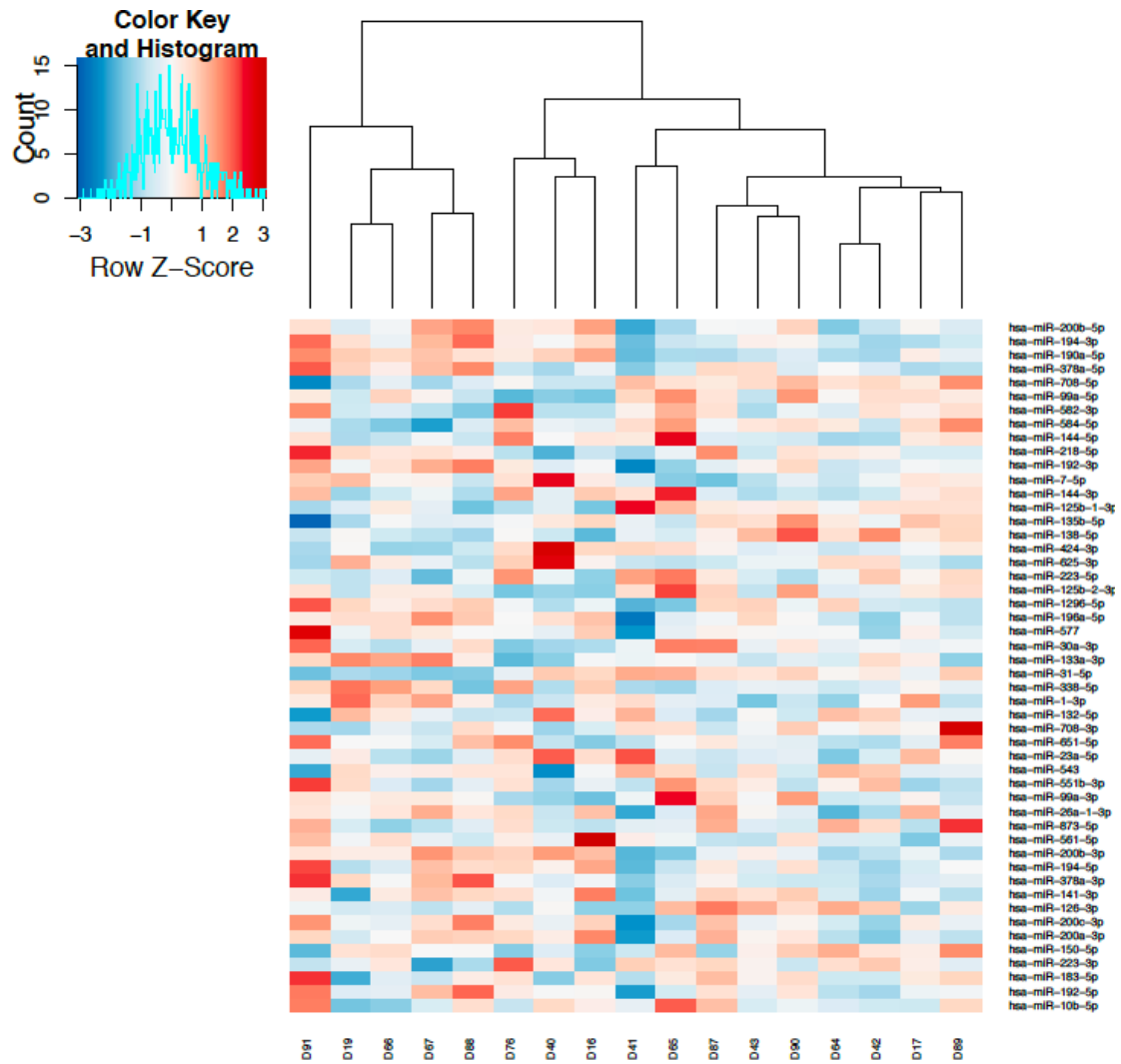
1. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método DESeq2). G4 vs G5

miR	log2FoldChange	FDR
hsa-miR-151a-3p	0,509658579	0,000844412
hsa-miR-25-3p	0,342776411	0,002755713
hsa-miR-625-3p	-0,897026968	0,002755713
hsa-miR-589-5p	-0,660907132	0,003044334
hsa-miR-381-3p	0,588642887	0,023803881
hsa-miR-10b-5p	0,686857023	0,024756071
hsa-let-7g-5p	-0,420963826	0,0292961
hsa-miR-431-3p	0,613867761	0,0292961
hsa-miR-27b-3p	0,30445482	0,053309122
hsa-miR-92a-1-5p	-0,678253544	0,053309122
hsa-miR-32-5p	-0,505074058	0,053309122
hsa-miR-30a-3p	0,635596236	0,053309122
hsa-miR-15b-3p	-0,453911897	0,053309122
hsa-miR-16-2-3p	-0,459273298	0,053309122
hsa-miR-299-3p	0,453567471	0,053309122
hsa-miR-25-5p	-0,568494018	0,055795137
hsa-miR-103a-3p	0,241273099	0,066776841
hsa-miR-542-3p	0,581317443	0,074876639
hsa-miR-29a-3p	-0,464738562	0,074876639
hsa-miR-30a-5p	0,421281357	0,081462151
hsa-miR-423-3p	-0,468782005	0,081462151
hsa-miR-143-3p	0,43637809	0,081462151
hsa-let-7e-3p	0,501356021	0,081462151
hsa-miR-299-5p	0,583600909	0,081462151
hsa-miR-144-3p	0,726779696	0,081462151
hsa-miR-28-3p	0,374501146	0,095850346
hsa-miR-183-5p	0,547773326	0,095850346
hsa-miR-625-5p	-0,392687643	0,095850346
hsa-miR-382-3p	0,495975694	0,095850346
hsa-miR-148b-5p	-0,36509178	0,114660391
hsa-miR-130b-5p	-0,372785954	0,11778567
hsa-miR-362-3p	-0,518323043	0,122955024
hsa-miR-185-3p	0,435891023	0,132694113
hsa-miR-129-5p	0,576766466	0,134547706
hsa-miR-411-5p	0,379369168	0,139393138
hsa-miR-106b-5p	-0,278077775	0,139393138
hsa-miR-345-5p	-0,353083289	0,139914362
hsa-miR-374a-5p	-0,298643024	0,147625914
hsa-miR-30e-3p	0,422833091	0,155841093
hsa-miR-3158-3p	0,474008801	0,155841093
hsa-miR-29b-3p	-0,367127691	0,155841093
hsa-miR-20b-5p	0,514772441	0,155841093
hsa-miR-340-5p	0,343778732	0,157106732
hsa-miR-374a-3p	0,392933703	0,164290301
hsa-miR-200a-5p	0,4506433	0,169281834
hsa-miR-500a-5p	-0,388769048	0,17002208
hsa-miR-99b-3p	0,363456862	0,175881573
hsa-miR-500a-3p	-0,261437454	0,175881573
hsa-miR-140-5p	-0,26673717	0,180276062
hsa-miR-338-3p	-0,356320276	0,182039709
hsa-miR-590-3p	-0,355484778	0,186695607
hsa-miR-340-3p	-0,467352535	0,186695607
hsa-miR-1307-5p	-0,405776254	0,186695607
hsa-miR-221-5p	-0,360297377	0,186695607

2. Listado de los 50 miR con menor FDR (Método EDGER). G4 vs G5

miR	logFC	FDR
hsa-miR-625-3p	-1,107866004	0,010133881
hsa-miR-151a-3p	0,527784203	0,028822261
hsa-miR-589-5p	-0,738595369	0,028822261
hsa-miR-10b-5p	0,793237023	0,028822261
hsa-miR-92a-1-5p	-0,838069149	0,057223049
hsa-miR-381-3p	0,648708805	0,057223049
hsa-miR-431-3p	0,698620735	0,064816206
hsa-miR-30a-3p	0,763780507	0,079433149
hsa-miR-25-5p	-0,657016197	0,11992227
hsa-miR-299-5p	0,70713004	0,126991821
hsa-miR-542-3p	0,684899947	0,126991821
hsa-let-7g-5p	-0,449724375	0,128252663
hsa-miR-32-5p	-0,566435448	0,128252663
hsa-miR-144-3p	1,117747978	0,128252663
hsa-miR-29a-3p	-0,518188114	0,128252663
hsa-miR-183-5p	0,658285384	0,130402398
hsa-miR-16-2-3p	-0,509961744	0,130402398
hsa-miR-362-3p	-0,615492515	0,130402398
hsa-miR-299-3p	0,496199728	0,130402398
hsa-miR-25-3p	0,347100871	0,130402398
hsa-miR-15b-3p	-0,500755157	0,130402398
hsa-let-7e-3p	0,569524447	0,130402398
hsa-miR-423-3p	-0,530492474	0,130402398
hsa-miR-143-3p	0,48190179	0,130402398
hsa-miR-30a-5p	0,451616638	0,130402398
hsa-miR-382-3p	0,574102982	0,142185615
hsa-miR-185-3p	0,488936823	0,166837139
hsa-miR-190a-3p	-1,217351327	0,168436758
hsa-miR-129-5p	0,757848378	0,196160127
hsa-miR-28-3p	0,398694751	0,196879971
hsa-miR-188-3p	-0,841704233	0,209202296
hsa-miR-34c-3p	-1,409581527	0,222768304
hsa-miR-20b-5p	0,638126018	0,222768304
hsa-miR-30e-3p	0,473246829	0,226387421
hsa-miR-200a-5p	0,530794196	0,226387421
hsa-miR-130b-5p	-0,411482858	0,236166472
hsa-miR-340-3p	-0,581208698	0,251110466
hsa-miR-411-5p	0,407454804	0,257298792
hsa-miR-374a-3p	0,43911082	0,257298792
hsa-miR-27b-3p	0,307535075	0,257298792
hsa-miR-625-5p	-0,424874362	0,257298792
hsa-miR-1307-5p	-0,478922048	0,257519237
hsa-miR-3158-3p	0,555477549	0,276074931
hsa-miR-148b-5p	-0,403071289	0,276074931
hsa-miR-1271-5p	-0,946691926	0,276074931
hsa-miR-29b-3p	-0,404671989	0,28567312
hsa-miR-345-5p	-0,38840171	0,28567312
hsa-miR-9-3p	-0,858915641	0,295522036
hsa-miR-590-3p	-0,397435372	0,295522036
hsa-miR-144-5p	0,767592172	0,295522036

3. Heatmap utilizando miR obtenidos mediante método DeSeq2. G4 vs G5



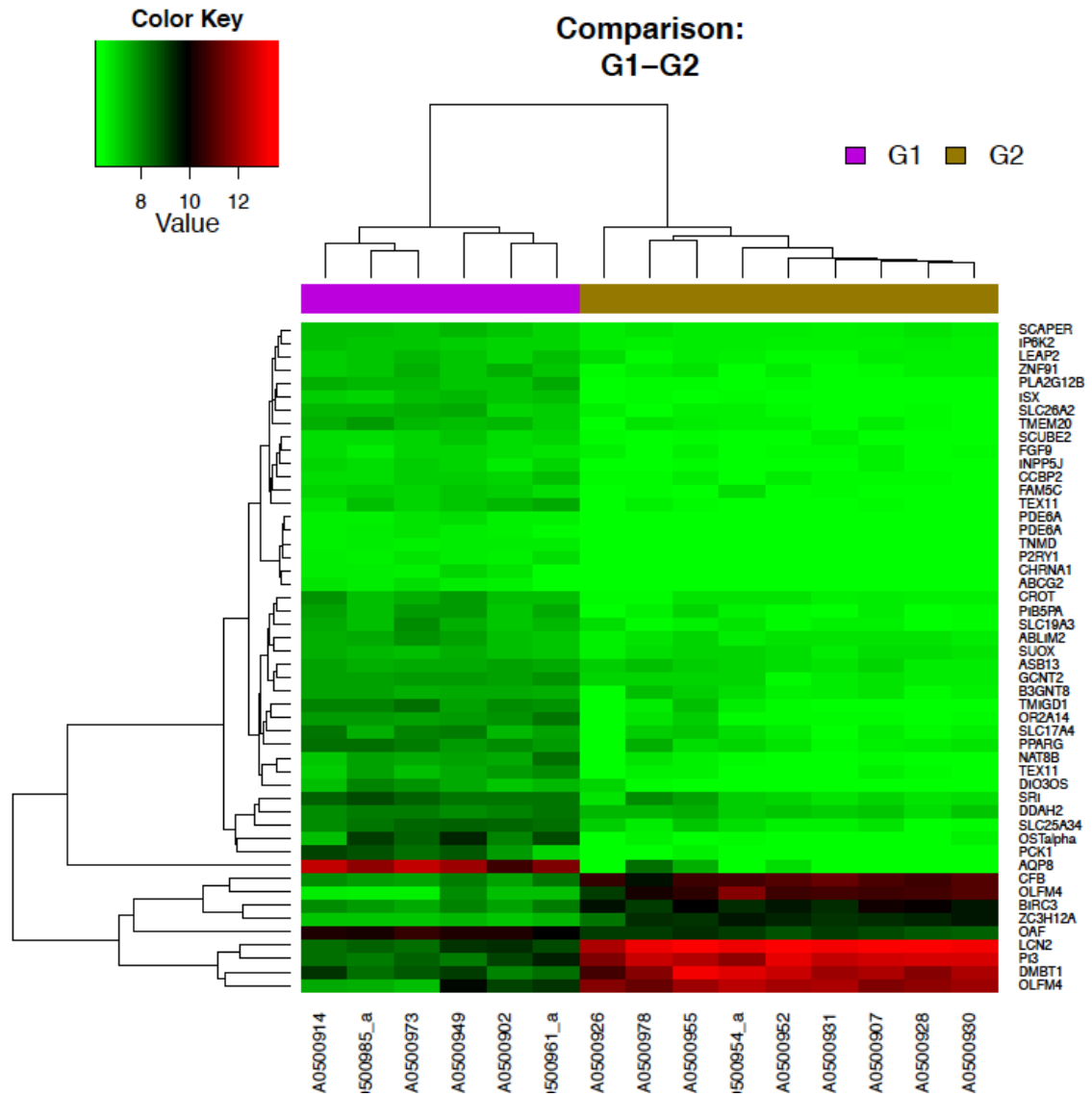
ANEXO 6 - Resultados del microarrays

A. Comparación entre controles y Re basal

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G1 vs G2

Transcrito	FoldChange	FDR
LCN2	-20,1863	1,21E-15
PI3	-13,943	2,50E-13
PLA2G12B	1,9308	4,61E-13
ISX	1,7798	6,45E-12
NAT8B	2,4008	2,15E-10
TNMD	1,2535	3,99E-10
OLFM4	-11,2333	6,59E-10
SLC26A2	1,8205	8,96E-10
ZC3H12A	-3,9264	9,00E-10
IP6K2	1,4018	1,19E-09
OSTalpha	4,5041	1,28E-09
SCUBE2	1,4528	2,35E-09
P2RY1	1,2913	2,35E-09
SLC25A34	3,1243	2,35E-09
DIO3OS	2,1754	2,43E-09
SLC19A3	1,864	3,55E-09
AQP8	35,0217	3,72E-09
CFB	-7,0537	3,72E-09
LEAP2	1,4993	7,84E-09
TMIGD1	2,727	1,31E-08
ABCG2	1,378	1,72E-08
GCNT2	1,8866	1,72E-08
PDE6A	1,2748	1,86E-08
PCK1	3,8144	2,01E-08
INPP5J	1,462	2,02E-08
TMEM20	1,8303	2,03E-08
CROT	1,8168	2,71E-08
TEX11	2,1929	2,83E-08
SCAPER	1,4698	2,98E-08
BIRC3	-3,3274	5,42E-08
FAM5C	1,543	7,67E-08
DMBT1	-11,1348	1,17E-07
CCBP2	1,4787	1,35E-07
OAF	2,4544	1,42E-07
ASB13	1,5959	1,65E-07
ABLIM2	1,686	1,75E-07
FGF9	1,2972	1,84E-07
CHRNA1	1,3549	2,22E-07
SRI	2,6125	2,35E-07
SLC17A4	2,2467	2,46E-07
SUOX	1,4172	2,72E-07
DDAH2	1,8709	2,80E-07
B3GNT8	1,8236	2,80E-07
ZNF91	1,6288	2,99E-07
PIB5PA	1,9898	3,23E-07
PPARG	2,4424	3,39E-07
OR2A14	2,4865	3,42E-07
PHLPP2	2,1982	3,48E-07
TNNC2	1,1778	4,43E-07
SLC45A2	1,7747	4,86E-07

2. Heatmap (microarrays)

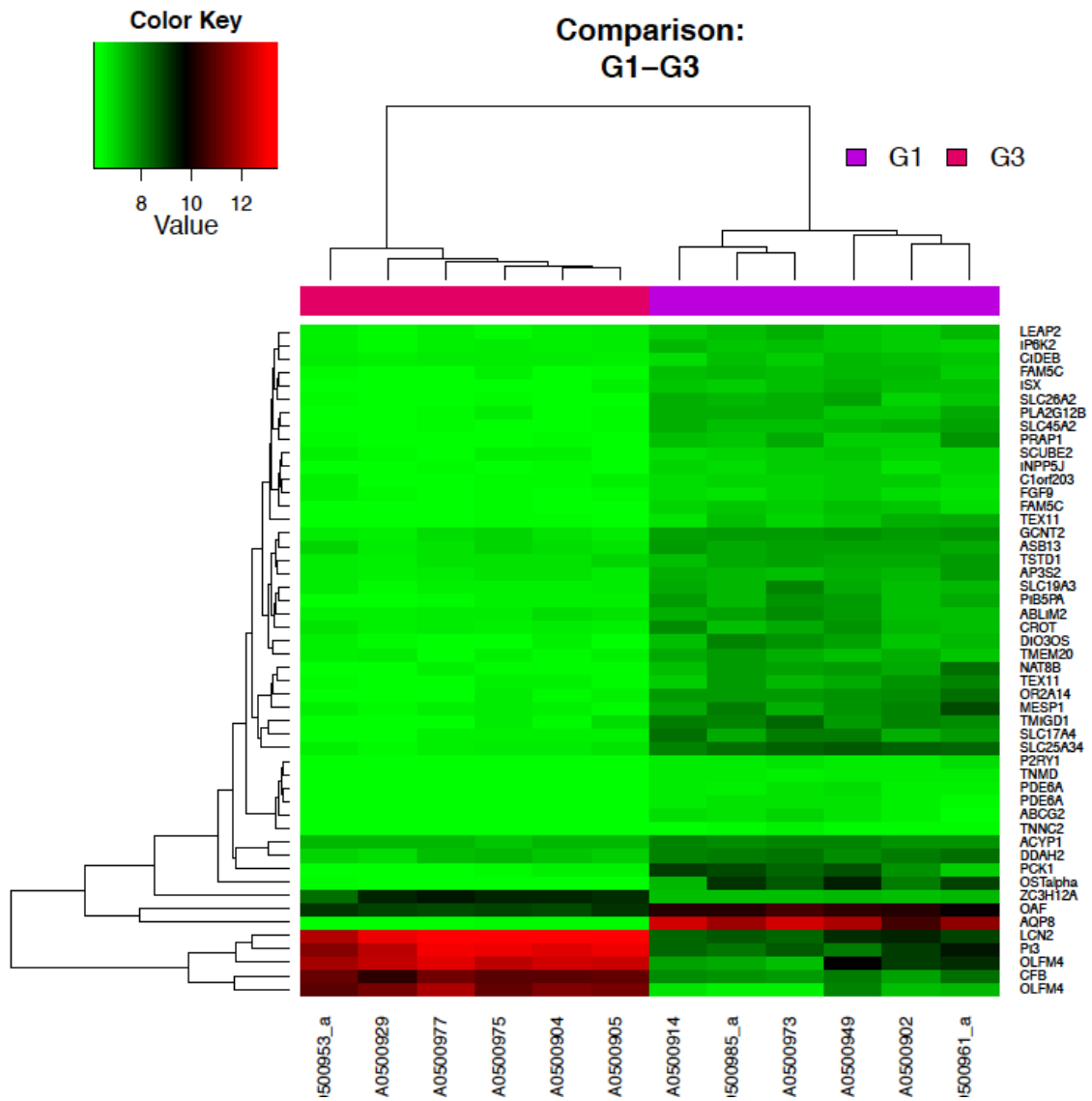


B. Comparación entre controles y noRe basal

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G1 vs G3

Transcrito	FoldChange	FDR
LCN2	-19,538	1,56E-14
PI3	-14,8906	1,15E-12
PLA2G12B	1,8668	2,12E-11
ISX	1,8287	2,12E-11
OLFM4	-15,5085	3,04E-10
IP6K2	1,4705	4,98E-10
TNMD	1,2729	6,79E-10
SLC26A2	1,8988	1,33E-09
NAT8B	2,3784	2,00E-09
SLC25A34	3,4708	2,45E-09
LEAP2	1,5906	3,19E-09
OSTalpha	4,7259	3,87E-09
P2RY1	1,3064	6,08E-09
CFB	-8,0699	6,50E-09
AQP8	44,5424	6,57E-09
SLC19A3	1,9083	1,14E-08
DIO3OS	2,1783	1,72E-08
ZC3H12A	-3,6521	1,81E-08
GCNT2	1,9989	1,86E-08
TMIGD1	2,9247	2,13E-08
SCUBE2	1,4452	2,13E-08
ABCG2	1,4082	2,87E-08
PDE6A	1,297	2,91E-08
FAM5C	1,6411	3,12E-08
ASB13	1,7338	3,56E-08
INPP5J	1,4895	5,07E-08
TMEM20	1,8798	5,48E-08
SLC17A4	2,5903	5,88E-08
FGF9	1,3438	8,91E-08
SLC45A2	1,9835	9,26E-08
ABLIM2	1,8045	9,26E-08
DDAH2	2,0648	9,59E-08
CROT	1,844	1,08E-07
AP3S2	1,7056	1,86E-07
TEX11	2,1816	2,10E-07
OAF	2,6032	2,44E-07
PCK1	3,6446	2,59E-07
TNNC2	1,2016	2,80E-07
C1orf203	1,4032	2,92E-07
ACYP1	1,5525	2,99E-07
PRAP1	1,8974	3,07E-07
CIDEB	1,4388	3,13E-07
MESP1	2,6542	3,29E-07
TSTD1	1,7562	3,78E-07
PIB5PA	2,1079	3,99E-07
OR2A14	2,686	4,14E-07
BIRC3	-3,2751	4,16E-07
SRI	2,7362	5,39E-07
CNTFR	1,545	6,85E-07
SLC22A5	2,6318	8,00E-07

2. Heatmap (microarrays)

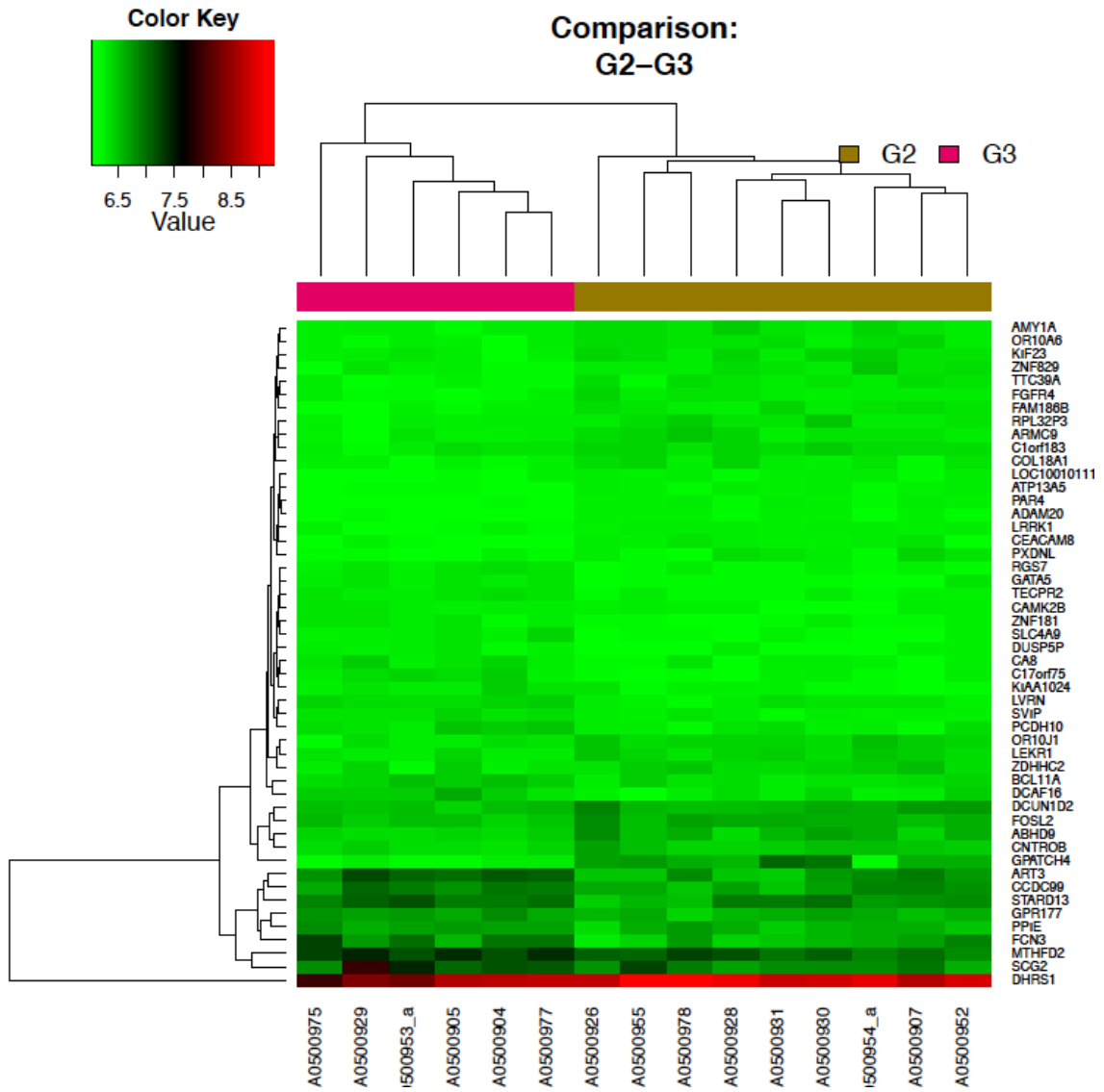


C. Comparación entre Re basal y noRe basal

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G2 vs G3

Transcrito	FoldChange	FDR
FAM186B	1,0972	0,00421074
SLC4A9	-1,0825	0,0047252
C17orf75	-1,1125	0,00507101
RGS7	-1,0719	0,00848855
AMY1A	1,0692	0,0129873
GATA5	-1,0685	0,0134542
TTC39A	1,0723	0,01489
PCDH10	-1,0854	0,0187338
ART3	-1,2868	0,019837
LVRN	-1,0768	0,019912
ABHD9	1,1397	0,0206397
SVIP	-1,0623	0,0220466
FOSL2	1,1011	0,0234723
PAR4	1,0699	0,0243891
FGFR4	1,0732	0,0263719
FCN3	-1,2689	0,0268614
TECPR2	-1,0693	0,0272929
DCAF16	-1,1278	0,0287816
DHRS1	1,3844	0,0289967
GPATCH4	1,3522	0,0294388
KIF23	1,086	0,0300833
CA8	-1,0821	0,0351104
ARMC9	1,0771	0,0359852
OR10J1	1,0861	0,0384729
CAMK2B	-1,0627	0,0400767
PPIE	-1,1115	0,0436815
DUSP5P	-1,0649	0,0437231
ATP13A5	1,067	0,0455983
LRRK1	1,0542	0,04561
COL18A1	1,0759	0,0462982
ZNF829	1,071	0,0495489
ZNF181	-1,065	0,0496138
KIAA1024	-1,0679	0,049747
GPR177	-1,0987	0,0499335
CCDC99	-1,14	0,0514089
LOC100101116	1,0634	0,0514338
CNTROB	1,089	0,0540839
C1orf183	1,0599	0,0582173
CEACAM8	1,0608	0,0585056
OR10A6	1,0692	0,0591037
STARD13	-1,1764	0,061741
ZDHHC2	1,0819	0,0643773
LEKR1	1,0746	0,0644891
BCL11A	-1,0732	0,0648019
RPL32P3	1,0701	0,0649607
MTHFD2	-1,207	0,0649966
DCUN1D2	1,0985	0,0674459
ADAM20	1,0665	0,0691035
SCG2	-1,3229	0,069247
PXDNL	1,0719	0,0695089

2. Heatmap (microarrays)

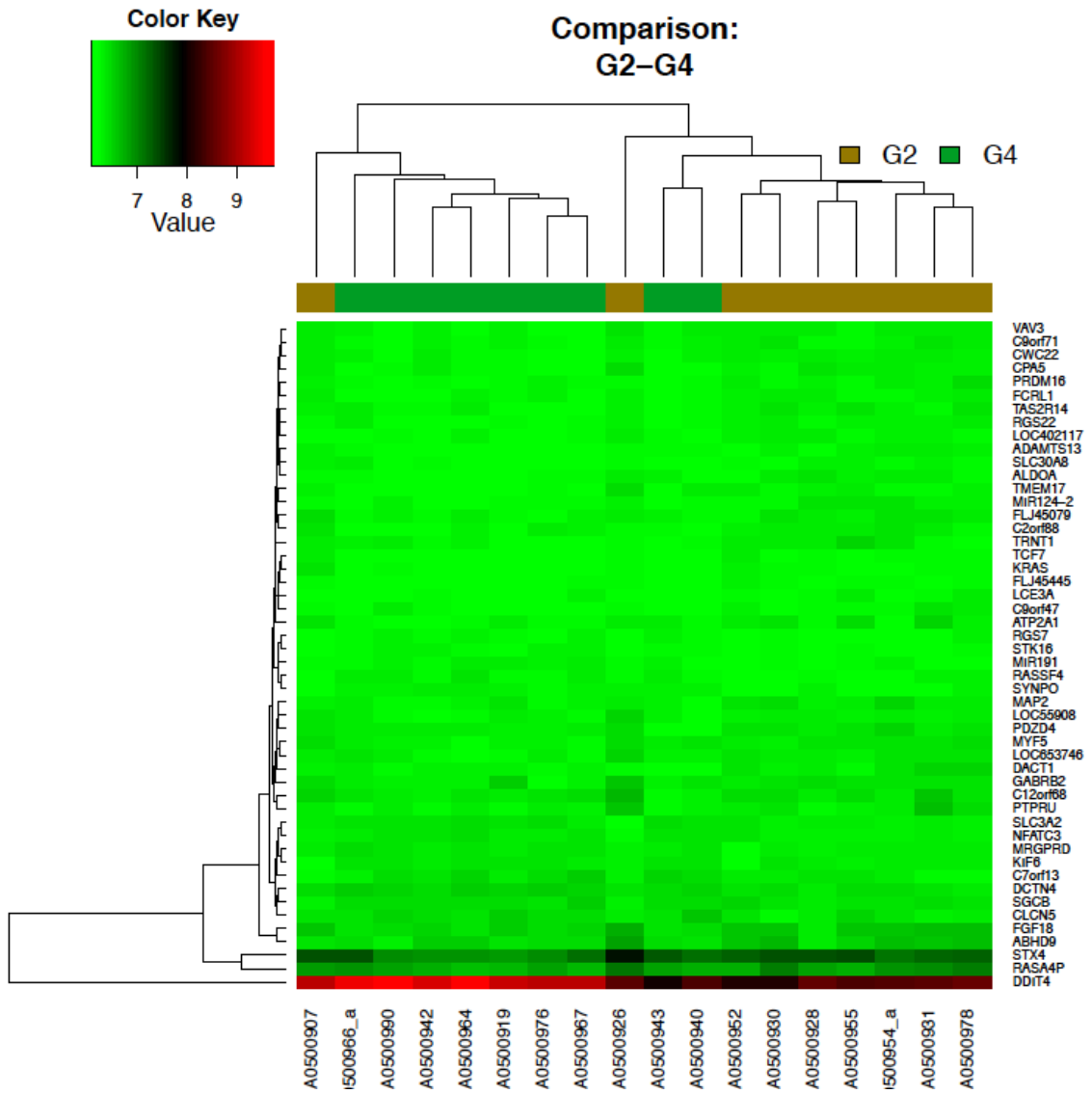


D. Comparación entre Re basal y Re 3º día

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G2 vs G4

Transcrito	FoldChange	FDR
DDIT4	-1,5537	0,0324965
PDZD4	1,0763	0,00638637
CPA5	1,073	0,0162745
C2orf88	1,0738	0,0175477
VAV3	1,0662	0,0234009
RGS22	1,0604	0,0281059
C7orf13	-1,0822	0,0282149
FCRL1	1,0596	0,0326645
STX4	1,2103	0,0344102
SYNPO	-1,0685	0,0387096
FGF18	1,094	0,0398558
LOC55908	1,0646	0,0402155
LOC402117	1,0594	0,049688
ALDOA	1,0611	0,0506754
RGS7	-1,0498	0,0520373
FLJ45079	1,0623	0,0534431
SLC3A2	-1,0598	0,0546932
FLJ45445	1,0403	0,0585056
C9orf71	1,0524	0,0603073
DCTN4	-1,0566	0,0610304
ABHD9	1,1047	0,0611502
MIR191	-1,0497	0,0611502
STK16	-1,0525	0,0613947
ADAMTS13	1,055	0,0614976
MAP2	1,063	0,061994
ATP2A1	1,0706	0,0633491
PTPRU	1,0812	0,063693
SGCB	-1,0486	0,0646936
C12orf68	1,0846	0,0674487
SLC30A8	1,0518	0,0688201
PRDM16	1,0584	0,0688596
KIF6	-1,0528	0,0699114
TAS2R14	1,0618	0,0712895
DACT1	1,066	0,0714456
CWC22	1,0535	0,0746157
KRAS	1,0624	0,0746286
TCF7	1,0556	0,0752231
RASA4P	1,1224	0,0759046
GABRB2	1,0715	0,0775558
LCE3A	1,0554	0,0786047
TMEM17	1,0711	0,0802073
TRNT1	1,066	0,0807441
MRGPRD	-1,0574	0,0813053
RASSF4	-1,0556	0,0817367
MIR124-2	1,0702	0,084424
NFATC3	-1,0489	0,0859323
LOC653746	1,063	0,0862353
CLCN5	-1,066	0,0868182
MYF5	1,0547	0,0881926
C9orf47	1,0586	0,0888713

2. Heatmap (microarrays)

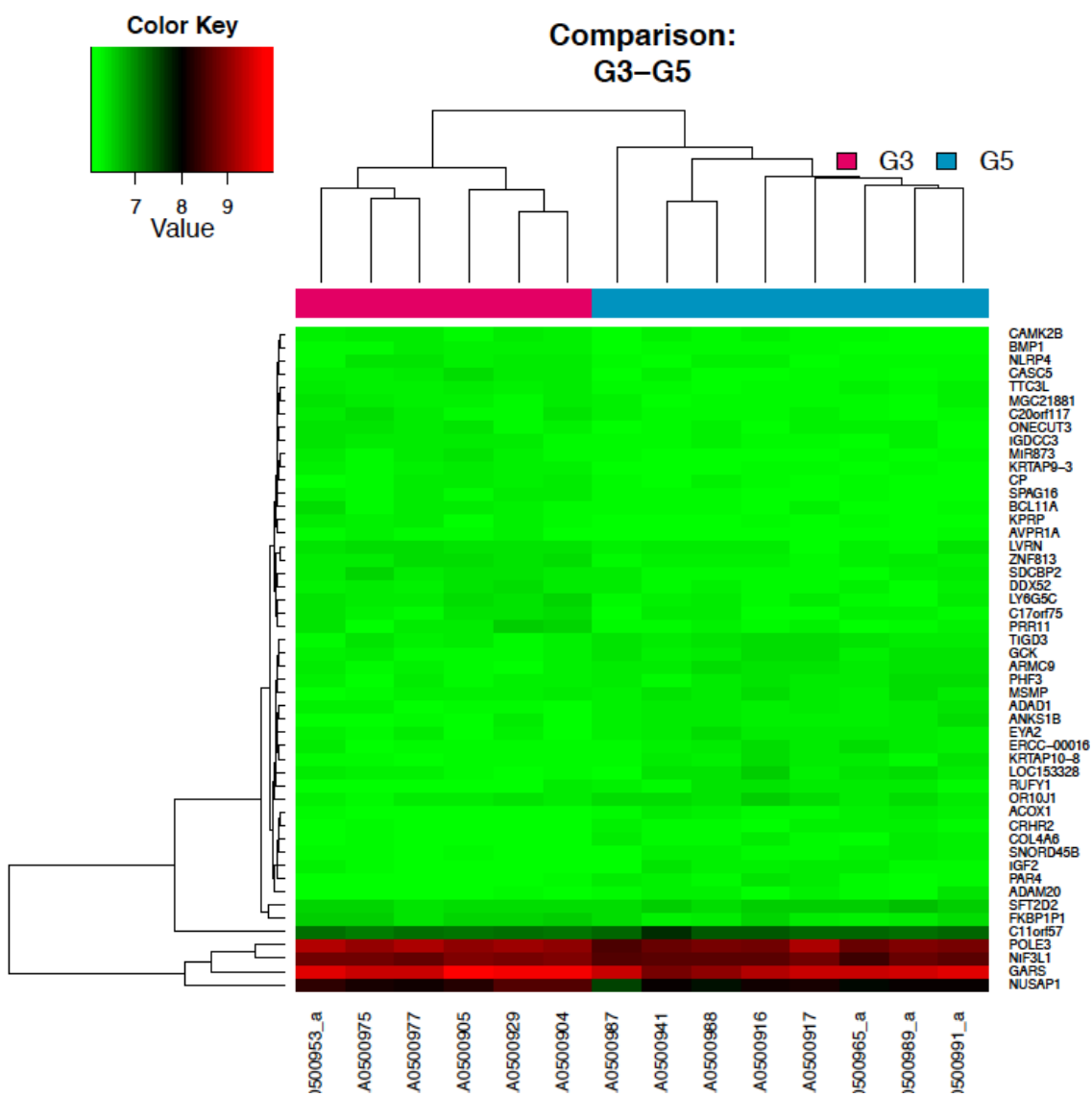


E. Comparación entre noRe basal y noRe 3º día

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G3 vs G5

Transcrito	FoldChange	FDR
PAR4	-1,0782	0,0128015
ARMC9	-1,0886	0,0162588
RUFY1	-1,0776	0,0196653
LVRN	1,077	0,0233705
CASC5	1,0785	0,0244486
C20orf117	1,067	0,0277037
ANKS1B	-1,0727	0,0280405
ERCC-00016	-1,0771	0,0281113
MIR873	1,0844	0,0288426
SPAG16	1,0872	0,0308705
ACOX1	-1,0611	0,0311284
NIF3L1	1,1405	0,0313342
PRR11	1,0974	0,0327345
BMP1	1,053	0,0340126
LY6G5C	1,0866	0,0370297
ZNF813	1,078	0,0373754
SNORD45B	-1,0644	0,0490439
ADAM20	-1,0723	0,0495489
KRTAP9-3	1,0594	0,0496175
C17orf75	1,0843	0,0516958
C11orf57	-1,1264	0,0530429
ADAD1	-1,0655	0,0534861
NLRP4	1,0631	0,054236
CRHR2	-1,0558	0,0557757
IGDCC3	1,0772	0,056063
TIGD3	-1,0668	0,0565912
CP	1,0691	0,0572524
ONECUT3	1,0714	0,0584969
COL4A6	-1,0706	0,059602
AVPR1A	1,0576	0,0603934
IGF2	-1,072	0,0607095
EYA2	-1,0656	0,0610185
NUSAP1	1,2821	0,0628753
MSMP	-1,0599	0,0638694
BCL11A	1,0811	0,0649966
FKBP1P1	1,0991	0,0657939
KRTAP10-8	-1,0757	0,0672187
LOC153328	-1,0832	0,0700402
DDX52	1,0698	0,0704351
TTC3L	1,0546	0,070653
CAMK2B	1,0585	0,0707923
SDCBP2	1,088	0,071768
MGC21881	1,0581	0,0729159
GARS	1,2765	0,0733314
KPRP	1,0793	0,0737378
PHF3	-1,0701	0,0747305
POLE3	1,2211	0,0756874
SFT2D2	-1,0656	0,0765332
GCK	-1,069	0,0771216
OR10J1	-1,0782	0,0784121

2. Heatmap (microarrays)

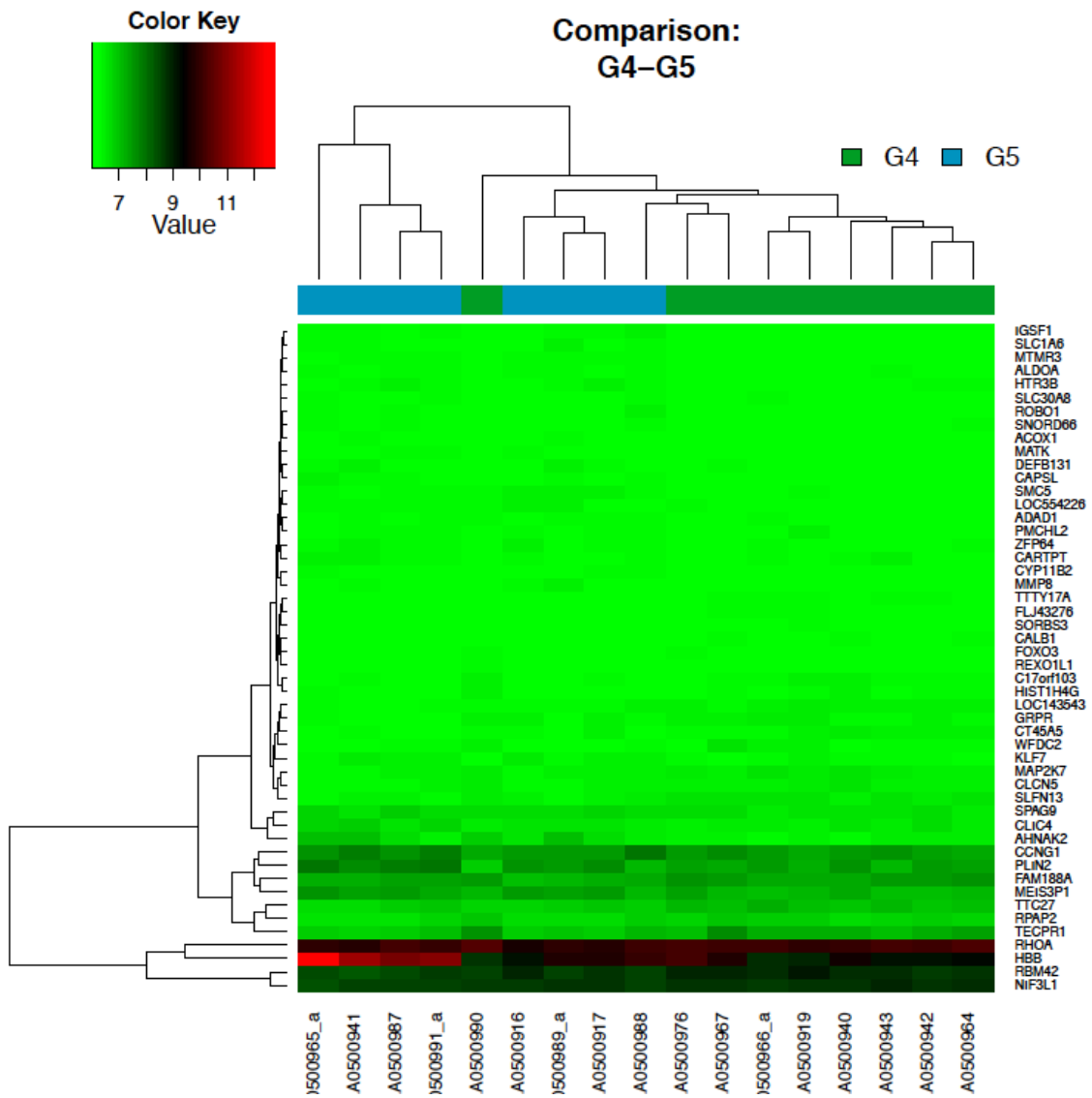


F. Comparación entre Re 3º día y noRe 3º día

1. Listado de los 50 transcritos con menor FDR (*microarrays*). G4 vs G5

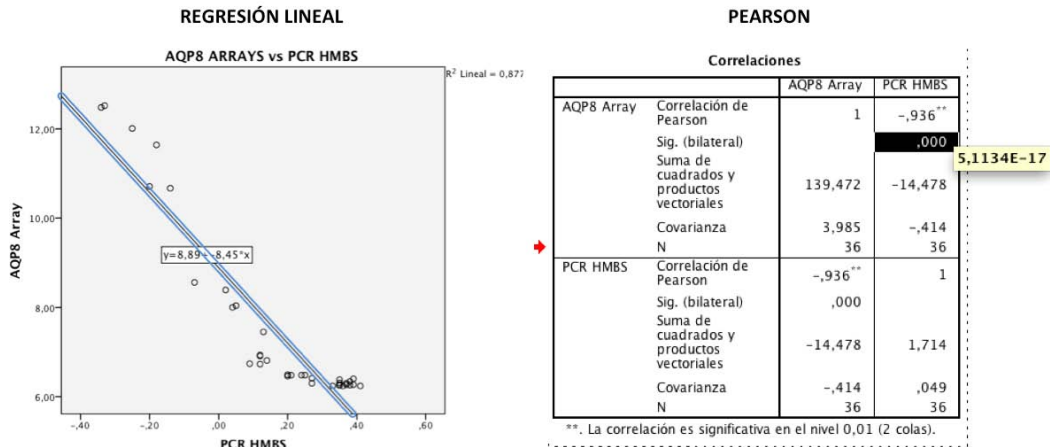
Transcrito	FoldChange	FDR
MEIS3P1	-1,1836	0,0164535
ALDOA	-1,072	0,0206734
ACOX1	-1,0562	0,0261262
LOC554226	-1,0627	0,0282095
CAPSL	-1,0759	0,0320878
SMC5	-1,0672	0,0323706
TTC27	1,1487	0,0347305
SORBS3	1,0619	0,0406858
MATK	-1,0602	0,0417426
SLC1A6	-1,0616	0,0418808
PLIN2	-1,2672	0,0444385
HIST1H4G	1,0605	0,0454426
FOXO3	1,0657	0,0466455
DEFB131	-1,0681	0,047738
KLF7	-1,0802	0,0524547
MMP8	-1,0822	0,0527227
ROBO1	-1,0652	0,0534579
CCNG1	-1,1562	0,0567039
WFDC2	1,0932	0,058974
CALB1	1,063	0,0601582
MTMR3	-1,0641	0,0606113
MAP2K7	1,0725	0,0619558
SLFN13	1,1126	0,0623691
IGSF1	-1,0577	0,0627075
C17orf103	1,0714	0,0629584
CLCN5	1,0723	0,0630631
CT45A5	1,0777	0,0632713
CLIC4	-1,1068	0,0688201
RPAP2	1,1024	0,0691979
HTR3B	-1,0656	0,069521
HBB	-2,4154	0,070317
NIF3L1	1,1093	0,071765
CARTPT	-1,073	0,0719558
TECPR1	1,297	0,0722454
LOC143543	1,0569	0,0742354
ADAD1	-1,0555	0,0743862
SLC30A8	-1,0526	0,074932
SNORD66	-1,056	0,0751206
ZFP64	-1,0652	0,0768521
AHNAK2	-1,1998	0,0777148
TTY17A	1,0559	0,0798898
RBM42	1,1709	0,080714
FAM188A	1,1595	0,0807687
FLJ43276	1,0522	0,0813497
REXO1L1	1,0529	0,0860387
CYP11B2	-1,0685	0,0872423
GRPR	1,0682	0,088351
SPAG9	-1,0835	0,0883548
PMCHL2	-1,0582	0,0898001
RHOA	1,1458	0,0898101

2. Heatmap (microarrays)

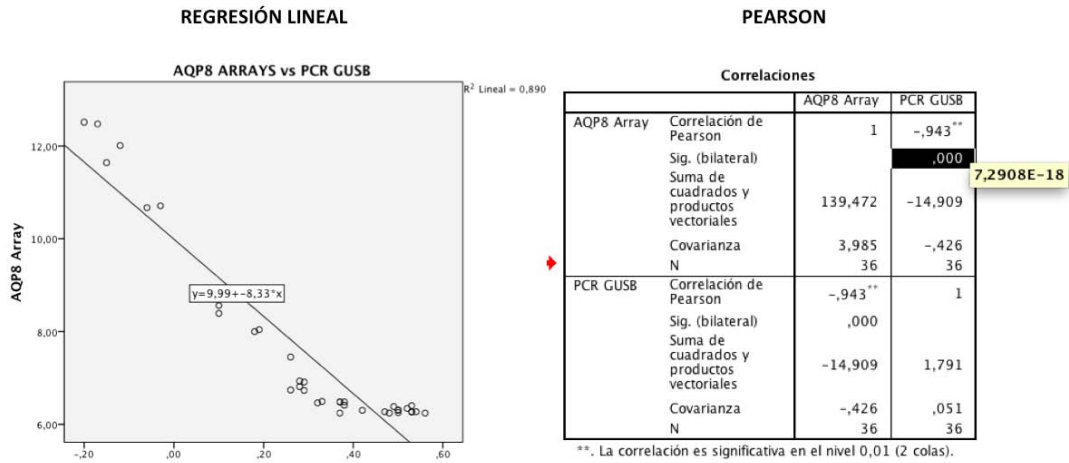


ANEXO 7 - Resultados de la regresión lineal y análisis de Pearson comparando los resultados del microarrays y la RT-PCR de las muestras de tejido cólico

AQP8 arrays vs PCR HMBS

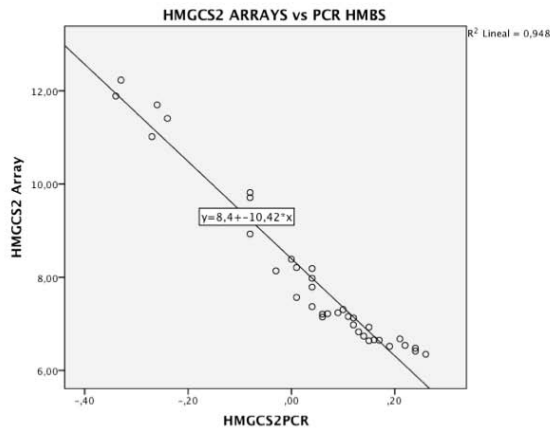


AQP8 arrays vs PCR GUSB



HMGCS2 arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

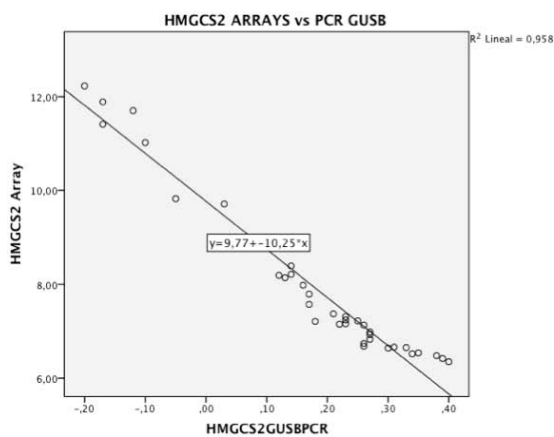
Correlaciones

		HMGCS2 Array	HMGCS2PCR
HMGCS2 Array	Correlación de Pearson	1	-,974**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	104,099	-9,471
	Covarianza	2,974	-,271
	N	36	36
HMGCS2PCR	Correlación de Pearson	-,974**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-9,471	,909
	Covarianza	-,271	,026
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

HMGCS2 arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

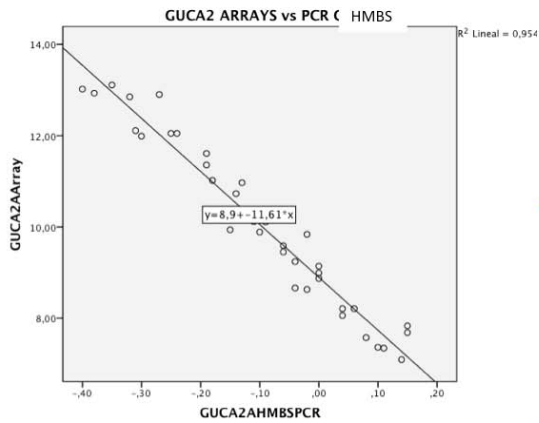
Correlaciones

		HMGCS2 Array	HMGCS2GUSBPCR
HMGCS2 Array	Correlación de Pearson	1	-,979**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	104,099	-9,732
	Covarianza	2,974	-,278
	N	36	36
HMGCS2GUSBPCR	Correlación de Pearson	-,979**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-9,732	,949
	Covarianza	-,278	,027
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

GUCA2 arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

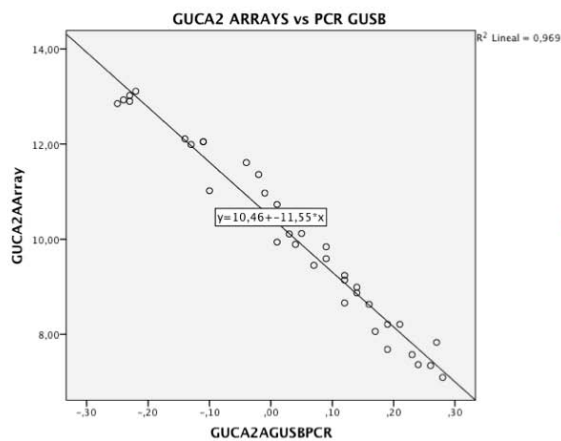
Correlaciones

		GUCA2AArray	GUCA2AHMBSPCR
GUCA2AArray	Correlación de Pearson	1	-.977**
	Sig. (bilateral)		.000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	124,182	-10,206
	Covarianza	3,548	-.292
	N	36	36
GUCA2AHMBSPCR	Correlación de Pearson	-.977**	1
	Sig. (bilateral)	.000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-10,206	.879
	Covarianza	-.292	.025
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

GUCA2 arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

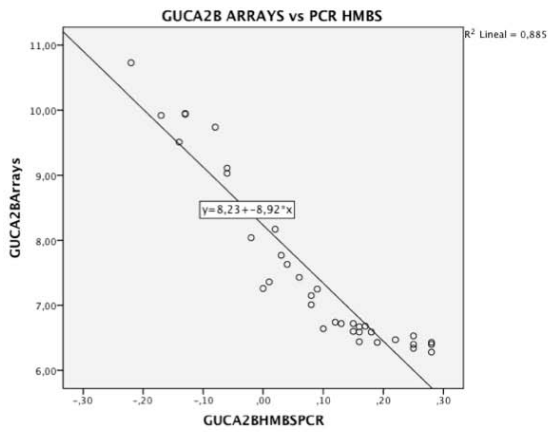
Correlaciones

		GUCA2AArray	GUCA2AGUSBPCR
GUCA2AArray	Correlación de Pearson	1	-.984**
	Sig. (bilateral)		.000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	124,182	-10,414
	Covarianza	3,548	-.298
	N	36	36
GUCA2AGUSBPCR	Correlación de Pearson	-.984**	1
	Sig. (bilateral)	.000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-10,414	.902
	Covarianza	-.298	.026
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

GUCA2 B arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

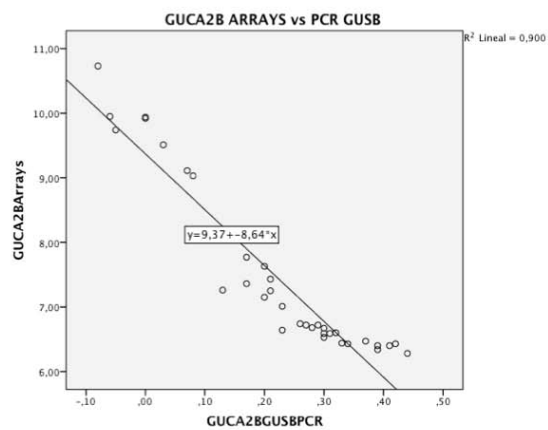
Correlaciones

		GUCA2BArrays	GUCA2BHMBSPCR
GUCA2BArrays	Correlación de Pearson	1	-,941**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	60,592	-6,008
	Covarianza	1,731	-,172
	N	36	36
GUCA2BHMBSPCR	Correlación de Pearson	-,941**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-6,008	,673
	Covarianza	-,172	,019
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

GUCA2 B arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

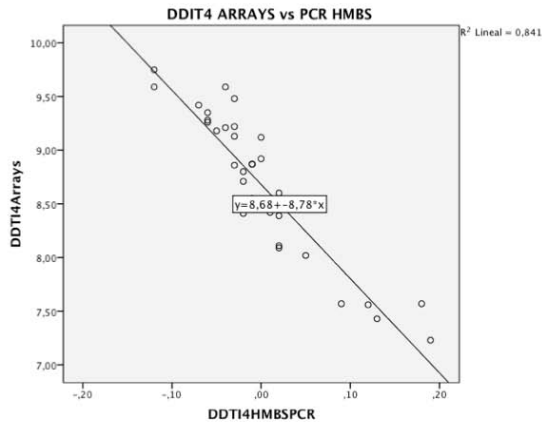
Correlaciones

		GUCA2BArrays	GUCA2BGUSBPCR
GUCA2BArrays	Correlación de Pearson	1	-,949**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	60,592	-6,309
	Covarianza	1,731	-,180
	N	36	36
GUCA2BGUSBPCR	Correlación de Pearson	-,949**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-6,309	,730
	Covarianza	-,180	,021
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

DDIT4 arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

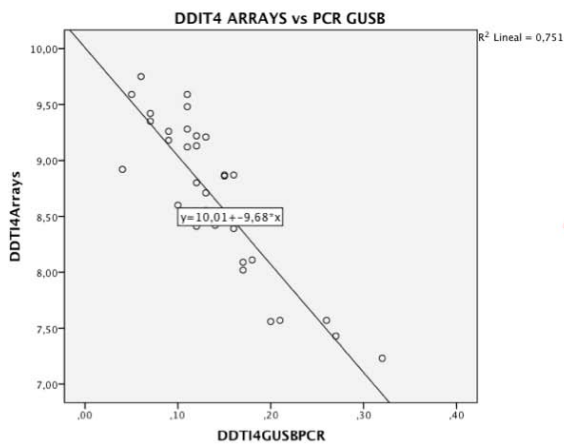
Correlaciones

		DDIT4Arrays	DDIT4HMBSPCR
DDIT4Arrays	Correlación de Pearson	1	-.917**
	Sig. (bilateral)		.000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	15,417	-1,478
	Covarianza	,440	-.042
	N	36	36
DDIT4HMBSPCR	Correlación de Pearson	-.917**	1
	Sig. (bilateral)	.000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-1,478	,168
	Covarianza	-.042	,005
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

DDIT4 arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

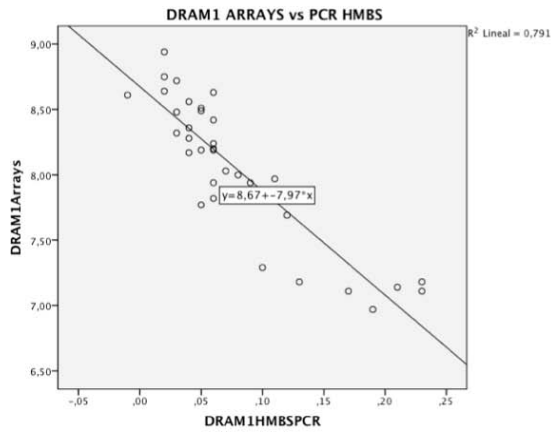
Correlaciones

		DDIT4Arrays	DDIT4GUSBPCR
DDIT4Arrays	Correlación de Pearson	1	-.866**
	Sig. (bilateral)		.000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	15,417	-1,196
	Covarianza	,440	-.034
	N	36	36
DDIT4GUSBPCR	Correlación de Pearson	-.866**	1
	Sig. (bilateral)	.000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-1,196	,124
	Covarianza	-.034	,004
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

DRAM1 arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

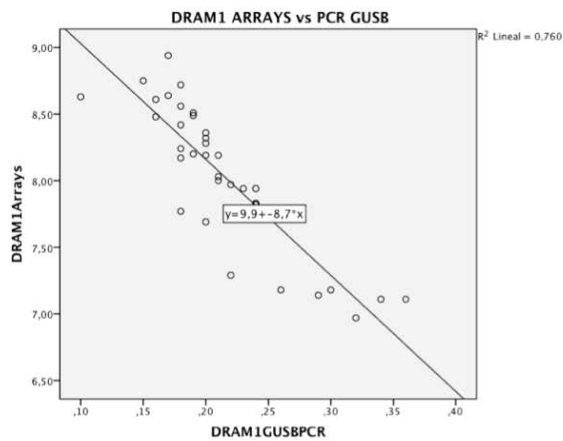
Correlaciones

		DRAM1Arrays	DRAM1HMBS PCR
DRAM1Arrays	Correlación de Pearson	1	-,890**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	10,296	-1,022
	Covarianza	,294	-,029
	N	36	36
DRAM1HMBSPCR	Correlación de Pearson	-,890**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-1,022	,128
	Covarianza	-,029	,004
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

DRAM1 arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

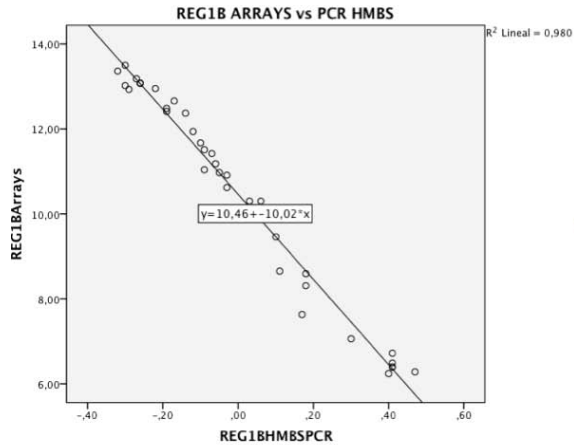
Correlaciones

		DRAM1Arrays	DRAM1GUSB PCR
DRAM1Arrays	Correlación de Pearson	1	-,872**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	10,296	-,899
	Covarianza	,294	-,026
	N	36	36
DRAM1GUSBPCR	Correlación de Pearson	-,872**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-,899	,103
	Covarianza	-,026	,003
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

REG1B arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

Correlaciones

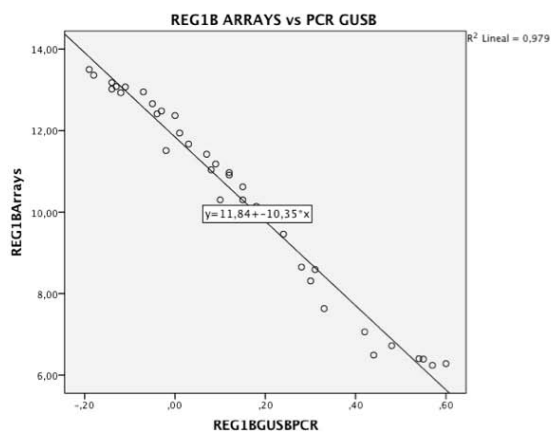
		REG1BArrays	REG1BHMBSPCR
REG1BArrays	Correlación de Pearson	1	-,990**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	211,120	-20,655
	Covarianza	6,032	-,590
	N	36	36
REG1BHMBSPCR	Correlación de Pearson	-,990**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-20,655	2,062
	Covarianza	-,590	,059
	N	36	36

1,7017E-30

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

REG1B arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

Correlaciones

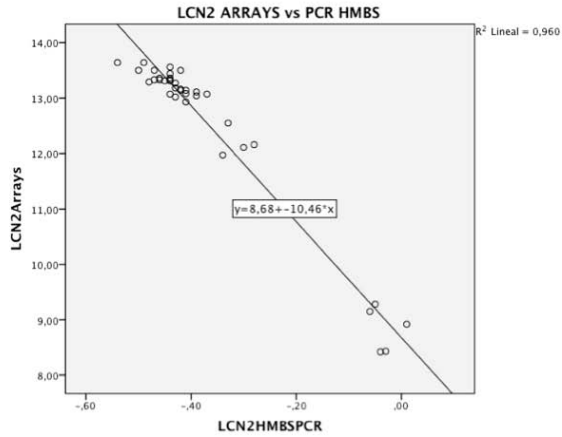
		REG1BArrays	REG1BGUSBPCR
REG1BArrays	Correlación de Pearson	1	-,989**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	211,120	-19,973
	Covarianza	6,032	-,571
	N	36	36
REG1BGUSBPCR	Correlación de Pearson	-,989**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-19,973	1,931
	Covarianza	-,571	,055
	N	36	36

4,9929E-30

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

LCN2 arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

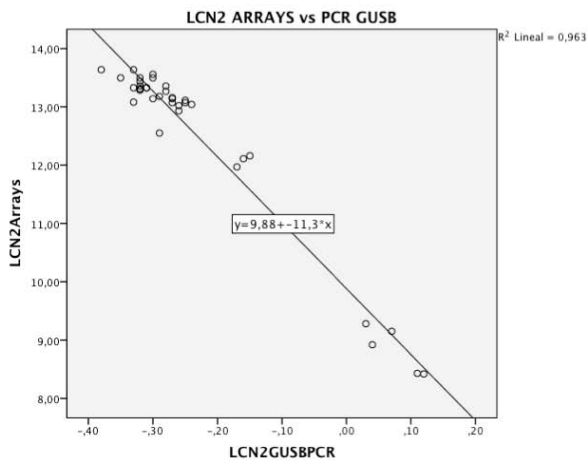
Correlaciones

		LCN2Arrays	LCN2HMBSPCR
LCN2Arrays	Correlación de Pearson	1	-,980**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	85,602	-7,856
	Covarianza	2,446	-,224
	N	36	36
LCN2HMBSPCR	Correlación de Pearson	-,980**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-7,856	,751
	Covarianza	-,224	,021
	N	36	36

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

LCN2 arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

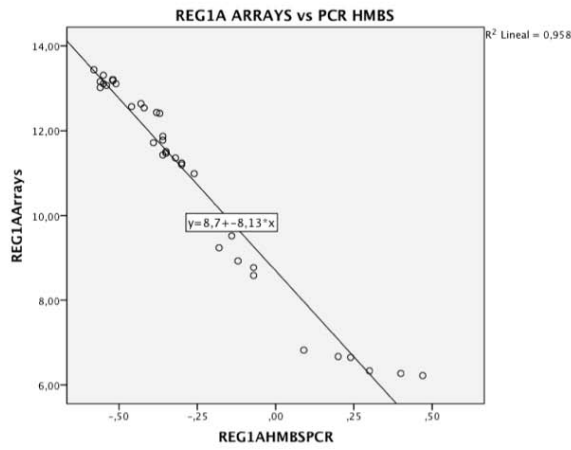
Correlaciones

		LCN2Arrays	LCN2GUSBPCR
LCN2Arrays	Correlación de Pearson	1	-,981**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	85,602	-7,292
	Covarianza	2,446	-,208
	N	36	36
LCN2GUSBPCR	Correlación de Pearson	-,981**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-7,292	,645
	Covarianza	-,208	,018
	N	36	36

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

REG1A arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

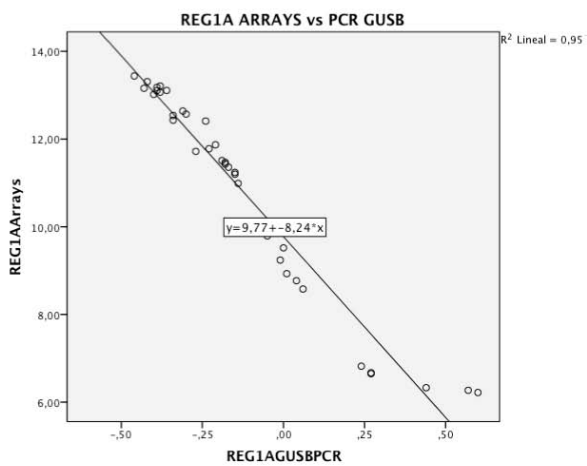
Correlaciones

		REG1AArrays	REG1AHMBS PCR
REG1AArrays	Correlación de Pearson	1	-,979**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	200,086	-23,563
	Covarianza	5,717	-,673
	N	36	36
REG1AHMBSPCR	Correlación de Pearson	-,979**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-23,563	2,898
	Covarianza	-,673	,083
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

REG1A arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

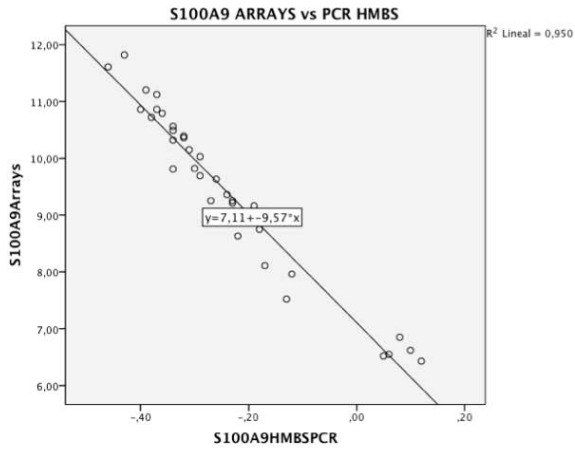
Correlaciones

		REG1AArrays	REG1AGUSBPCR
REG1AArrays	Correlación de Pearson	1	-,976**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	200,086	-23,118
	Covarianza	5,717	-,661
	N	36	36
REG1AGUSBPCR	Correlación de Pearson	-,976**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-23,118	2,804
	Covarianza	-,661	,080
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

S1009A arrays vs PCR HMBS

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

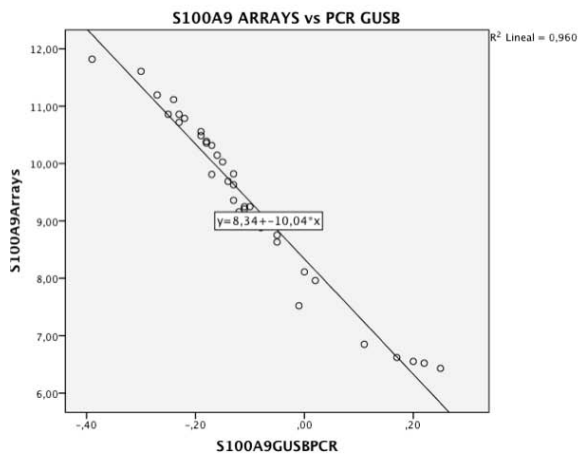
Correlaciones

		S1009Arrays	S1009HMBSPCR
S1009Arrays	Correlación de Pearson	1	-,975**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	79,950	-7,936
	Covarianza	2,284	-,227
	N	36	36
S1009HMBSPCR	Correlación de Pearson	-,975**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-7,936	,829
	Covarianza	-,227	,024
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

S1009A arrays vs PCR GUSB

REGRESIÓN LINEAL



PEARSON

Correlaciones

		S1009Arrays	S1009GUSBPCR
S1009Arrays	Correlación de Pearson	1	-,980**
	Sig. (bilateral)		,000
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	79,950	-7,647
	Covarianza	2,284	-,218
	N	36	36
S1009GUSBPCR	Correlación de Pearson	-,980**	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	Suma de cuadrados y productos vectoriales	-7,647	,762
	Covarianza	-,218	,022
	N	36	36

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

ANEXO 8 – Dianas potenciales de los miR diferenciales de la secuenciación

A. Número de potenciales dianas de cada miR diferencial

miR	Dianas en THS	Dianas en miRDB
miR-196b-3p	38 dianas	27 dianas
miR-625-3p	-	101 dianas
miR-183-5p	387 dianas	376 dianas
miR-584-5p	153 dianas	185 dianas
miR-126-5p	38 dianas	644 dianas
miR-1271-5p	614 dianas	458 dianas
miR-409-5p	142 dianas	96 dianas
miR-18a	132 dianas	250 dianas
miR-132-5p	-	40 dianas
miR-194-5p	-	291 dianas
miR-10b-5p	51 dianas	232 dianas
miR-200a-5p	85 dianas	217 dianas
miR-504-5p	100 dianas	223 dianas
miR-200c-3p	31 dianas	754 dianas
miR-545-5p	-	632 dianas
miR-192-5p	147 dianas	132 dianas

Potenciales dianas de miR-196b-3p en miR Data Base (miRDB)

miRDB
ELAVL4
CYP26B1
SDR9C7
UBASH3B
PPFIBP1
PCDH17
HOXB9
GZF1
LTF
COPS8
ANGPTL3
DZIP1
MOK
LRRC1
LIN28A
MTL5
AMDHD1
UMOD
TET3
XPO1
ELOVL6
SMNDC1
RPL37
UNC13A
FAM193A
C1orf116
SMURF1

Potenciales targets de miR-196b-3p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS
MAP3K1
PPP1R15B
ACSL6
RXFP2
CASK
ABL1
ERG
SNX16
TOX3
CALM3
AZI2
TMEM143
ARHGAP28
FLRT1
PLEKHA8
SMAD6
KCNE3
FAM169A
NME4
LCORL
SLC30A6
CDC34
TRANK1
GAS7
ZNF689
RAPGEF5
UBE2G2
CDC25A
SLC2A12
BCAT1
TEAD3
SOX12
RANBP10
ARHGAP20
IMPAD1
SLC25A22
FAM110B
TSPAN18

Potenciales targets de miR-625-3p en miR Data Base (miRDB)

miRDB	
ESCO1	COG2
SOCS5	PDP1
OSBPL8	COX15
PTPRD	ABCC9
ALAS1	FBN2
HMGB3	NEUROD1
RNF111	CCDC126
DNAJA1	DGKB
CNTN4	FOXN2
RUNDC3B	NUP37
MST4	MAGEB18
FAM151B	FLRT2
TWISTNB	TMEM56
ASIC5	CCR9
CCDC176	TBL1XR1
ETV1	CPEB4
SMC6	EGFLAM
USP42	EXOC8
ZC3H6	PRPF4
PIP5K1B	PSD3
NDUFAF5	ZCCHC11
ARF6	EMB
PEG10	DNAJA2
LEPROTL1	PPP6C
NAMPT	TMTC3
NRIP3	ZDHHC21
UBA6	ATG3
COL4A3BP	PPM1B
TGFBR1	RNF13
RNF128	HOXD8
GSE1	HOXA7
FGD6	ATRNL1
ANKRD20A1	GNL3L
ANKRD20A2	APOL6
ANKRD20A4	RBBP6
ANKRD20A3	NHLRC2
PAPOLA	FNIP1
WDR76	SLC34A2
DSG3	DESI2
SLC30A5	CD164
ADAMTS5	YWHAG
FLG2	NIPSNAP3B
THRAP3	KPNA4
IRAK2	LANCL1
OSGIN2	NEBL
TAF4	CELF1
RBM12B	VLDLR
SLC39A10	ETV7
KIAA1279	PARK2
IL5RA	EPB41L5
RIMBP2	

No hay targets para miR-625-3p en la versión 6.2 de Target Human Scan

Potenciales targets de miR-183-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB							
SLAIN1	NCK2	KIAA0355	MAPK9	KLHL23	HECTD2	TBC1D15	SELT
KCNK10	CYYR1	NEFL	SPATS2	PHF3	SSX1	SLC25A40	PAQR9
ITGB1	SCYL3	MAPK8IP1	AC010731.4	FCHSD2	NRCAM	RELL1	NCS1
GNG5	PEX19	NUFIP2	AMIGO2	PSD3	MICA	PLCB4	KIAA1671
RCN2	TCF12	IRF4	RHOBTB1	PRUNE2	SAMD4A	SLC26A7	JADE2
SREK1IP1	CX3CL1	FOXO1	SMCO4	EMP2	ATG12	NPM3	SH3BGR2
PPP2CB	GNA13	RPS6KA3	NADK2	PDE4D	SSX7	VAT1	KCNMB1
KCNK2	PHF6	SH3D19	POLR1C	CELF6	CNRIP1	SIDT2	PRKA
SRSF2	PPP2CA	KDM2B	PPP2R5C	PDCD4	TBKBP1	ABAT	ZKSCAN3
MEF2C	KLHL23	ABCB10	ABCA8	HLA-DMB	BAZ1B	CD151	JAM3
KLHL24	ZFAND5	PRKACB	ATL2	CELF1	CDC14B	CCP110	SEMA4D
FRMD6	ARPP19	FAM217B	TRIM27	DNAL1	GRM1	ERBB2IP	ARHGAP11A
EZR	PTDSS1	TRAM1	FRMD5	NARS2	SLC9A8	IDNK	TTC14
BNIP3L	SACS	EPHA4	LHFPL2	CALCB	ZNF750	MROH9	KIAA0368
DAAM1	SRSF11	EXOC8	RABGAP1L	ZDHHC6	TTC26	LOC81691	HEATR1
PTPN4	DEPDC5	ACER2	TPM1	RNF138	STC1	SUCO	NRAS
TMPO	FAM198B	DYNC111	TAB3	LMBR1	C16orf72	RAB9B	DCC
MAL2	CEP170B	DIP2A	ALAD	LCK	MBNL1	CCNB1	SSX5
TCF7L2	DUSP10	KCNJ14	EI24	SPC25	USP47	DAP	CNOT8
CSMD1	SLC35A1	VPS37A	TMEM209	KLHL3	SLC22A23	ATP10B	COL17A1
ARHGAP6	SIN3A	ZNF770	KIF13A	NRG1	THSD7B	TUFT1	NANOS3
PLEKHA5	PPP2R2A	CHD2	RFX3	EPHA7	SLC6A6	CDK5R1	NIPAL4
AKAP12	XPOT	CLVS2	SNX13	IFT43	ST6GALNAC3	EDEM1	BZW1
EAF1	MYO1B	IMPAD1	KIF2A	SLC25A36	CDC73	SLC6A19	NEIL3
NUDT4	ZNF197	KCND2	DHRX	RNF157	TRIM5	STK38L	KIAA1244
TTC7B	GCLM	SSRP1	BRMS1L	MFAP3	VSX2	SEL1L	MURC
ATF2	CTDSPL	HTR2A	KLHL28	ATP2B4	MED1	PCGF5	
FOXN2	SERP1	BACH2	CHRAC1	ARHGAP26	C2orf44	HCN1	
L3MBTL3	FRS2	MACROD2	ZNF605	PDE7A	AJAP1	TMCC3	
PSEN2	STXBP4	GPAM	SHISA7	MAP4K5	PDLIM5	C10orf99	
CTNNA2	MFSDB	PHLDB2	PLAGL2	RIMBP2	BCLAF1	TUB	
RALA	FAM175B	DGCR2	OTUD4	GOLGA6C	AMMECR1L	DDX58	
VDAC1	XPNPEP3	AMD1	KLRD1	BTG1	THEM4	OAS3	
NTRK2	GJA3	NRIP2	MTMR6	FAM65B	PLEKHM3	RNF169	
OSBPL8	EML4	SESN1	EEF1E1	LOC102725512	PABPC1L2B	NTN4	
TMEM184C	CLCN3	SLITRK1	ROBO2	ARL17A	PABPC1L2A	PKP4	
ARHGAP21	NR3C1	ATPIF1	ZFYVE26	FUT2	ZEB2	ABI2	
UNC13B	ZFPM2	NCAM2	REV1	ATRN	PRKCI	PARP11	
IDH2	RHPN2	TET1	MAP3K13	GYPA	KBTBD6	MOBP	
FCHO2	GPCPD1	SMPD3	MAP3K4	GMFB	SOWAHA	MYO5B	
ING3	SLC25A15	KIF5C	PRRC1	RORC	ASPH	ATP13A3	
AP3M1	PCK2	YPEL5	SNX1	GLUL	TRPC6	THAP7	
TMED7	IRS1	PAM	IPPK	TLE4	BCL2L15	FAT1	
ITGB8	MTA1	CCDC121	EXO1	MSTO1	ABCA1	SPRY3	
ICA1	MAPK4	DTNA	PFN2	ZEB1	SPG7	MIER1	
LRP6	AGPAT5	PDCD6	MAML1	FKBP14	RALGDS	ago-02	
SPRY2	TMEM56	DDA1	FOXP1	ZNF662	ARFGAP2	KIAA1024	
MRC2	MTERFD3	CCL18	LOX	RAB8B	MEI4	NOL9	
DAGLA	CTDSP1	DCX	TAOK1	ANKRD50	PRKCB	UBE2V2	
PKD2	ANKRD13C	EEF2	SLC25A20	PNPT1	PLEKHA3	C17orf103	

Potenciales targets de miR-183-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS							
ABAT	TCF12	ZMYM2	SCYL3	EI24	ARHGEF18	ZNF148	XPR1
AKAP12	PPP2R5C	SLC44A1	ARFGAP2	LMO3	AGAP3	PTCH1	KIF3B
PIGX	PEX19	SRSF2	ITGB8	TMSB4Y	DIP2A	SCN2A	GPR173
PFN2	L3MBTL3	BNIP3L	ZDHHC6	ATP13A3	DGCR2	TNRC6B	KPNA4
PTPN4	BAZ1B	DMXL1	PKP4	PPP2R2A	FHDC1	N4BP2	UBFD1
REV1	IRS1	PLEKHA5	XPOT	MAML1	DPP8	MAP3K2	RHOB
ITGB1	PKD2	NUDT4	PCGF5	CALN1	DCX	MFAP3	PRKCA
KCNK10	TMEM184C	DCC	YPEL5	KLHL28	GREM2	SYT1	RAPH1
C20orf177	GCLM	EPHA4	ABI2	CELF2	GNAQ	PKNOX2	NDST1
FRMD6	KCNK2	RALA	MAPK4	SMPD3	HLF	DDIT4	SPTBN1
ABCB10	SREK1IP1	PANK3	ATL2	RNF2	MXD4	CCND2	BCL11B
SLAIN1	C11orf75	TMSB4X	ARHGEF37	ABHD13	NRP2	MAP7D2	TET3
ATP2B4	ROBO2	CDK5R1	AGPAT5	OSBPL8	KHDRBS2	SLC8A2	UBE2H
TTC7B	SPRY2	TMSL3	FOXO1	FNDC3B	RAB21	CNOT6	ATRN
C2orf44	CELF1	MYO5B	RAB27B	RAB11FIP4	EVI5	TRIM2	DUSP4
KIAA0284	EEF2	ARHGAP26	TAB3	TSC1	TPM3	ZNF292	SH3BGRL2
CSMD1	ARPP19	CELF6	SRSF11	RNF157	ABCA1	TMEM150A	SLC6A6
MAL2	THAP7	PLAGL2	CNOT6L	NR4A2	AFF4	NFE2L1	TRHDE
CPM	PHF15	GPAM	KIAA0368	AJAP1	DTNA	SOBP	CAB39
TCF7L2	STYX	ZHX3	ARHGAP18	ICK	MAP3K13	AAK1	LOC100507203
PSEN2	FCHO2	RREB1	PRKCI	SLITRK1	TAOK1	CELSR3	CUX1
SACS	ATP2C1	ZNF770	ZFYVE26	HEATR1	UNC5D	RIMKLA	SLC30A8
NEFL	KIAA0101	PHF3	RNF138	ERBB2IP	RORA	LPHN1	CSNK1G1
SOCS6	EZR	BVES	PDCD6	STK38L	sept-07	SPOPL	NCKAP5L
DUSP10	ARHGAP21	SIRPA	SMAD4	TCF4	PNOC	KIAA2018	LPP
STC1	RBMS1	VPS37A	THSD7B	SNX1	MKL2	PGRMC2	GATAD2B
NRG1	VSX2	MDM4	TMED7	DAGLA	YOD1	CPEB2	PLCXD3
RCN2	TOMM70A	SLC35A1	GPCPD1	FLRT3	ZEB1	CCDC50	MED1
ANKMY2	MRC2	MTA1	GMFB	HS3ST1	INSIG1	BMI1	CAMK2D
LRP6	C16orf72	MEF2C	PRUNE2	GPR3	ERP44	GNB1	PLXNA4
IPPK	YAF2	CD28	GNG12	SLC22A23	PLAG1	COMMD3-BMI1	TUB
C11orf63	CTDSPL	ZFPM2	RHOBTB1	LTN1	MED13	PHF6	INO80D
RHPN2	QKI	MYO1B	TPM1	ENY2	BACH2	FIGNL2	TEAD1
MACROD2	SERP1	MED12L	MAP3K4	CERS6	PDE4D	STX7	KCTD15
GTF2H1	MBNL1	RORC	KIAA0182	NCS1	NR3C1	PALM2	PIP4K2B
PPP2CA	CTDSP1	MAPK8IP1	KCNJ14	SIK3	SIDT2	CPEB1	SERBP1
FAM175B	ICA1	BRMS1L	SLITRK3	PLCB4	PICALM	NRXN3	CFL2
NTN4	ANKRD13C	CX3CL1	EXOC8	SNX13	NUFIP2	SLC25A36	
GNG5	CYYR1	RAD50	CLIC4	KIAA0355	MRV11	SPRED1	
TMPO	FOXN2	C6orf162	RIMBP2	NCK2	EPB41L5	SAMD4A	
NPAS3	IRF1	KDM2B	PTDSS1	PTPDC1	KIAA1324L	PIM1	
PDCD4	RAB8B	EIF2C2	ACVR2B	C8B	EML4	MARK2	
SLC25A15	KLHL3	AUTS2	PSD3	LPPR2	THSD7A	MAPK1IP1L	
RPS6KA3	VPS37C	TMCC3	USP47	ZDHHC9	STXBP4	FGF9	
SEL1L	LHFPL2	REPS2	ENAH	ARID4B	PPM1E	SLC1A2	
KIF2A	PNPT1	SESN1	AP3M1	SAFB	MTDH	ZNF592	
BTG1	UNC13B	PAM	C11orf57	KANK1	NCOR1	NADKD1	
PPP2CB	CACNA1E	FOXP1	BNC2	ZEB2	CNTNAP2	TXNDC5	
IDH2	PSMA5	CLCN3	TET1	SIN3A	VANGL1	BCL11A	
ANKRD50	KIAA1024	MTMR6	CHD2	MAP4K5	ZIC3	SPRY3	

Potenciales targets de miR-584-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB			
USP6NL	THBD	FAM175B	TMEM17
SRP72	PKN2	LARP4	RPE
ELL2	LOC101927844	KRAS	FAXC
SPOPL	TMX1	NPHP1	PHF6
PHACTR1	ZNF585A	ZNF208	RAB23
FAM122B	SLC30A7	BMPR1A	ZNF512
PTP4A1	H2AFZ	PCDH18	MBNL3
NAA30	FLRT3	ANKRD44	PKD2
WWP1	PPM1A	PPIL1	TP63
PDHA1	MATN3	PRPF19	HBD
ZNF512B	PPFIA1	NANP	CHN1
BCOR	TRAF3IP2	HBS1L	UTP11L
SETD5	PPP1R3B	RQCD1	RAP2A
CALCA	UBE3B	LOC388282	THBS4
AKAP10	SLC35D3	LRRTM2	ZNF627
CHORDC1	CD200	SLC2A13	TMTC3
IMPAD1	CCNYL1	RUNX2	AIDA
PUM1	NUDCD2	FLJ44313	ATPAF1
CADPS	SAR1B	SEMA4F	ZBTB41
SRSF5	M1AP	HACE1	SH3PXD2A
AFF4	DDHD2	AK2	SNX13
WIPI1	ZC3H6	BMP3	SFR1
COQ10B	HSF2	UTRN	KMT2A
ZNF614	TNPO1	ZNF431	MYO5B
CALB1	NUFIP2	ZNF583	ITGAE
FNDC3B	VWA8	XPO7	SLC25A40
ACYP2	DAND5	PURB	POLR3E
AVPR1A	FOXA1	PCDH7	SSX2IP
ARL13B	EIF2AK1	CCDC88A	FAM104B
C18orf63	ZBTB1	HDAC1	TMEM106B
VPS41	LARP4B	SRPK1	ACSL4
TTC22	MEX3B	GNG12	KLHL13
GBP5	NBN	AQP4	ATP6V1E2
UBE4B	ALPK1	USP45	PIGW
LRRIQ3	CALCR	STAG2	LMO3
PRRX1	RNF11	ABHD17C	
UHRF1BP1	OPCML	NF1	
TRDN	RLN1	NAMPT	
TTC13	GABRA4	MORC3	
MEX3C	XPR1	MSI2	
KIF2A	GYPE	MMAA	
ADNP2	PRKAA1	HSD11B1	
EXPH5	ANKRD18B	BTBD10	
LRP11	ZNF674	CTDSPL2	
CGGBP1	CEP104	HAPLN1	
MYRIP	PCDHB11	PITX1	
KIAA1841	EEA1	MAML2	
PIGK	ETNK1	ERRF1	
STARD13	SGTB	C5orf51	
DSG3	JADE1	YKT6	

Potenciales targets de miR-584-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS			
CCDC152	APPBP2	C21orf91	SNX1
GANAB	STAMPB	ZBTB44	DENND5B
NCOR1	WIP1	MAGT1	RBFOX1
NUFIP2	PUM1	TCF12	
PRRX1	KIAA1841	PTEN	
SETD1B	MEX3B	PTP4A1	
CYP2J2	KIAA0907	BIVM	
CADPS	UBE2B	PDGFA	
FOXN3	IREB2	RASGEF1A	
FREM1	ZNF629	TET3	
NAA30	PITX1	HSPA5	
PPM1A	FZD7	ELAVL2	
UTP11L	NET1	PRKAA1	
XPO7	SLC30A7	HOMER2	
UBE4B	SYT7	PURB	
C18orf63	FAM116A	ELL2	
THBD	CBLL1	FEM1C	
TUSC2	DNAJC6	RAB4B	
DAND5	HSPA13	DYRK2	
SPOPL	ERF1	TGFB2	
MYRIP	HNRNPU	COG5	
NDFIP2	MTDH	C14orf101	
ENAH	CAPRIN1	LRRC19	
PHACTR1	STYX	PIGK	
SCAMP5	OLA1	SLC5A3	
AFF4	C18orf1	KIAA0494	
TTC13	CASK	SCAI	
ETF1	PAX7	SLAIN2	
MEX3C	GABRA4	LARP4B	
REV3L	BCOR	DNAJC21	
PIGW	NR1D2	RUNX1T1	
TBC1D15	GPHN	ZIC1	
YKT6	WSB2	STRN	
C7orf42	C13orf31	GAPVD1	
EXPH5	PKD2	PGM3	
EML1	PLAG1	CLEC5A	
FAM78B	HIF3A	USP37	
ALDH1L2	XPR1	RORA	
HOXA11	IL33	HAPLN1	
TTYH3	OSBPL6	FBXO28	
ETS1	HNRNPH2	GABRB2	
PTCH2	PATZ1	ATRN	
ETV1	MMAA	BCAP29	
LRRTM2	MARCKS	NCOA7	
FBXW11	ASPH	PPP1R3B	
ZNF512B	LRP6	SP3	
MSI2	C9orf86	PHACTR4	
SAR1B	ATG14	SPRY4	
SRSF5	FBXO11	CLYBL	
MZT1	ANKRD44	FBXL20	

Potenciales targets de miR126-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB						
GRIK2	JPH1	FAM73A	VPS13A	ADAM9	LARP4	BAIAP2L1
SLC41A2	ARL13B	COLEC12	TCP10L2	C11orf87	RXFP1	SF3A1
PDE7B	MAP3K2	MBNL3	COBLL1	GPR64	HNMT	DLK1
STEAP2	HOXB2	PKHD1	EIF3J	RBM41	RGS14	LPHN3
MYEF2	FRYL	NUP153	TBL1XR1	RSBN1	PF4	HMGB1
C5orf47	DICER1	METTL17	C22orf39	RAB27B	PNN	PAN3
RFX4	GRIA2	SYT10	PPP2R5E	MYT1	HMBOX1	ATXN1L
CASK	KIAA1033	SYNPO2	TMX1	SENP7	ARHGEF12	FAM63B
BRWD3	SLIT2	ZC3H12B	MEX3B	C15orf27	SOCS6	MR1
TBC1D15	NUDT12	SMC2	RBM46	CYP7B1	OGT	MPP7
DENND1B	PPP1R10	DNAH5	RAB11FIP2	PUS10	B4GALT4	NDUFS1
TRIM8	IDS	LRP1	C5orf34	L2HGDH	TNKS2	TECPR2
PI15	SPAST	BICD2	SSX2IP	RFTN2	PKIA	SHISA3
MMP16	NOVA1	SEMA6D	BCL11B	FAM8A1	COL11A1	PALM2
HSPB8	CHUK	BZW1	FXN	HOXA13	VAPA	SDPR
GPBP1	MAN1A1	IMPAD1	KIAA1456	DMD	SLC4A10	RINL
EIF4A2	KIF14	C1orf27	COMMDD10	BEND3	PTGS2	FAM120A
ZDHHC15	CSF1	JAG1	ADCYAP1	GRM8	DTD2	FAM84B
TRPS1	GRIK1	DENND6A	CD2AP	SSBP2	LZTFL1	ING3
DIRC2	KIF16B	SOGA1	NAA50	KRAS	KLF17	TMTC1
INPP5D	WNT3	KIAA1644	JARID2	FNDC9	SLC2A13	ETV1
FAM168A	AP3B1	LRCH2	SDE2	TSHZ1	SGK3	NSL1
RABL3	KAT2B	CHIC1	RABGEF1	PPFIA1	SYS1	CA13
CNOT4	TSHZ3	CCNT2	AFF4	AZIN1	SGPP1	RAB8B
CCP110	CDK19	USP47	MAT2B	LDLRAD2	C8orf44-SGK3	ZNF197
SAMSN1	MDH1	NFAT5	CLUU1	MYBL1	GINS1	REV3L
MAP3K7	TMEM41B	TMX4	PHLPP1	PTPN21	GNE	NAT1
S1PR3	MMRN1	MTCH2	TRHDE	FAM199X	PRKCH	STX17
TMEM56	GABRA5	PRKX	SRSF12	PDGFD	RGS5	PRAMEF2
PLCB1	SCEL	ICK	MMGT1	NAPG	SP5	E2F7
ERGIC2	HMGXB4	PNRC1	BCL2L2	ZFC3H1	MBLAC2	RAB31
PPFIA2	LONRF3	GABRB2	ANKIB1	SH3BGR	DBR1	ZFH4
HOXB5	ZNF624	PCBD2	KPNA4	DHX35	PTPRB	CHM
ENOX2	MGAT3	SETD5	NDUFAF3	ZIC2	IRS2	RASEF
FAM198B	MPC1	DSC2	C8orf37	DCLK2	MTMR10	KIRREL
PROCR	THR8	EFCAB7	C16orf72	RCOR3	RALGPS2	MEGF10
EYA4	ZBTB41	TMEM47	TEP1	CEPT1	BAI3	MEX3A
C21orf91	DMXL1	PDCL	SLC35A5	NUDT7	FKN	CHRNA5
PWWP2A	SMCHD1	VPS13C	GLE1	VWA8	RAB30	NR2C2
CDC14B	UHRF1BP1L	MAPK10	EXOC5	DNAJB4	CLCN3	PLEKHF1
EFCAB11	ARL5A	LRRC3B	ARID1A	YIPF6	TMEM182	PF4V1
RORA	C17orf75	ERBB2IP	ZNF777	TMEM33	IKZF2	ATP11C
KLHL32	C2orf69	CEP135	DGKB	PRKCA	ZBTB1	DPPA4
HOXB6	RGS4	PPIF	HS3ST3B1	TGFBR1	LPIN2	RBM19
KL	NFXL1	CHMP5	MITF	CEP170	SOX13	DCAF10
TRAF6	PLEKHB2	CALCRL	LIN9	FPGT	ZFR	LRRC8D
STK17B	PTPN4	CLEC1A	SLC35A3	FEM1B	MMS22L	RNF141
EREG	FLRT2	TTF2	LRCH1	KLHL7	CLDN22	ZC3H7B
MACC1	PHKB	PPP2R2B	GRM7	PGAM4	BDH2	TCF12
DYRK2	TSC22D4	FABP3	SLC7A2	CACNB4	HPS5	DKK1

Continuación de potenciales targets de miR126-5p en miRDB

miRDB					
DAPP1	THEMIS	RAB3IP	HDAC4	TFPI2	NFS1
TRIL	LOC101929844	UBE2W	ELP4	TMED7	ZNF518A
TET2	ANKRD20A2	REEP5	AHCTF1	TMEM209	SH3RF1
MLLT4	ELMOD2	DCDC2	CNTN4	NCALD	PTPN11
C2	PGC	TOR1AIP2	GRIN2A	C4orf26	UTRN
TGFBI	SASH1	PLAG1	CFL2	ANKRD20A3	DPY19L2
TFPI	SNCA	ADAMTSL1	SAMD8	KIAA1377	ZBTB6
PRAMEF13	MLF1	BRD1	GCSAM	OXNAD1	VPREB3
ST8SIA4	C8orf34	PEX13	ACTR2	WDR5B	ZC3H6
PRAMEF1	NXT1	TRAF3	TSPAN13	C1RL	GRIN3A
CHST7	TRIM2	FAM135A	MGAT4A	CPEB4	ANKRD33B
SEMA3A	C9orf72	VEGFA	NLGN4Y	WDHD1	RGS18
DLAT	PLIN1	QRSL1	BRD3	MED11	LOC101928195
MOG	TMEM50A	AASDHPPT	SYAP1	U2SURP	MFAP4
CADM1	SLFN5	PPP1R1C	SLC19A2	GOSR1	MSR1
DLG1	PIKFYVE	ZKSCAN2	RAPGEF2	IAH1	ACN9
PDZRN4	ARL11	AC079610.2	RAB33B	MARCH3	LOC100996643
PPP6R3	ZNF365	FAM19A2	ATP6V1A	BTG1	METTL15
FSIP1	SNAI2	NECAB1	MAL2	UBE2V2	INTS6
KBTBD6	GRIA4	TMEM170B	CLASP1	LYPLA1	ZNF10
C1GALT1	ST8SIA3	GRM5	MLPH	FAXC	ADAMTS4
ESRRG	CRBN	ATAD2	SRD5A3	SPATS2L	PIP4K2A
RAPGEF3	UHMK1	KMT2A	ANTXR2	FNDC3A	RDH11
PGAP1	ZNF695	SNURF	CD84	MLL10	WDR64
ARF6	EXD2	FSD1L	DISC1	MAN2A1	MIB1
GK	NETO1	RCN2	MGP	C9orf3	LCORL
GPSM1	LRRC19	CALU	TTC3	PTPN12	OTUD6B
CRCP	PIAS2	CHMP3	MTAP	NLGN4X	COL19A1
BRAF	CLIP1	ARL4C	HAPLN1	ELOVL2	C9orf114
ZRANB1	SNRPN	AIMP1	MDM4	EYA1	MELK
TNPO1	DPP8	CPLX3	TCHH	KDELC2	NSUN7
NHSL1	SMIM14	RNF103-CHMP3	PTPN14	ZNF566	MARK1
SULT6B1	TCFL5	LOX	GABRA4	PCLO	ATP8B1
UPRT	CXADR	CDH9	PDLIM5	GUF1	ZFY
TRDN	HECTD2	FGFR2	RBL2	SCAP	SMIM8
ATN1	ERLIN2	SLC25A53	OR51E2	CXXC4	CASP9
DAB2IP	PTP4A1	MCHR2	TNFAIP8L3	DIP2B	TMEM2
TMPRSS11F	ENPP1	PPIL6	HECW2	DCX	NR3C1
ZNF148	PTPRC	TTC7B	VGLL3	ZMPSTE24	AP1AR
ITGB6	CDCA7	RBM26	RSPO3	NF1	MAGEF1
BCAP29	SHROOM2	SMS	C10orf126	ITGA4	DIS3
ARSK	CTCFL	GPBP1L1	RC3H1	HOXC8	MBTD1
C11orf82	POLK	MAP3K13	RHOBTB3	TMEM64	EGFL6
NPAS2	TBX18	PANK3	SPRY4	FAM213A	HELZ
SRRM1	RALGAPA1	ANAPC16	AKIRIN1	CMTM6	
GATA3	GPR88	GHR	SREK1IP1	ZBTB8B	
ANKRD20A4	C15orf43	EDA2R	ARHGAP32	POF1B	
CHST11	WAPAL	HIPK3	CNTN1	SRFBP1	
PEX3	SEC61A1	EPHB1	AKNA	ZNF33A	
ANKRD20A1	SLC26A7	AK2	ACAN	NFIB	

No hay targets para miR-126-5p en la versión 6.2 de Target Human Scan

Potenciales targets de miR-1271-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB						
LRCH2	PRRT3	OGT	SDC2	C5orf22	TNFSF4	SMC2
KIAA2022	MYRIP	OXSR1	SLC7A8	CEP97	SHC1	TOR1A
LPPR4	GALNT2	MTHFD2L	TM4SF20	BRWD3	PCDH11X	CALCRL
PHF20L1	ZFP36L1	JAZF1	ATP2B4	ABAT	PCDH11Y	PNPLA1
MTOR	OVOL1	CHIC1	ST7	LNX2	ABCD1	RPS6KA6
FRMD5	ZCCHC3	CREB3L2	PRKAR1A	SLC12A6	AK3	COL25A1
TMEM170B	FOXO1	SLC16A13	EPB41L3	MPV17L	TPM1	STK35
YIPF4	ABCA2	ZHX2	XKR4	LUZP1	DAB2	RNF169
CHST10	ZEB1	CNNM3	BRINP2	CABLES1	CCNG1	KCNG3
CHST1	PLOD2	MAGI3	PPP1R9B	MAP2K1	SNX7	SLC50A1
BRPF3	ZFHX4	PRTG	TPR	TMEM169	RNF183	PHACTR4
UBE2G1	SLC39A1	PTP4A1	SYT16	DPYD	ERLIN1	STK17B
SLC16A9	FARP1	CCNG2	RAB27A	NHLRC3	TBX15	RANBP6
FAM49B	TTYH3	ZDHHC17	MIER2	EZR	GAN	ITPR2
TMEM198	ANKRD27	GNDF	MFAP3L	GLTSCR1L	ZNF850	LAMP2
MED1	FN1	TACC1	NDST1	POU2F2	SIN3B	SPAG8
ANKIB1	NOVA1	ARHGAP24	GRIA1	ASH1L	RGPD1	RGPD2
E2F5	FOXO4	ADK	PROSC	PTPMT1	SORT1	HN1L
SPAST	DPY19L3	NANOS1	TNS3	INPP5A	CAV1	SLC24A4
ADCY6	NHLH2	C20orf194	PRIMA1	ACTRT3	MROH2A	COA4
SLC1A1	SERINC5	DEPTOR	NPTX2	HBEGF	CRKL	EXT1
RAPGEF4	RNF139	NTN4	CDK18	RGS2	EIF4EBP2	MTX3
USP45	NEUROD4	MORF4L1	TGFBF1	RDH10	NUS1	KRAS
ITPR1	PRDM16	MAP2K3	HDAC7	MTR	CD36	RUNDC3B
SH3KBP1	WDR82	CEP170B	SLAIN2	CACNB1	RASSF8	OXR1
FOXQ1	UCK2	ARHGEF12	AZIN1	GRHL2	C1GALT1	FAF2
PDE8B	CNN3	SESN3	SLC18A3	COL4A6	NLN	AJAP1
RAB8B	ATG16L1	B4GALNT1	CTNND1	FBXW11	TBX5	VAMP8
BAI3	RQCD1	GPC3	RAB23	COL9A1	CEP19	GNB4
DOCK1	TRIB3	CPSF6	LOC101060212	HDHD2	CACNA1C	PAK2
SPIN1	SLC12A5	ZCCHC11	CRYGS	SEZ6L	PLAGL1	SS18
REV1	SCYL3	SLC36A2	PES1	SPSB1	MTMR12	PDE10A
PRKCE	ATXN3	TSKU	PLCB4	SMEK1	DNAJC30	NLGN2
APPL1	LRRC7	SCAF11	C2orf72	CBX6	SYPL2	GAD2
FRS2	LRIG1	ERC2	PIK3C2A	ZFR2	CASP2	CLN5
SOX6	ALK	LILRA1	GAP43	FEM1B	PURA	ZNF609
TAC1	TBL1X	LCP1	RYK	TMEM163	NIPBL	C18orf54
ZHX1	UNC13C	JMJD1C	HSPA2	AP2B1	PROK2	KLHL8
MAP3K3	SPRY3	DENND2C	SYBU	PAK1	RHPN2	EPHA3
SPEN	CACNA2D2	PRRX1	ZBTB41	SAMD12	RDH11	TMEM19
KLHL7	MSN	BICD2	GBP5	TMEM178B	SNX30	TSGA10
HOOK3	MORF4L2	KIAA2018	SNX16	IRF6	GRM7	IRF4
ST6GALNAC3	MTSS1	KIDINS220	OR10W1	SLC6A9	FOXK1	ZNF10
FAM178A	FHL1	KPNB1	NSUN6	PPP3R1	STK17A	BSDC1
ARHGAP6	MRAS	MIEF2	EBF3	HOMER1	JMJD6	DCAF10
SH3BP5	GPM6A	BCR	DDIT3	SLC25A42	MTRR	MRPL42
ZFAND5	LAMC1	CACNB4	CTDSP1	ZNF667	SLC25A1	RIMS4
PTGER3	PHIP	AQP2	DDAH1	SLC25A25	STMND1	GSTM2
KIAA0513	TCF7L2	IRS1	HBP1	CSRNP1	CCSER2	KIF5B
SLC22A5	CCDC67	SLC10A3	CAMTA1	RITA1	CSNK1D	STMN2

Continuación de potenciales targets de miR-1271-5p en miRDB

miRDB		
TRIM9	TMEM235	SH3BGRL2
PCDH17	FADS1	CTSV
DLAT	TM9SF4	MAFF
FAM81A	UHRF1BP1	TMEM52B
SLC22A23	FKBP7	GRK6
ZIC3	GNE	PMAIP1
MMD2	FLOT2	LOC100996290
MAB21L2	COL13A1	TRPC5
RNLS	THAP2	
CLVS2	SLC7A2	
KLHDC9	CCDC88C	
SCARB1	DUSP18	
FUCA2	GLE1	
MBLAC2	GCNT1	
ZNF268	C3orf27	
NAA50	GNAI3	
SLC38A4	CELSR2	
FRMPD4	LEPR	
AHR	LDB2	
RBM20	MYOCD	
ALKBH1	FBXO41	
BTBD3	INSIG2	
GPLD1	RBPMS	
EPB41L4B	OPN5	
SIM1	MMAB	
EDEM1	KLF3	
CRTC3	EIF5	
SLC35A1	PCGF5	
GPR135	ARPP19	
OLR1	ZNF577	
MBD4	POU2F3	
CD164	RAP1GAP2	
RNF152	PDE6C	
CAMK2N1	CTXN2	
CLDN20	IGSF11	
COBL	TFDP2	
ZNF175	DSG2	
ZNF782	FAM53C	
TMEM119	EOMES	
CPEB1	ELOVL5	
CD1D	TOP3A	
PARP15	CAPNS1	
sept-11	LOC101927322	
DIXDC1	SKIL	
GPANK1	SLC35E4	
TMEM56-RWDD3	RAB27B	
CREBRF	ago-04	
VIPR1	ARHGAP19	
F11	WDHD1	
CDK17	LMTK3	

Potenciales targets de miR-1271-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS						
SIN3B	FOXQ1	KRAS	CNN3	VANGL2	RIMS4	HMP19
BRPF3	SGMS2	CPEB1	MAGI3	PHACTR4	MICAL3	C12orf52
AK3	MITF	VAT1L	MOBK1A	FYN	GDNF	PDGFRA
NEUROD4	LOC283403	EIF4EBP2	RHOQ	DDIT3	SEC62	AFF4
LPPR4	CASP2	GRM7	OVOL1	OR51E2	PAIP1	NUAK1
RPS6KA6	BAI3	TRIM9	SLC9A2	MAB21L2	STAR7	GRB2
FOXF2	LDB3	RUFY1	ADRBK2	EDNRA	OBFC1	EIF3J
PRKCE	AHR	TAC1	TMBIM6	HN1L	CPNE3	YWHAG
HBEGF	SLC22A5	KIAA0284	PRRG3	GNG12	BCAT2	BCL2
NLGN2	RAB35	SHOX2	KAT7	TMEM163	MPP1	ZAK
BRWD1	ERG	PHF20L1	STC2	ABCA1	CHMP1A	TTBK2
ANKRD27	DLAT	LPPR2	SMEK1	EZR	PCMT1	RAVER2
ARHGAP6	UBE2G1	SERINC5	VAT1	GPRC5B	SLC44A5	MAPRE1
HOOK3	ZHX2	SLC6A9	RASA1	BSDC1	MAP3K2	SORT1
EOMES	CRISPLD1	LRRC3	EPAS1	SLC1A2	PRIMA1	INTS6
ZCCHC11	KLHL7	GRID1	RNF169	BRWD3	RAB6B	FAM8A1
ZFP36L1	RNF139	B3GALT2	ANKRD52	TBX1	ODZ4	KCNK10
PROK2	YIPF4	ERLIN1	CHMP4A	STMN2	CELF6	CERS2
SLC39A1	DDAH1	ABAT	FYCO1	CTNND1	FXR1	CCDC41
ZCCHC3	TBL1X	ABCA2	PHF21B	GPR85	BMP1B	C10orf131
REV1	MAG1	RASSF8	ATP2B4	TTYH3	AP2B1	PAIP2
FOXO1	C20orf194	RNF183	EPHA3	NHLH2	INA	DESI
MYRIP	C12orf24	DSG2	SLC24A4	ERO1L	CEP97	SLC25A16
CD164	TRIB3	CTDSP1	GNA13	AJAP1	ARSJ	PIK3R1
CHST1	HBP1	ST6GALNAC3	LHX1	ZFC3H1	C6orf204	GPC1
SH3BP5	CCNG1	FGF9	C7orf42	PAK1	KIAA0907	APBA2
KLHL8	CREB3L2	CADM2	JAZF1	MAP4K4	ST7	DOCK9
SOX5	OGDH	RAB27A	SNX30	DOK4	ETF1	GPR6
ABCD1	RAB23	TCF7L2	NPTX2	GPM6B	BHLHE22	PSKH1
GAN	ZBTB41	ZDHHC17	ATAT1	USP13	IQSEC1	SAP30L
TMEM198	LRRC4	TNS3	DDHD1	FAM5B	FAM57A	MARCH3
TMEM170B	RAB8B	SLC12A5	CNNM3	NT5DC3	CBX2	FAM60A
FAM49B	SLC18A3	TAF4B	LRIG1	SOCS7	TBC1D4	MAGEL2
ARPM1	MFS5D5	MRAS	TMX1	PIK3C2A	LPHN1	NR1D2
KIAA1324	LPP	CPSF7	MAP2K1	FBXO32	NPTX1	ELAVL1
FRS2	MORF4L1	E2F5	RAB34	PMEPA1	NRN1	OSBPL10
NIPBL	MAP2K3	ZIC3	AP4E1	RBM20	RHOB1	ARHGEF3
HTRA4	SLC16A9	RARG	PCDH11Y	KTN1	PLCG1	RELL1
PLOD2	FARP1	LIMS1	TPM1	SH3PX2B	ARHGEF7	CBX5
B4GALNT1	MBLAC2	MED1	TSC22D3	RNF152	TOPORS	DENR
DIXDC1	ATG16L1	KIAA1244	SYT9	PPP1R9B	TMEM145	DUSP22
MTHFD2L	SLC35A1	KIAA2018	IRS1	XKR4	SLC46A1	RCAN3
RGS2	MORF4L2	PDE8B	POU2F3	BICD2	C5orf41	ANXA11
PRKAR1A	TRIM7	SLC26A4	SLC26A9	IGSF11	EVI5	PPIL1
EIF2C4	PTP4A1	DGCR2	PGGT1B	LGI1	ELL	TAPT1
SPEN	CD1D	EVI5L	EPB41L3	SRCRB4D	USP5	PGRMC2
DOCK1	SMCR7	ALK	ZNF322A	FAF2	COBL	CELSR2
GRIA1	SNX16	CTTN	KIF5B	ATG7	SEMA5A	AP1S3
SLC10A3	NAT8L	KDM5A	CHCHD8	FOXO4	SLC12A2	MYB
SOX6	EBF3	LMTK3	NCALD	SLCO3A1	PLEKHM1	C5orf63

Continuación potenciales targets de miR-1271-5p en THS 6.2

THS					
AIFM3	SETD7	EIF5	CAMTA1	CLASP2	NAP1L1
SHC1	SNX17	MYO1C	TP53INP2	DYRK2	PDE4D
FABP2	GJA3	CPEB4	SCNN1G	CCND1	SLC31A1
TAOK1	ZDHHC5	KLF13	CSNK1D	MTMR3	NLGN4X
RECK	PFN1	CDKN1C	CDC42BPA	RAP2B	JHDM1D
STX5	RAC1	BNC2	ATP9A	SEMA6A	PAQR5
KCTD2	PPP1R13L	RPH3A	SEZ6L2	TRAM2	FAM126B
FAM134B	TMED10	BASP1	CHMP1B	SP7	RERE
EIF2S1	ONECUT2	RAB3GAP2	HTR2C	PCLO	KIAA1210
BCL11A	C10orf54	LSM14A	MAF	CABP1	TRIM66
DMXL1	NUP50	UBFD1	KDELR1	PRRG1	LDLRAP1
CRKL	ZNRF1	FRMD4A	PDE7B	TNS1	RRAGA
ZCCHC14	SLC39A9	ASTN1	KCTD7	SLC7A14	DERL2
GCC1	S100PBP	TSPAN4	NAGPA	ANTXR2	SPRED1
PCDH8	GRM1	NDUFA4L2	PRC1	RIMS3	
ELMO2	EFNA1	CACNA1C	LMOD1	STAM2	
SLITRK4	XIAP	MKL2	POLR3G	WIPF1	
RDH10	TMEM115	ZNF24	LUZP1	KLHL18	
LNX2	SLC39A10	NAA50	GTPBP1	ADAM19	
IGF1R	NDRG1	ARCN1	DCLRE1B	MCTS1	
KIAA1217	C9orf5	HSBP1	SLC43A2	SLC7A6	
SP3	ADAMTS18	REEP1	EIF2C1	VPS26B	
C7orf41	PTPRE	ZNF831	TPD52	NLGN4Y	
KPNA3	FLOT1	PCMTD1	CACNB2	UBE2K	
KCNN3	LARP1	S1PR2	PRDM16	TEAD1	
FBXO41	LRP6	FAM117B	RAP1GAP2	FUT9	
SLC12A6	BTBD3	UBR1	PITPNM3	PHF15	
PPP1R12A	TBC1D22B	PREPL	ADAT2	HIF1AN	
KIAA0240	APPL1	KIF26A	IGF2BP1	TSPAN14	
ASH1L	L1CAM	PFKFB3	KIAA0317	WASF2	
PPP3CA	CEBPA	LRP10	SH3BP4	UNKL	
MTF1	RNF41	MIER2	C17orf39	NUFIP2	
CACNB1	C16orf70	SH3BGRL3	KCTD16	SSH2	
CREG2	AHCYL1	HCN4	MEF2D	MYADM	
CACNA1G	TRIM37	IPO9	CUL4A	C1orf198	
C11orf34	ARF4	CFL1	SIK2	C6orf106	
KCNJ2	SNAP23	ZC3H12C	ZER1	SHISA9	
FAM13A	REPS2	CTDSP2	SLC39A13	RALGPS2	
ESYT1	ZC3H6	PKN2	ZADH2	CXADR	
VGLL3	ZNF71	ALG9	ARRDC3	PODXL	
SLC44A2	MGST2	RABGAP1	ESRRG	ZNF398	
CCNG2	FAM167A	ISL1	SLC22A23	TMEM127	
CALCR	PPP1R11	ARHGEF12	STK17B	MED12L	
ARID4A	MYO19	RSU1	ZHX3	DNAL1	
TCF7L1	SOS1	SLC6A6	TFDP2	POU2F1	
UBE2D4	TSGA14	ELMO1	ZNF609	ZBTB43	
TP73	GFRA1	SPIRE1	TTPAL	SFXN5	
FAM78A	CNNM2	EGLN1	PAPPA	LDOC1L	
KCNH5	ARL4C	GCNT4	VPS53	C5orf51	
MTCH2	GJA5	PHF13	ZBTB40	KLHDC10	

Potenciales targets de miR-409-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB	
NADK2	DNAJC3
USP53	LRRC17
ZBTB34	MAPK1IP1L
LRP8	CCT5
GNG12	ACAT1
CPSF6	PLEKHH2
ANKRD13C	CNNM3
ADAM10	KIF1B
ARID4B	ABCA9
RIMKLB	AGPAT9
USP7	FSD1L
SUV420H1	MMAA
GPM6A	ZRANB3
CAMTA1	KCNG4
MARCKS	POLR2K
FAM126A	NUP98
PAX9	ALG13
MKRN1	LIMD1
SAMD4B	ASPH
SRSF2	EFNB2
RASL12	C3orf33
NAIP	PPARGC1A
ZIC3	PIGK
ZNF382	GALNT1
STAG2	PUM1
FGFR10P	KRT12
TSHZ3	ZDHHC9
CREM	PHYHIPL
CGGBP1	PAOX
CCDC121	KCTD16
NAA30	CCDC141
NETO2	LOC101928195
LRRC57	DYRK1A
SOCS4	YIPF1
BEST4	KPNA1
TMEM155	CPD
RFX2	ATP8A1
KIF20B	FAM178A
TRPS1	HDAC2
PPARA	KDM4D
NR2E1	SAMD4A
PARP3	MAP3K10
PEG10	PTGES3
ZNF12	DGKG
ELOF1	C6orf132
MACF1	AK9
SERF2	
KDM5A	
DBT	
SGTB	

Potenciales targets de miR-409-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS		
LRP8	LRRTM3	KLB
CAMTA1	SIK3	AP2B1
SAMD4B	PCLO	CASKIN2
CCT5	PTK7	CDV3
PPARA	USP47	STRBP
GNG12	ACVR2A	ZEB2
CPSF6	LTBR	FAM118A
ZBTB34	RAB5C	TANC2
NADKD1	C1orf151	ZDHHC9
PRKAA2	HMBS	LRP3
USP7	FAM129A	ZNF608
ZNF652	ZBTB46	SOX9
BIVM	APPBP2	NAPB
MKL2	FGF9	FIGNL2
ANKRD13C	RSU1	TMEM201
PGAP1	RGS5	DLST
SLC33A1	ZNF512B	RGS6
ARID4B	CCND3	RFX7
KPNA1	PDAP1	NAV1
RASL12	GLUD1	SNX27
QSER1	DPYSL2	MON2
UBE2L3	AKAP1	LRTM2
CCDC6	SGMS2	LUZP1
STAG2	FAM55C	ZNF148
ACVR2B	ZMIZ1	TLK1
MKRN1	TRPS1	DCAF5
KDM5A	CCDC85C	IGF1R
DNAJC6	TRIM9	ANK3
APLP2	LMAN1	USP46
ADAMTS6	TTC28	ANKRD52
KPNA3	ZNF384	SPRY4
DPY19L3	EIF2C1	SLC23A2
OLFM3	DDX18	ARHGAP26
C6orf132	BAZ2B	ARFIP2
KIF1B	LOC100507421	DYRK1A
LSM14B	CELSR3	MAP3K2
USP9X	ITGB4	KCMF1
KLF12	HIC1	HAPLN4
C5orf64	PDE4D	RBMS1
TSHZ3	DNM3	NUFIP2
PEG10	CYGB	MTDH
PPP2R3A	TSC22D2	APOF
ELL2	AIF1L	
FGF5	SAMD4A	
KLC2	CREBZF	
ZNF526	ITPRIPL2	
CTBP1	ADCY6	
KCNA1	ICA1L	
TLX1	ABAT	
NBEA	UCK2	

Potenciales targets de miR-18a-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB				
NEDD9	CCR2	PTPRT	ALCAM	SYNGR3
BBX	PHF2	PTGFRN	LSM14B	FAM120C
ZBTB47	NEDD4	PNLIPRP3	FAM3C	GNL1
PHF19	UBTD2	IFNA1	SNURF	MTF1
RORA	CA13	ESCO2	TRAPPC8	ARC
INADL	KDM2A	IL17B	ESR1	GPRIN2
MAP7D1	DIRAS2	TMEM248	ARFGEF2	TRIM8
ERI1	NR3C1	KCMF1	FBP1	SDC4
HIF1A	RABGAP1	HEG1	GTF2A1	DOCK4
CDK19	TEX2	CRIM1	KLHL42	CAMSAP2
DICER1	NFAT5	PRKACB	IFNA2	ATL2
PHC3	DIP2C	FGF1	NXT2	KAAG1
CTGF	TMEM2	KCNJ2	CAD	INPP5F
GIGYF1	MAPK4	TBPL1	IPMK	ATXN1
GLRB	EHMT1	KIAA0907	RUNX1	TTC8
NCOA1	RAB5A	KDM7A	FKTN	HDAC9
TMEM170B	PDZD2	SORBS2	SEC22C	GAB1
CREBL2	PDE5A	UBQLNL	C11orf87	TENM3
TRIOBP	ZFP36L1	ALDH5A1	VPS13A	BRWD3
PDE4D	KDM5B	XYLT2	F3	GNA11
KLHL20	PSD3	NR1I2	ARF6	PTP4A3
ZNF367	ATM	NKIRAS1	CCDC88A	TMEM64
ANKRD13C	RBBP8	DNAJC16	UBE2Z	LOC100996709
KPNA6	PRSS12	SLC41A1	DPY19L3	THRB
FRYL	TNFAIP3	RNLS	LIF	DUSP22
RIC3	FBXO28	BTN1A1	CEP72	LIN54
SAR1A	DCAF5	TWF1	SIM2	ST7
EPB41L1	HPSE	PARD6B	FAM166B	SLC30A7
DAAM2	ZCCHC24	RAD51B	THBS1	LOC100294341
MAP3K1	ASTN1	KIAA1430	TRAF5	LSMEM1
ADD3	MEF2C	TMX4	CYP39A1	TSHZ3
SOCS5	RPS6KA5	CHRM2	TRIB2	IFNAR2
KCNA1	AEBP2	DSC1	OLFML2B	NAA50
HMBOX1	HSF5	SYT15	VMA21	ANKRD50
SUCO	GNPDA2	C5orf30	TAF5L	COL9A2
FAM196A	CTDSPL	GMPR	ARL15	RNASE9
RAB5C	AGFG1	HSF2	ETV6	TOR1B
PRDM6	ZCCHC3	ITGA2	RAB9A	REXO2
PIAS3	RIMS2	MRPL35	MESP1	CXorf40A
EPHA5	SMAP2	SLC22A8	SYNM	XYLT1
ZBTB4	MAPK8	SMG1	GPR158	FCGR2B
TAOK1	RNF157	C12orf76	IGF2BP2	ATP2C2
STK4	KCNS2	ZC3H12C	ZSCAN30	ATP8A1
IQSEC3	FBXL3	VAT1L	ELOVL1	PRICKLE2
SH3BP4	LACTB2	VPS13D	FAM195A	FNDC3B
GCLC	CYP4F11	KLF6	BHLHE22	ZDHHC15
FCHSD2	HMGCS1	CA12	LMO4	ZNF365
IRF2	WAC	RNF145	BRWD1	TGFBR3
FRS2	CACNB3	ERLIN1	TOMM70A	ARHGAP5
BTG3	HLF	DENND3	KCNH7	TBC1D9B

Potenciales targets de miR-18a-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS		
INADL	NOTCH2	LIF
TMEM170B	THBS1	FGFR3
KCNA1	OSBP2	OCRL
DICER1	KDM5B	MYO1C
ERI1	PKNOX1	CORO2A
FGF1	MDGA1	NCOA2
VMA21	LMO4	KIAA0907
TMEM2	RAB5C	LIN28A
EPB41L1	USP24	CADM2
SAR1A	FCHSD2	EHMT1
SH3BP4	TRIOBP	ANK3
HMBOX1	PHF2	OSTM1
GIGYF1	SIX3	CANX
KCNH7	ATP13A1	NFAT5
BRWD1	ZCCHC4	NR3C1
THBD	RAB22A	AGPAT3
MAPK4	SMARCC2	SLC1A2
NCOA1	C7orf42	PRTG
FAM136A	FAM192A	HIPK2
PTP4A3	NR1H2	LPP
SLC50A1	OTX1	FKBP5
INPPL1	CDK2	ZNF618
GCLC	RGS4	ZBTB44
IRF2	MARCH5	IGSF3
BEND3	CLIP3	SMG1
DAAM2	CAMKK2	GIGYF2
SMAP2	NDFIP1	MTF1
PTGFRN	PDE1B	ANKRD52
DIRAS2	UNG	NAV1
ELOVL1	C1orf21	ZNF275
ETV6	IGF2BP2	DSC3
NEDD4	FOSL2	NKTR
ADD3	CSDA	
C22orf31	NOS1	
CNTNAP1	ADAMTS9	
XYL1	HTR1D	
CTGF	KLHL3	
FAM166B	ZNF280C	
ANKRD13C	LAT	
RNF4	CACNB3	
NEO1	KCTD16	
BRWD3	DCTN5	
YWHAB	ZBTB47	
UBTD2	UBE2Z	
SORBS2	SH3KBP1	
ATXN1L	RIMKLA	
UHMK1	TRIM2	
OLFML2B	HMG20B	
CLCC1	ROBO2	
HEG1	INO80D	

Potenciales targets de miR-132-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB
IRX2
SENP3
PCDH9
BTN3A2
TRPS1
FSTL3
DUSP7
WIZ
DGKI
CRTC1
TDRD10
RPTOR
SH3BGRL2
CYP26B1
HOXB4
SCD
TCTEX1D1
PLEKHG5
LOC101927085
YWHAB
GOLGA7
SRC
DPH1
SPEG
ADAR
AKNA
TNFSF14
SLC9A2
LOC100506571
ADRBK2
LDHD
C5orf66
MALT1
CADPS
DYNC1LI2
ZNF831
PRSS54
PGBD5
RAB36
C17orf72

No hay targets para miR-132-5p en la versión 6.2 de Target Human Scan

Potenciales targets de miR-194-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB					
EPC2	C18orf25	MAP2	NUDC	PFKFB2	FBXW7
PITPNM2	ZFHX4	PPAT	NXPH1	C14orf159	MAP1B
CHD6	ZNF85	SMKR1	SLC2A10	TEAD1	PHLDA1
LURAP1L	IGSF11	RNF125	KIAA1210	PROSER1	MEP1A
RSBN1L	ARL14EP	TSPAN7	SLC28A1	TRPS1	PAIP2
LUC7L3	DISC1	SDC4	C1GALT1	MTSS1	MYSM1
SETD8	CIPC	GLCC11	TBC1D30	CPED1	RUFY2
PTPN20A	EPHA5	TUSC3	PARP11	ATP6V1E1	ANGPTL1
LIN52	TRIM23	NCL	TMED5	PDHB	CNPY1
HOOK3	FGA	ZNF25	EMCN	DCUN1D4	JADE1
FAM63B	FMR1	SLC1A3	SPCS2	USP6NL	NLGN4Y
TMEM260	UBR3	MTMR6	TJAP1	LIMCH1	ZBTB39
SUMO2	FAM208B	CDK13	IKZF5	PTGIS	ATP8B4
CNR1	LCOR	FZD6	ABCB10	PLEKHA5	SLTM
NAA50	APPL1	OSBPL11	IVNS1ABP	RSF1	OSBPL3
OSBPL8	CTTNBP2NL	SRGN	FLI1	GJB2	RRAS2
PIGH	RAB11FIP2	CD2AP	PIP4K2A	SEC31B	VAPA
CTDSPL2	MID1IP1	DMD	C10orf12	ZFHX3	PARVA
LRRFIP1	CSNK1D	HHLA2	CSE1L	SLC40A1	ZNF250
ARID2	CNTNAP2	EXOC5	LANCL1	OR51E2	DUSP9
SLC12A6	HNF1B	RSBN1	BCKDHA	CCNJ	ZNF548
SEPHS1	GRHL2	CERKL	ATL3	UBLCP1	RAB11FIP3
HBEGF	GDAP2	TRIM9	ASAP1	SNX1	TTLL11
TRIP12	CUL4B	TMEM161B	CTAGE5	SMARCA5	METAP2
KAT6B	KLF12	LYN	BNC1	FOXE1	TCEAL4
ZFYVE9	KMT2C	CUL4A	LIN7C	C5orf15	B4GALT4
SETD5	LAMP2	ATP2C1	CLIP4	C12orf5	CHAC1
CHD1	BRMS1L	STX16	NIPSNAP3B	RNMT	SLC7A6
RICTOR	CAPZA1	SOCS5	YTHDF1	ATE1	RBM39
PTPN12	NADK2	PBRM1	WDR20	SLC39A6	MEIS2
KDM5A	EHBP1	ACHE	POGK	RNASE6	CDK19
KLHL11	SLC7A5	INPP4A	MRS2	NAB1	GRHL3
WAPAL	GALNT7	CHORDC1	CLEC2A	LPXN	ZNF516
NMB	PJA2	PPP3CA	GOLT1B	SERINC4	MPZL2
CASK	C7orf65	CDK14	SOCS2	WDR72	RBBP4
ERGIC2	GORAB	WDR37	DPH3	HS3ST2	TDRD9
ADNP	OSTM1	SLC36A4	ZNF615	TMEM200A	CMTM6
TRAF6	TMEM106B	MLKL	DARS	ACP5	PER1
RAB38	STAU2	LGI1	C7orf60	UBE2V1	PET112
ARHGAP21	BNIP2	SPTY2D1	JKAMP	SLC30A8	TBRG1
GOT2	PPFIBP1	SLC15A4	DOCK8	FAM76A	PCGF6
TPH1	GTF2E2	SALL1	KHDRBS2	DYRK1A	
TTC7B	GYG1	ACBD3	CAPS2	CD44	
LINGO2	TMEM43	PTPN20B	SAMD8	RAB31	
TMEM26	SNAP91	LRCH2	HIST1H2BD	KRT25	
SLC25A27	ELMSAN1	EDN1	MTHFD2L	RNGTT	
HECTD2	SLK	TMEM108	KCTD20	ERG	
OTULIN	WDR33	CXCL3	CHRNA5	TLN2	
WDR49	CHD4	ITPKB	WWP1	DCBLD2	
U2SURP	SLCO1B1	RAB6B	PLD6	TARDBP	

No hay targets para miR-194-5p en la versión 6.2 de Target Human Scan

Potenciales targets de miR-10b-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB				
KCNA6	FNBP1L	BTBD11	SSPN	VTA1
BDNF	ARHGAP12	HNRNP1K	COPS7B	RTN4R
TFAP2C	HERC6	ITSN1	WHSC1	C6orf132
CSMD1	SLC38A2	FLRT2	MAP4K4	SLC25A53
RORA	ZNF660	BCL6	TMEM170B	ADAMTS2
ZNF367	SMTNL2	CSDE1	ELAVL2	KL
DAZAP1	BLOC1S5	LHFPL4	SLC35E1	PLA2G15
TRIM2	NONO	PRKAA2	SERTM1	USP25
KLHL29	IGDCC4	CNOT6	NR4A3	FUT1
SON	GTF2H1	GOLGA3	FRS2	C14orf28
NR6A1	SERF2	LRRC8C	MTF2	FBF1
PATL1	M6PR	KIAA1462	ZNF510	NFAT5
GALNT1	MDGA2	SGCD	ZMYND11	BORA
RBMS3	PIK3CA	CNN1	ZNF780B	CELF1
RPRD1A	KLHDC10	ANKRD13A	GPATCH2L	DOK5
ARHGEF12	SVOP	PURG	CAPRIN1	EPHA4
LCA5	BACH2	GABRB2	EFHC1	SKA2
BBX	TMEM183A	XPNPEP3	SERP1	ZNF704
KLF11	BCR	RNF20	UTP14C	UNC5D
SLC24A4	RNF165	KCTD17	SERAC1	CREBL2
CLCC1	KIAA1161	ZNF43	INF2	CYTH1
EBF2	ARL13A	LATS1	SLC35F5	SDC1
CADM2	BAP1	IRAK4	GABRG1	ERI2
RB1CC1	ALX3	LANCL1	HOXA3	CCNB3
SH3D19	CSRNP3	PRLR	HEG1	PAPOLG
DENND6A	SMURF1	KIAA0247	ZNF107	MSR1
ARSK	ZBTB6	MYCBP	WDR26	JARID2
XRN1	PAFAH1B1	NR2C2	ZC2HC1C	ARRDC3
CADM1	BAZ1B	VDR	ZNF154	CAMK2G
TIAM1	ZNF445	KCNJ6	LANCL3	GRM3
PLA1A	POPDC2	LTBP1	MMAA	MAPKBP1
CCDC88A	RNF112	CTDSPL	C3orf18	DCAF4L1
NCOR2	C9orf91	IFFO2	FZD4	
CEP350	LPHN1	CNIH4	FUS	
SIX4	LOC100129361	NCOA6	HOXA1	
EIF5A2	CECR6	FIGN	CHL1	
USP12	ATF2	SIM2	FBXO30	
SPAG9	MLLT10	ZDHHC21	CABP4	
ELOVL2	GGCX	TBX5	APAF1	
KIAA1549	DOCK11	H3F3B	PDZD8	
FAM196A	ANKFY1	ZNF492	C4orf19	
LIX1L	ZNF608	FAM91A1	RQCD1	
ACKR2	MAP3K7	LRP12	ARNT	
MAPRE1	PAPD5	FXR1	DPH3	
UBE2I	TFRC	TMEM132B	POLH	
EPHA5	SHANK3	CREB1	SMIM7	
HAS3	PDE4A	MED1	SAP30BP	
MYBL1	PTP4A2	USP46	CDK6	
TRMT10A	NDUFA4	TNFSF8	PRRT3	
CRLF3	IFNAR2	RAP2A	RNF2	

Potenciales targets de miR-10b-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS
FIGN
NCOR2
HCN1
FLRT2
FBXO28
TMEM183B
ONECUT2
MAP3K7
ZNF367
TMEM183A
GOLGA3
NR4A3
SFMBT2
FXR2
DAZAP1
CYTH1
DHDDS
FAM196A
NR2C2
RNF165
LRRFIP1
ELAVL2
DOCK11
MTMR3
ALX3
H3F3B
AP4E1
PPARA
KIAA1549
TBC1D22B
AAK1
MTF1
C7orf51
HOXA1
SMCR7L
NKTR
ARIH2
INHBB
TRIM66
LPHN1
GATAD2A
GRIN3A
EPHA10
ST6GALNAC6
INO80D
CECR6
BCL2L2
HDAC4
IFFO2
NFIX
ZBTB43

Potenciales targets de miR-200a-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB				
ZC3H12C	AMMECR1	CHL1	ZSCAN32	SP100
BTBD1	KIAA1217	AHR	ZNF557	LRRC8B
SHPRH	MAPK8	ENKUR	PITPNM3	CABP5
FZD1	TIAM2	PPRC1	ZNF420	CD2BP2
UBR3	ZNF396	HMGB1	CWH43	STRBP
PPAP2B	FOXC1	UBFD1	PAFAH1B1	FAM199X
SP3	IRF2BP2	INSIG2	MBNL1	TLL2
ATAD2	HAUS6	C8orf34	ARC	GLTSCR1
ZNF367	NAMPT	NDFIP1	RFTN2	DICER1
SGK1	FAM208B	WNK1	SRI	CST9
USP53	KCNE3	ATG10	INADL	GLUL
ARL13B	FGF13	THAP5	BTBD7	RIMKLB
CRLF3	ETFDH	RORA	NRBF2	REEP3
NR4A1	BEST3	SRSF7	ARHGFB38	EIF1AX
KLF6	KCNS3	STX2	MCC	NPHP3
HNRNPR	LOC102724219	THBS1	SIRT5	PRPS2
FOXD1	LOC389831	FAM73A	UBQLN2	RAB6C
RAB1A	LOC102724951	DCAF10	DLK2	
LMTK2	LOC102723360	UBE3A	CDC73	
EPHA5	LOC102724441	PRDM6	ETNK1	
HMP19	LOC102724843	MOBP	SERINC3	
EIF4ENIF1	RAB11B	TTC22	COPS8	
PHTF2	PAX6	RAB22A	CKAP2	
NOVA1	SNX4	ZNF254	OTUD6B	
RUFY2	HTR2C	KLF9	EFR3A	
LRRC57	ZNF770	LOC101929792	CYP4F3	
RANBP3	PKP2	EID1	KLHL24	
GDAP1	SEMA3E	SLC6A6	SCOC	
ATP6V0A2	ZNF675	TBC1D32	TXLNB	
FAM160A1	ADI1	MCUR1	ZBTB41	
UBQLN1	ZNF91	SLCO1A2	RIF1	
EPM2AIP1	ZNF440	HMGCS1	DMP1	
NFIA	TXNRD3	SRSF6	LCOR	
SLC39A14	ORC2	GXYLT1	FLVCR2	
IL1RAP	ZNF763	HOXA10	STK17B	
KMT2E	LMO7DN	STK4	NCF2	
IFT52	PPM1E	PTPN4	ADNP2	
MFAP3L	SMC5	TRAF3IP2	LIMCH1	
MIER3	ALX4	CD36	CNR1	
HCFC2	VSIG10	KIAA0355	ZNF85	
HAPLN1	FLRT3	ATL3	ITCH	
PAPOLG	DNAJC27	ARNTL2	SULT1C2	
USP22	ARL5B	TRIM24	FAM102B	
HPDL	CTSV	SNTB2	RGS7BP	
AFF3	SMAD5	MIA2	TRIM2	
PIGA	WHSC1	SDR39U1	ATP8B4	
TUBGCP5	FAM208A	CRIM1	ZNF493	
SEMA5A	ST6GALNAC3	ENOPH1	ZAK	
CHD7	GOLGA7B	ZBTB6	MSTN	
RELL1	PITPNB	RBPJ	GPHA2	

Potenciales targets de miR-200a-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS	
TMEM170B	NCAN
FBXW2	SRCAP
FAM160B1	SERF2
MN1	KIF3A
NDFIP2	DIXDC1
B3GNT5	SNAP91
ZNHIT3	RAPGEF2
E2F3	GIGYF1
DEK	MYO5A
RFTN1	PRDM10
GJC1	NAP1L1
LYPLA1	ZBTB46
HMG20A	MTMR12
SPAG9	PCNX
YY1	UBASH3B
DLC1	PDXP
MYRIP	PAPOLG
IPO5	CDV3
EXOC5	BEND4
ZCCHC24	TRAPPC8
STX16	JMJD1C
AKAP11	RYBP
PCDH9	LYPD6
MAP7D1	PLAGL2
CYP26B1	SLC22A15
MIB1	CAMSAP1L1
MAP7D3	ATP6V1C2
RAB5A	SLC1A1
NME1	DCC
IRS2	KCTD12
TMEM110	CELF6
GAB1	IDE
TCERG1	OGT
GATA6	FZD4
FOXJ3	FBRSL1
SLC17A6	
PAX3	
IFNAR1	
GPR12	
UBA6	
VCAN	
SOX5	
USP14	
MMP24	
CLOCK	
LUC7L3	
ERG	
RFX1	
ARHGAP23	
C11orf95	

Potenciales targets de miR-504-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB				
NT5E	PRKAR2A	CTNNBIP1	SLC35A5	AADAACL3
KCNK2	EVC	SNX8	DNAJC27	P2RX1
PAPD5	DIAPH1	GPR107	RASL10B	HPCAL4
UBE2G1	LHX6	FREM2	BACH2	TANGO2
GPC4	SERINC2	ZDHHC9	KCNK5	SLC29A4
SMPD3	RAB25	FZD7	TNS1	GPR65
CXXC4	POFUT2	ATP8B3	MEGF8	NLE1
C3orf18	LANCL1	LINGO2	SDHC	ZHX3
ELOVL6	COPS4	WDR5	HTR7	LOC100506571
RASSF1	CGNL1	ZFP14	MAPRE2	FAM172A
MTF1	ZFYVE28	ZMAT3	BAP1	SCN4B
ARNT2	STARD3	SPCS3	ARIH2	GRM3
PCDH17	PPIP5K1	PRKCA	TMEM38A	MAP1B
MMD	GSG1L	CHMP5	ACTR8	SCARB1
PTPN1	GATA3	HTATIP2	DMRT2	CNOT4
ZMYND11	AKT3	HENMT1	LAMC3	PYCRL
PDCL	KALRN	CNOT2	TAB1	GPR108
DUSP3	TMEM123	ST6GALNAC6	FEZ1	PLXNA4
CECR6	CELF1	NCSTN	SH2D3C	USP2
SPRY4	MUC22	BORA	SFTPC	SEZ6L
TP53INP1	FJX1	C3orf17	SORT1	SLC1A4
CDK16	RCHY1	UBN2	COA5	SCN5A
TP53RK	PTPN7	ADAMTSL3	CHD5	ORC4
CDC42SE1	PTPRK	LOC102724833	B4GALT1	
PGM2L1	CASC5	PHF23	CCM2L	
PSMD14	PLEKHN1	POLR3E	IGFBPL1	
IL16	STC1	SHANK3	SCAMP4	
ZNF608	PLA2G2F	GNG7	FAM196A	
COPS7B	BMF	MOBP	RAB1B	
MKL1	CDIP1	NR2C2AP	ASXL1	
SLC35E1	AREL1	SPTBN2	GLCC11	
MYT1L	DCX	OLFML2A	TSC1	
MRAS	TTLL12	KCNG4	IKZF5	
SLC2A13	ACKR2	SGCB	PRSS35	
UBTD1	FXR2	LCORL	LOC102723901	
DNAJC5G	CARS2	C4orf19	TPCN1	
MMP24	TRAK1	PRPF40B	NKTR	
HTR5A	MPPED1	IL6ST	PTPN5	
EPB41	USP9X	OMA1	CD86	
SEMA5A	HAPLN4	SPARC	TP53	
CD96	ARNT	ZNRF3	CSDE1	
C17orf103	HAS3	MECOM	KLHL21	
CANX	CTDSPL	LRRC8A	FAM120C	
WDR26	CCNT1	SYNRG	PAGR1	
UBE2I	DGKK	GPR176	TAX1BP1	
ALX3	CD83	AC009227.2	GCSAM	
CEP170	GMIP	GID8	BCR	
CHD6	GPR64	CADM2	SNCA	
CHD3	ENTPD1	PIK3R3	GOLGA3	
CDCP1	IQCE	ANXA8L1	SLC10A7	

Potenciales targets de miR-504-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS	
PITPNA	C1orf130
PAPD5	SNCA
CECR6	WIPF3
STARD3	ZBTB33
ASXL1	ARNT
ZC3H12B	SORT1
PRRC2B	LAMTOR1
CNOT4	FAM172A
RNF114	SP7
C13orf34	TNS3
COPZ1	ZNF608
KCNK5	MOBK2B
FXR2	IKZF4
LCORL	VPS25
DNAJC5G	MTF1
MMP24	FBXL2
ZBTB22	STC1
RAB36	MEGF9
UBOX5	CNTFR
LOC100507050	RRAGC
ZNF783	SLC25A22
ST6GALNAC6	KDM1B
SAMD11	KLF3
KL	BAIAP2
OLFML2A	LIMD2
SMG1	DCX
SDHC	PCDH1
UBTD1	RBFOX2
RNF44	NRAS
B4GALT1	FAT2
SLC2A13	PPP1R11
NRF1	NRP2
PPARGC1B	IP6K1
YES1	PLXNA2
RNF38	MBOAT2
H3F3B	ZBTB47
UBE2G1	PALM
PLEKHA1	PPP5C
UBN2	PLEKHM3
SLC7A1	ATP1B4
CNOT2	LPPR2
CNNM4	RPS6KA6
UBE2I	SYT2
CANX	TBC1D20
IFFO1	MNT
TSC1	IGLON5
CADM2	SGCD
NFYA	FLJ36031
MAP3K13	KIAA2018
C22orf25	RUNX1T1

Potenciales targets de miR-200c-3p en miR Data Base (miRDB)

miRDB							
TRIM33	TBK1	NIN	PHACTR2	PTBP3	TBL1XR1	ZFYVE20	CNOT7
PTPN21	SULF1	ZBTB8A	LRP4	BLCAP	REV1	YWHAB	SIKE1
LHFP	NOVA1	MPRIIP	USP25	ARL15	FAM81A	SNRBP2	FUNDC1
TCEB1	RAB11FIP2	PHF21B	DNAJB5	FAM8A1	PTHLH	CAMSAP2	SEMA6D
ZEB1	RAP2C	FAM122C	HIPK1	ADAMTS3	TLN2	ROBO2	ASAP1
WASF3	OSTM1	ACACA	CPED1	LRAT	FIGN	XKR4	FUBP1
ARHGAP6	WIPF1	RNF2	UBE2R2	EGLN1	KDELC1	ERMP1	MTF2
VASH2	CNEP1R1	YPEL2	RAB21	SGIP1	NUDT19	ANKRD44	ASPH
ZEB2	RQCD1	PRKAR2B	C12orf5	HSPA9	CNTN4	LOX	ZFAND6
HIPK3	KHDRBS1	RASSF8	NALCN	RAPGEF2	PPP1R10	WBP1L	MIB1
RECK	LPIN1	C11orf87	CNN3	NEK9	EFNA1	IPO7	KLF6
NR5A2	ZNF532	ATL2	C21orf91	BHLHE41	LAMC1	FAM160B1	PPP1R9B
SESN1	CFL2	LRP1B	MAP3K1	HNRNPD	PRDM1	CBL	C3orf58
TMOD3	TROVE2	FOXF1	FLI1	TBC1D22B	NEDD1	ULK2	TBX22
ELL2	SEC23A	HDHD2	FHL1	VEGFA	CELF1	UBE2I	AMOTL2
AFF3	EIF5A2	PPP1R18	TBC1D12	S100BPB	SESN3	SGPP1	SEC61A2
ERRF1	MARCKS	MIEF1	ZDHHC21	HS2ST1	CHRM2	DTNA	MAPK11P1L
NFIA	RBFOX1	TOB1	FBXO30	SCN8A	UBE2W	ARMCX5-	C11orf95
MAP4K5	GPM6A	RFTN2	PARD6B	KIAA1456	PPP4R2	ZC3H4	PPM1B
SLIT2	ARIH1	MAP2	YOD1	KCTD15	STYX	GPRASP2	RPRD1A
CCNJ	PDIK1L	NUDT4	HMGB3	OSBPL11	MSL2	TMEM41B	SCAMP1
ATP11C	ARID4B	SASH1	NPM1	KLHL29	OCLN	FSCN1	EVI5
HMBOX1	RNF169	HECTD2	PAG1	CSRNP3	APOO	FXR2	RNF38
CLASP1	EPS8	MBOAT2	POLK	PI4K2B	ADIPOR2	EIF5B	LRRC8A
AP1S2	BAG5	RABIF	PPHLN1	OXR1	RIMS2	PRKG1	OTUD4
ELMOD2	NR3C1	PIKFYVE	CERS6	SPTSSA	GXYLT1	GPR180	FSD1L
CDK17	PLCL1	ZCCHC24	TMCC1	NANOS1	PENK	ZNF217	KIF13A
SLC35B4	FAT3	TMEFF2	CAB39	RNASSEL	RAP1B	TRAM1L1	ENO4
CRKL	AGFG1	CKAP4	CNTN1	PAPOLA	ATF3	ZNF711	PPP2R5E
GPR158	DUSP1	NTRK2	FBXW7	SOWAHC	ADCY2	NCAPG2	HS3ST1
DNAJC3	B3GALTL	TFAP2A	ENTPD5	ZMYM4	ZC3H6	FBXW11	NPNT
PCMTD1	PTPRZ1	KIAA1244	NRBP1	RTF1	NAB1	PDS5B	VAT1L
FEZ2	MCFD2	RIMKLB	PRKACB	CHRDL1	PTPN14	RUFY2	NRIP1
CSMD3	MMGT1	CASP2	CNOT6	MARCH1	PLS3	G6PC	GABRB3
RPS6KB1	PKD1	ASF1A	KCTD8	LPAR1	COPS8	CCNYL1	DZIP1
FBXO33	JUN	WNT16	DPY19L3	ZBTB38	SLC39A14	IPO8	UBE2B
ANK3	COL4A3BP	RPS6KA3	SEC24A	CORO1C	ARL8B	PCNP	HOOK1
GOLGA7	PPAP2B	CXorf23	BAP1	TTC14	KCND2	ROCK2	ZSWIM4
WAPAL	GIT2	IGSF10	DLC1	MBNL3	GABPA	FAM178A	SSR3
KIAA1432	DENND5B	WDFY3	IP6K1	REEP1	USP6NL	TNFRSF11B	RELN
GMFB	MSN	MARCH8	VASH1	CCSER1	B3GNT2	ARHGEF3	ENTPD1
TSC22D2	PICALM	SYDE1	ZFPM2	C2orf49	ANLN	XKR8	ANKRD28
MAPK7	C16orf72	GTF3C4	RASSF6	JAZF1	FMR1	IGF2R	EIF2S1
CDH11	SLC6A1	PHACTR3	GUCY1A3	WHSC1	ZDHHC15	EXD2	DNMT3A
MMD	SYNJ1	EDEM3	PPFIA1	CEP350	TAOK3	CDR2	TAB3
ITGA1	TBX18	GOLGA1	FNDC3B	PRDM16	NTF3	GPATCH8	PAK7
FN1	PPM1F	ELAVL2	FAM126B	SUPT20H	PPM1E	ARHGAP18	SHCBP1
CSNK1G3	PHTF2	YWHAG	MED13	NAP1L5	INPP4A	RAG1	TMEM43
SLITRK1	C2orf72	RTKN2	KDR	GEM	NPTX1	KANK1	ZC3H15
RANBP9	DPY19L1	MGAT2	SMARCAD1	CLIC4	SLC35E2B	ZNF292	LEPR
ALDH1A3	SIAH1	ACTC1	CHRNA6				

Continuación de potenciales targets de miR-200c-3p en miRDB

miRDB						
SPAG9	PTAR1	TRAPPC8	CHORDC1	INSM2	TARDBP	ZNF585A
CEP19	IMMP2L	ARHGAP28	RBFOX3	AMMECR1L	ORMDL3	SSFA2
LATS2	HPS5	WWC3	PIN1	MAGEC2	ZNF302	ARHGDISA
SIRPA	SUZ12	XG	SBF1	APPL1	CCDC82	EXO2
MTUS1	TPD52L1	SUV39H2	DCBLD2	ZIC3	PCDH10	PMAIP1
CALU	USP46	CYTH3	SHROOM1	CHD1	RSRC2	TMEM17
RBL1	KIAA1468	CHN2	ZNF655	LOC100507507	PPARA	CLVS2
KLHDC1	CDK1	LANCL1	RBFOX2	MTMR6	CDYL	CDR2L
KLF10	NOG	TFPI	ZFX	ZNF181	MRPS35	PDPK1
GATA4	RIPK2	SPIN4	SLC6A15	ATAD2B	FNBP4	IER5
ITPR2	NPAP1	MEGF10	ATXN1	ZNF518A	SYNC	AKAP5
PHEX	GALNT2	KIAA1462	ARHGAP19	TIMM21	GFOD1	MYSM1
TMEM164	CNOT6L	KIAA1841	ZNF605	TP73	RHOA	FBXO22
RGL1	SLC39A8	NPC1	DCUN1D1	TCP11L1	TRIL	RBM12B
MXD3	LYRM2	TES	FAM19A2	GLRX	GNS	BAGE
FLVCR1	NFYA	MAPK9	SGCE	C10orf118	KIF11	YTHDF3
KYNU	CLASP2	NBR1	TWISTNB	BCAP29	DNAJB6	STAM2
USP27X	RHOT1	GABBR2	HCCS	PDCD10	SDK2	PHLDB1
UBQLN1	THSD7A	NYAP1	PROK2	CEP41	PAN3	CCNE2
ELK4	TRIM44	FRMD4A	KLF4	CTDSPL2	C4orf46	HNF1B
PSAT1	ERCC4	CRH	ADD3	TMEM170A	SIN3A	FSIP1
MATR3	ZDHC17	GAN	TBP	SRSF1	R3HDM2	HLF
MPDZ	LIX1L	MMD2	SRI	ZNF148	COPS2	DCUN1D4
PRKAR1A	PPP1R8	USP31	FLT1	TBC1D15	GOSR2	ST3GAL2
TOR1AIP2	TUBB2A	KMT2C	DENND1B	ARL5A	MBLAC2	GPATCH2L
PTPN13	YPEL1	TRIM23	TEX15	ZNF557	PPP2R1B	RBM20
DOCK4	RANBP10	ZBTB10	ARHGAP20	PKIA	FAM227A	BAZ2B
WDR82	RNF180	PAK6	OPRM1	FAM118B	CLOCK	THAP5
SERINC1	EIF4E	SNAP25	TSSK1B	KIAA0355	CACNA1C	IMPA1
KCNQ3	LOC285556	KIAA0101	DYNC111	PRKAA2	ICK	SMURF1
DGKA	KIAA0040	CEP68	PHF21A	PAIP2	ESM1	SLC15A5
TSC22D1	EIF2B5	PRKCB	DYRK2	NDN	PSIP1	MGAT4A
SLC15A2	MTFR1	CARF	MEX3D	KIAA0907	TRIM62	ATP2A2
SLC4A7	KIF14	WIF1	EPHA5	C9orf84	MAPRE1	GJC1
DENND5A	JKAMP	SLC1A2	SMIM5	PSD3	SCOC	ABL2
UBXN8	NCOA2	MKL2	BNC2	ABAT	CCNT2	DNAJC10
RALB	CLIP2	FSTL1	MTAP	SEMA3F	B3GNT1	LARP1B
NUP153	PITPNM3	ZMAT3	HNRNPU	KLHL14	GREM1	SMARCD1
THAP2	DDIT4L	F2RL2	TIAL1	SLC38A2	AMFR	LGSN
LPPR4	ARPP21	ETS1	PAPD5	ZNF304	SWAP70	SYT1
TAOK1	ETV5	LBR	CAST	BTF3L4	G2E3	ATRX
MAP4K3	FLII	UBAC2	SMG8	TM7SF3	PI4KB	UBA6
KDM7A	ZNF326	RND3	CTNND2	FRMD4B	TFEC	DHX33
RDH10	CHD2	LCA5	YAP1	RNF168	MIER3	GABPB1
RUSC2	ZNF423	FIGNL2	ERICH4	DIXDC1	NOTCH1	ASH1L
ATP6V0A2	TMEM56	MRV11	B4GALT6	NUFIP2	AP4S1	DENND4C
PHF6	THAP1	CALCR	CCDC177	GOT1	DPH6	PLEKHM3
DNA2	DDX55	SBSPON	TMX1	CRHBP	WDR91	SCD
PRRG4	MDM4	ARMC2	TMA16	PARD3B	SCN2A	HS3ST3A1
TRHDE	HTR2A	CUTC	KLHL31	STK4	UTY	CITED2

Potenciales targets de miR-200c-3p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS
ZEB2
WDR91
MAP2
APOO
KDR
KIAA1432
OSTM1
TLN2
SULF1
PHTF2
BAP1
PAIP2
KLF4
C10orf52
FBXL17
PI4KB
ACACA
BRWD3
DGKA
TRIM62
PPP1R10
LPIN1
GATA2
RNF5
ERG
PTP4A1
SURF4
GDI2
MAFG
SERF2
SAMD8

Potenciales targets de miR-545-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB						
EPHA5	AMMECR1	CDS1	NAA15	YTHDF3	SPP1	VSIG1
CSDE1	KDM6A	MOB3B	E2F5	DGKG	POSTN	COFG2
PHF3	ATP10B	ADO	PRICKLE2	RAPGEF6	FCHO2	RRM2B
SFPQ	UBE2D1	ARID4B	YLPM1	SCARB2	IMMT	KIAA0226
APBB2	PRSS35	SMARCE1	USP34	ALDH5A1	CACNB4	C14orf39
USP24	ANKRA2	FGL2	LGALS1	ITM2C	IKZF2	ORC3
PHAX	ATG12	NELL2	MARVELD2	TSPAN9	YBX3	ARL2BP
DOCK4	AGL	TMEM164	FRK	WHSC1	SEPHS2	THRB
MMD	KATNAL1	RAP1A	UGT2A3	GPCPD1	PDS5B	ADORA2B
GNPNAT1	NKRF	CNOT8	PCNX	LAMP2	MAVS	NDUFS1
KIAA1804	STRADB	SLC35D3	RAP2A	PDGFRA	STC2	PPP1R21
MBNL1	CAMSAP2	PIP4K2A	CPNE8	WDR26	SGPP1	ARID1B
LATS2	MAP3K7	PAXBP1	STAM2	DNAJC7	PLXNA1	CTCF1
SETD2	COMMD3-BMI1	DACT1	DENND6A	MAPRE1	PHIP	SPATA5
MAPK6	PHF6	NOVA1	SC5D	MAB21L2	GET4	YOD1
FMN2	FAM188A	RELL1	PROSER2	C1orf141	NAP1L5	NOV
PHF20L1	WDFY1	PLXNA2	PRKCE	CPEB2	TFCP2	NDUFA12
RYBP	AP3B1	NUPR1L	CBLL1	SOS2	C1orf21	GAPT
AHNAK	ROCK1	ACAP2	ARPP21	CHM	FAM221A	GCNT1
EYA4	UFM1	CTTNBP2NL	GPR82	CPEB1	IRS1	LPHN2
TSPAN12	MED13	NUFIP2	C7orf31	IL33	UPRT	DSCAML1
NDUFB6	TRAFD1	AKAP6	KPNA3	PCGF5	RCN2	RTN4
TOB1	DPY19L4	FAM135A	GATA3	ACTN1	KIAA1244	ABCC9
CAPZA1	CDK6	RAB11FIP1	TMEM135	ZNF395	FAF2	FYB
RASGRP1	ATP1B1	XK	CREBZF	GORAB	AREL1	ZNF182
MTPN	MIPOL1	DLL1	ARHGEF12	IGSF1	AKIRIN2	MTDH
FAT2	NPPFR2	DSCAM	TTC33	BDNF	GNAI3	REEP3
CUL4B	LOC158434	CCDC71L	DDX5	NABP1	GNG12	WEE1
ZMYND11	THSD4	OXSR1	ARHGAP12	ANP32A	C15orf56	ABHD13
DPY19L3	TMOD2	CHD6	EPN2	CCDC82	PGAM5	STIM2
BCLAF1	DNAJC6	FOXP2	RALGPS1	PELI2	CAV2	TM7SF3
SPOCK3	RNF111	CIRBP	MTMR12	GAREM	LMBR1	TMEM19
SEMA3D	BIRC6	FRAS1	TBX5	TJAP1	HSPD1	SAP30
LYRM5	SUN1	RNGTT	BCL11B	TENM3	STAG2	ALCAM
PTPN21	ECM2	CECR5	SDCBP	DCAF17	DENND1B	PLEKHO2
SLAIN2	IPO5	DR1	C10orf118	KLHL23	ZNF518A	BAG4
ABAT	AKIRIN1	GMFB	HOOK3	HLCS	DCP2	LRFN5
MPP7	IGF2R	TMEM168	ARF4	MARCKSL1	ZBTB39	PRKAA2
TM9SF3	LPPR5	C18orf25	GFRA1	STX16	BMI1	ADAM7
MAMDC2	PAPOLG	NBEAL1	CHST1	C8orf4	TPBG	FKTN
NIN	KIF2A	IL17RD	KDM5A	PUM1	CDC73	MRPL19
BNIP3L	ANKS1A	SETD5	CCZ1	FEM1C	ATG2B	SPTY2D1
DUSP8	STX17	HTR2C	SLC12A6	CNKSR2	MARCH7	FNIP2
RNF149	MPZL2	CEP350	CPSF6	SLC12A5	RAB14	SEC63
NETO1	PTAR1	RARB	PBLD	PRR11	KIAA1644	JAKMIP3
C3orf58	TMEM33	MORC3	TSGA10	PBX3	SHC4	RAB3GAP2
EPM2AIP1	ZFY	PHTF1	LRRC8B	HSPA9	SLC7A2	ENPP3
OLFM3	DMD	PDK4	PBRM1	N4BP2	EBF2	REV1
PEX13	HIVEP1	CCND2	SLC10A3	SGCB	MRPS30	FYCO1
CEP68	ARMC8	ZNF706	TANK	EPB41L4B	PRRG1	NFIA

Continuación de potenciales targets de miR-545-5p en miRDB

miRDB					
RAB8B	PKD1L1	ARMC2	NBPF26	PGR	SEC62
SDE2	RNF139	THUMPD1	TRAPPC8	ASPH	PPAT
sept-07	RELA	LRP12	ZBTB8A	EXOC5	SNAP91
RRP1B	OR11A1	VPS36	CNPY2	ATF7IP	BAZ1A
SIX4	SLC6A15	SYT10	ATP11B	FRMD4A	LRRTM2
FAM196A	HDGFRP3	RORA	ZC3H6	FAM162B	UBE3C
CACNA1I	CISD2	MED12L	HRASLS2	PABPC1	GOSR1
ZNF626	TRIM44	RGS13	DHX57	TRAPPC10	MAPK8
WFDC11	TSC22D1	PHC3	FOXD1	FXN	TMEM263
LOC285556	MYLIP	MUC15	SPRED1	FAM198B	UBE2B
ZNF793	SLC11A2	RPE	ENTPD1	TMX1	PCDHB11
PANK1	WISP1	EIF2S1	COL4A4	BCL2	TRMT10A
GPAM	ENOPH1	CKAP4	VAMP2	ATG10	NBPF11
TTC26	C5orf28	AVPR1A	NBPF19	KRAS	MLLT3
MAGOHB	RHOQ	YWHAZ	PRR5	EPB41L5	CCDC174
GBP7	SERINC5	FSTL5	SLAIN1	NOTCH2	ASAP1
CACNA1D	CEP70	OSBPL10	TANC2	ZC3HAV1	ARL8B
RAPH1	LMTK2	ATL2	HIST1H2BK	NBPF15	MEF2C
PIGN	KLHL28	ETV1	TRPC6	NOD2	KIAA0040
PLAGL2	CLVS2	SLC28A1	CA10	PDZD2	ARID5B
DDX3X	RCOR3	ZNF337	SMIM8	VASH1	NUMB
CFL2	FBXL14	TMTC4	QTRTD1	LRCH1	RCN1
LGALS8	MID1	TRDN	HSPE1-MOB4	FAM69A	FANCA
NMT2	ADAM23	AKAP11	TMEM255A	NBPF8	THAP1
JAKMIP2	BLZF1	RBM7	PTPN13	NBPF20	ASAP2
MAPK1	SERINC1	ZNF493	ACVR1C	ANTXR1	ATAD2B
ATF7IP2	EP300	SLC27A6	GUCY1A2	HNRNPUL1	SLC13A3
GPATCH2L	AIG1	AP3D1	DIXDC1	ZCCHC2	CAMKK2
PCSK6	NEFL	ZNF891	CPB2	SSH2	CD46
PLEKHA1	KCNH2	MARCH10	ITGA6	RNFT1	CELF2
GCLC	MAP3K1	CYP51A1	SLC40A1	GCLM	PRH2
CPEB3	KRTAP13-2	WBP1L	SRPK2	APOPT1	TBX18
EED	BMPER	EBF3	IFFO2	TMEM181	
ERO1LB	ARHGAP42	PCDHB13	CNOT6L	ANGEL2	
C4orf3	BACH1	FAM102B	SERBP1	MYOT	
RNF2	ANK2	CNOT4	MED13L	PLAC8L1	
ERC1	ITGA11	VWC2	GLRA2	TPST2	
PLAC8	GTF2E1	ZNF804A	MEX3B	GATA6	
METTL4	PDE10A	C5orf24	SPINK7	STON1	
SLC16A9	SHPRH	RFWD3	FAM19A4	YIPF6	
MSS51	IL8	LRRC17	ELAVL2	KIAA1430	
ATP2C1	FAXC	ARHGFEF38	HNRNPAB	B3GALNT1	
PPARG	MANEA	DTWD2	GRPEL2	NBPF9	
TMEM258	KLHL15	KCNH7	ETS2	ZNF821	
RNF6	HSPA5	TMCC1	LOC101060212	MEX3D	
LYST	LYPLAL1	ZXDB	ANGPTL1	TET1	
LFNG	STEAP4	NBPF12	MIS12	ELFN2	
BCL2L15	SMIM17	FBXW7	SLC7A11	PDHB	
PRLR	HAVCR2	MAGI2	ZNF516	SLIT2	
USP38	SENP1	NBPF14	MOB4	SLC25A32	

No hay targets para miR-545-5p en la versión 6.2 de Target Human Scan

Potenciales targets de miR-192-5p en miR Data Base (miRDB)

miRDB		
EREG	TMEM167A	ZMAT3
DYRK3	CTNNBIP1	DYRK1A
LPAR4	TMED10	SAMD4A
ZEB2	IFI44L	TCF7
MSN	CD93	BLCAP
ARFGEF1	EXOSC8	NTRK2
CCNT2	CCDC121	KRTAP1-5
PDP1	LPHN3	KIF5B
GPR22	H3F3B	LEFTY2
DICER1	ZDHHC2	MCPH1
ANAPC10	RIC8B	PTPN4
LIMS1	CHD6	USP45
WDR44	SEMA4D	SOD2
RPAP2	CEP70	GRHL1
FRMD4B	PKP4	SMC5
ARL2BP	CUL3	GAD1
STX7	IKZF2	NXP3
CNGB3	GABPB1	GTF2H5
BHLHE22	TMLHE	ELMO1
FGD5	ZC3H6	PCDHGB7
RB1	MFAP3	NOD2
KIAA1033	RPRD1B	LSAMP
RNF217	ARMC3	RABGAP1
TMTC3	CENPBD1	PPP1R3D
CXCL2	KCNQ5	FHDC1
NCOA3	HEATR5A	FAM199X
TMPO	PCDH9	RALB
PRKD3	ZNF536	ARHGAP36
KIAA1467	KCNK10	DNAH5
C4orf46	KCNA4	KIAA1919
KLB	WNK1	PPP1R18
SCN3A	TSTD2	ACPP
SLC30A9	ZBTB34	
CSMD3	MTMR4	
NCAPG2	ALKBH8	
SRSF3	L2HGDH	
PABPC4	ASXL2	
SNRPG	FOXP2	
SGCD	PREPL	
KPNA6	RBMS3	
LRRC10B	INPP4A	
GOLGA6L1	TAOK1	
ANKRD44	DDX50	
NIPBL	SRSF6	
ALCAM	FAM3C	
RAB27B	CWC25	
LOC440243	OLIG3	
ITGAV	FAM229B	
GOLGA6L6	ATP8B4	
SH3RF3	FLI1	

Potenciales targets de miR-192-5p en Target Human Scan 6.2 (THS)

THS		
PABPC4	ZFHX3	ZBTB34
CCNT2	ATF1	RUNX1T1
ARFGEF1	PDP1	KLHL15
EREG	PTPRT	SIK1
LPAR4	HIGD1A	TMTC3
BHLHE22	ENC1	ENY2
PRKAR1A	ZNF652	GLP1R
RPAP2	KPNA4	CCDC152
IKZF2	RGMB	ARHGAP36
PLXNB2	C15orf24	UBE2QL1
ACPP	CTCF	FNDC3B
TYMS	C9orf100	RUNX1
RAB2A	WNK1	IGDCC4
FRMD4B	IER5	ACVR2A
C6orf225	TRPM7	TIFA
DBT	ANKRD44	FAM167A
MIPOL1	C4orf3	PIK3IP1
PKP4	CXCR5	NCOA3
DNAH5	TCEB3	TSHZ2
MFAP3	C8orf46	EIF5A2
KIAA0754	SH3RF3	ARHGAP19
ZEB2	NIPBL	COL5A1
PRKD3	PPP1R3D	DOK6
C6orf168	GMEB1	IGF1
ZNF536	ACTBL2	ARFIP2
CHD7	CNPY1	LMTK2
SYT6	GRHL1	LYRM7
AP3M2	PARP8	DCC
WDR44	TRERF1	CBL
C20orf108	GDF11	TAOK1
ALCAM	PDSS2	RAP1GAP2
TDG	IGDCC3	RSAD2
CLSTN1	HOOK3	CUX1
NSF	ZPBP2	SRGAP3
LRRFIP1	NKAIN2	NFAT5
FAM123B	SMC5	ABHD2
CREB5	PITPNB	PAIP2B
ACVR2B	FOXP1	SIRT5
H3F3B	XPO4	SLC5A3
OLIG3	FABP3	CPEB4
ANAPC16	GDAP2	SHANK2
BLCAP	C4orf46	YAF2
RPRD1B	NAA50	CDON
DLG5	TCTEX1D1	PGM3
SLC39A6	PHTF2	WWC2
BRD3	KPNA6	UCHL5
KLHDC5	ARL4C	ATF7
SRSF6	ASXL2	
KIDINS220	SHISA9	
WSCD2	PCDH19	

ANEXO 9 – Vías enriquecidas a partir de dianas potenciales de los miR diferenciales de la secuenciación.

Abreviaturas

NGR = Number of annotated genes in the reference list

TNGR = Total number of genes in the reference list

NG = Number of annotated genes in the input list

TNG = Total number of genes in the input list

Hyp* = Corrected hypergeometric pValue

miR-196b-3p

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-196b-3p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
3 genes	135	34208	3	38	0.0100827	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
3 genes	124	34208	3	38	0.0157274	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
2 genes	70	34208	2	38	0.0405798	(KEGG) 04622: RIG-I-like receptor signaling pathway

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-196b-3p

No hay resultados

miR-625-3p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-625-3p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
4 genes	193	34208	4	95	0.00628736	(KEGG) 04144: Endocytosis
3 genes	159	34208	3	95	0.0149727	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
3 genes	259	34208	3	95	0.0356914	(KEGG) 04060: Cytokine-cytokine receptor interaction

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-625-3p

No hay resultados

miR-183-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-183-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
13 genes	209	34208	13	381	9,84E+00	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
13 genes	262	34208	13	381	0.000394892	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
11 genes	149	34208	11	381	6,60E+00	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
10 genes	324	34208	10	381	0.0349035	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
8 genes	128	34208	8	381	0.00261943	(KEGG) 04360: Axon guidance
7 genes	72	34208	7	381	0.00052912	(KEGG) 04971: Gastric acid secretion
7 genes	124	34208	7	381	0.0110035	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
7 genes	175	34208	7	381	0.0368736	(KEGG) 04020: Calcium signaling pathway
6 genes	98	34208	6	381	0.0155137	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
6 genes	110	34208	6	381	0.0197717	(KEGG) 04114: Oocyte meiosis
5 genes	68	34208	5	381	0.016279	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
5 genes	69	34208	5	381	0.01546	(KEGG) 04730: Long-term depression
5 genes	98	34208	5	381	0.0404592	(KEGG) 04916: Melanogenesis
5 genes	98	34208	5	381	0.0404592	(KEGG) 04972: Pancreatic secretion
5 genes	102	34208	5	381	0.0450573	(KEGG) 05142: Chagas disease (American trypanosomiasis)
4 genes	52	34208	4	381	0.0325329	(KEGG) 04150: mTOR signaling pathway
4 genes	54	34208	4	381	0.0342359	(KEGG) 05130: Pathogenic Escherichia coli infection
4 genes	66	34208	4	381	0.0444049	(KEGG) 03018: RNA degradation
4 genes	67	34208	4	381	0.0444766	(KEGG) 04115: p53 signaling pathway
3 genes	33	34208	3	381	0.0431399	(KEGG) 05143: African trypanosomiasis

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-183-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
14 genes	262	34208	14	359	4,36E+00	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
11 genes	149	34208	11	359	8,54E+00	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
11 genes	324	34208	11	359	0.0062718	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
9 genes	128	34208	9	359	0.00022838	(KEGG) 04360: Axon guidance
9 genes	130	34208	9	359	0.00022198	(KEGG) 04530: Tight junction
8 genes	69	34208	8	359	5,02E+00	(KEGG) 04730: Long-term depression
8 genes	72	34208	8	359	3,50E+00	(KEGG) 04971: Gastric acid secretion
8 genes	175	34208	8	359	0.00568232	(KEGG) 04020: Calcium signaling pathway
7 genes	68	34208	7	359	0.00022792	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
7 genes	88	34208	7	359	0.000779706	(KEGG) 04540: Gap junction
7 genes	98	34208	7	359	0.0013811	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
7 genes	124	34208	7	359	0.00446918	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
7 genes	124	34208	7	359	0.00446918	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
7 genes	133	34208	7	359	0.00584331	(KEGG) 05160: Hepatitis C
7 genes	133	34208	7	359	0.00584331	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
7 genes	186	34208	7	359	0.0215638	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway
7 genes	209	34208	7	359	0.0327809	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
6 genes	87	34208	6	359	0.00487625	(KEGG) 04012: ErbB signaling pathway
6 genes	98	34208	6	359	0.00576971	(KEGG) 04916: Melanogenesis
6 genes	110	34208	6	359	0.00939754	(KEGG) 04114: Oocyte meiosis
6 genes	113	34208	6	359	0.00971937	(KEGG) 04670: Leukocyte transendothelial migration
6 genes	113	34208	6	359	0.00971937	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
6 genes	125	34208	6	359	0.0135454	(KEGG) 04514: Cell adhesion molecules (CAMs)
5 genes	79	34208	5	359	0.01084	(KEGG) 03015: mRNA surveillance pathway
5 genes	85	34208	5	359	0.0136885	(KEGG) 04970: Salivary secretion
5 genes	102	34208	5	359	0.0247207	(KEGG) 05142: Chagas disease (American trypanosomiasis)
5 genes	125	34208	5	359	0.0422524	(KEGG) 04650: Natural killer cell mediated cytotoxicity
4 genes	49	34208	4	359	0.0121926	(KEGG) 04961: Endocrine and factor-regulated calcium reabsorption
4 genes	54	34208	4	359	0.0153714	(KEGG) 05130: Pathogenic Escherichia coli infection
4 genes	62	34208	4	359	0.0235146	(KEGG) 05210: Colorectal cancer
4 genes	66	34208	4	359	0.0264635	(KEGG) 03018: RNA degradation
4 genes	70	34208	4	359	0.0315351	(KEGG) 04622: RIG-I-like receptor signaling pathway
4 genes	73	34208	4	359	0.0343173	(KEGG) 05412: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
4 genes	76	34208	4	359	0.038315	(KEGG) 04070: Phosphatidylinositol signaling system
4 genes	77	34208	4	359	0.038942	(KEGG) 04664: Fc epsilon RI signaling pathway
3 genes	33	34208	3	359	0.0263	(KEGG) 05143: African trypanosomiasis
3 genes	42	34208	3	359	0.0404697	(KEGG) 02010: ABC transporters
3 genes	42	34208	3	359	0.0404697	(KEGG) 04960: Aldosterone-regulated sodium reabsorption

miR-584-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-584-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
5 genes	135	34208	5	175	0.00469745	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-584-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
7 genes	324	34208	7	151	0.00370698	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
4 genes	159	34208	4	151	0.0165378	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
3 genes	149	34208	3	151	0.04281	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
3 genes	135	34208	3	151	0.0442799	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis

miR-126-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-126-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
20 genes	268	34208	20	620	2,04E+00	(KEGG) 04080: Neuroactive ligand-receptor interaction
15 genes	262	34208	15	620	0.00337038	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
15 genes	324	34208	15	620	0.0227463	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
12 genes	124	34208	12	620	0.000240504	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
11 genes	149	34208	11	620	0.00388052	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
10 genes	209	34208	10	620	0.0450426	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
9 genes	68	34208	9	620	0.000213483	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
8 genes	128	34208	8	620	0.0365482	(KEGG) 04360: Axon guidance
8 genes	133	34208	8	620	0.0363976	(KEGG) 05160: Hepatitis C
7 genes	70	34208	7	620	0.00780916	(KEGG) 05212: Pancreatic cancer
7 genes	88	34208	7	620	0.0234576	(KEGG) 04540: Gap junction
7 genes	113	34208	7	620	0.0431391	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
6 genes	69	34208	6	620	0.0296201	(KEGG) 04730: Long-term depression
6 genes	71	34208	6	620	0.0308965	(KEGG) 04520: Adherens junction
6 genes	75	34208	6	620	0.0340694	(KEGG) 04370: VEGF signaling pathway
6 genes	76	34208	6	620	0.033631	(KEGG) 04070: Phosphatidylinositol signaling system
6 genes	84	34208	6	620	0.0423701	(KEGG) 05222: Small cell lung cancer
6 genes	88	34208	6	620	0.0430518	(KEGG) 05215: Prostate cancer
5 genes	57	34208	5	620	0.0391697	(KEGG) 04621: NOD-like receptor signaling pathway
5 genes	62	34208	5	620	0.0449896	(KEGG) 05210: Colorectal cancer
3 genes	17	34208	3	620	0.0375579	(KEGG) 00770: Pantothenate and CoA biosynthesis

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-126-5p

No hay resultados

miR-1271-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-1271-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
17 genes	262	34208	17	435	7,92E-01	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
13 genes	324	34208	13	435	0.00239132	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
12 genes	124	34208	12	435	4,95E-01	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
11 genes	209	34208	11	435	0.0011058	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
10 genes	98	34208	10	435	1,88E+00	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
10 genes	124	34208	10	435	0.000130868	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
10 genes	186	34208	10	435	0.00164189	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway
10 genes	197	34208	10	435	0.00242841	(KEGG) 04510: Focal adhesion
9 genes	68	34208	9	435	9,89E-01	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
9 genes	113	34208	9	435	0.000362254	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
9 genes	133	34208	9	435	0.000792768	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
8 genes	87	34208	8	435	0.000325066	(KEGG) 04012: ErbB signaling pathway
8 genes	88	34208	8	435	0.000309438	(KEGG) 04540: Gap junction
8 genes	110	34208	8	435	0.00103158	(KEGG) 04114: Oocyte meiosis
8 genes	128	34208	8	435	0.00236256	(KEGG) 04360: Axon guidance
8 genes	130	34208	8	435	0.00231672	(KEGG) 04530: Tight junction
7 genes	69	34208	7	435	0.000454755	(KEGG) 04730: Long-term depression
7 genes	98	34208	7	435	0.00239303	(KEGG) 04916: Melanogenesis
7 genes	175	34208	7	435	0.0260363	(KEGG) 04020: Calcium signaling pathway
7 genes	193	34208	7	435	0.0376387	(KEGG) 04144: Endocytosis
6 genes	72	34208	6	435	0.00241554	(KEGG) 04971: Gastric acid secretion
6 genes	73	34208	6	435	0.00235597	(KEGG) 05220: Chronic myeloid leukemia
6 genes	73	34208	6	435	0.00235597	(KEGG) 05412: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
6 genes	86	34208	6	435	0.00517391	(KEGG) 04914: Progesterone-mediated oocyte maturation
6 genes	88	34208	6	435	0.00559523	(KEGG) 05215: Prostate cancer
6 genes	89	34208	6	435	0.00569891	(KEGG) 05414: Dilated cardiomyopathy
6 genes	98	34208	6	435	0.00868874	(KEGG) 04972: Pancreatic secretion
6 genes	113	34208	6	435	0.0141341	(KEGG) 04670: Leukocyte transendothelial migration
5 genes	62	34208	5	435	0.00651151	(KEGG) 05210: Colorectal cancer
5 genes	70	34208	5	435	0.010052	(KEGG) 05100: Bacterial invasion of epithelial cells
5 genes	70	34208	5	435	0.010052	(KEGG) 05211: Renal cell carcinoma
5 genes	76	34208	5	435	0.0130708	(KEGG) 04260: Cardiac muscle contraction
5 genes	76	34208	5	435	0.0130708	(KEGG) 04070: Phosphatidylinositol signaling system
5 genes	82	34208	5	435	0.0165922	(KEGG) 05410: Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)
5 genes	84	34208	5	435	0.0173971	(KEGG) 04512: ECM-receptor interaction
5 genes	85	34208	5	435	0.0178139	(KEGG) 04970: Salivary secretion
5 genes	102	34208	5	435	0.0335852	(KEGG) 05146: Amoebiasis
5 genes	107	34208	5	435	0.0380774	(KEGG) 04660: T cell receptor signaling pathway
4 genes	28	34208	4	435	0.00275145	(KEGG) 05216: Thyroid cancer
4 genes	46	34208	4	435	0.0134336	(KEGG) 04930: Type II diabetes mellitus
4 genes	57	34208	4	435	0.0224255	(KEGG) 05221: Acute myeloid leukemia
4 genes	63	34208	4	435	0.0295923	(KEGG) 05214: Glioma
4 genes	67	34208	4	435	0.0341644	(KEGG) 04115: p53 signaling pathway
4 genes	67	34208	4	435	0.0341644	(KEGG) 04920: Adipocytokine signaling pathway
3 genes	23	34208	3	435	0.0132435	(KEGG) 04320: Dorsal-ventral axis formation
3 genes	26	34208	3	435	0.0173274	(KEGG) 00410: beta-Alanine metabolism
3 genes	30	34208	3	435	0.0234559	(KEGG) 00512: Mucin type O-Glycan biosynthesis
2 genes	15	34208	2	435	0.046184	(KEGG) 00604: Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-1271-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
24 genes	262	34208	24	605	9,46E-04	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
22 genes	324	34208	22	605	2,81E-01	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
21 genes	209	34208	21	605	1,34E-03	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
16 genes	124	34208	16	605	3,35E-03	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
16 genes	197	34208	16	605	8,24E-01	(KEGG) 04510: Focal adhesion
13 genes	88	34208	13	605	1,86E-02	(KEGG) 05215: Prostate cancer
13 genes	128	34208	13	605	8,62E-01	(KEGG) 04360: Axon guidance
12 genes	186	34208	12	605	0.000658736	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway
11 genes	125	34208	11	605	0.000130014	(KEGG) 04650: Natural killer cell mediated cytotoxicity
11 genes	133	34208	11	605	0.000219327	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
10 genes	63	34208	10	605	3,65E-01	(KEGG) 05214: Glioma
10 genes	70	34208	10	605	8,69E-02	(KEGG) 05211: Renal cell carcinoma
10 genes	77	34208	10	605	1,37E+00	(KEGG) 04664: Fc epsilon RI signaling pathway
10 genes	87	34208	10	605	3,35E+00	(KEGG) 04012: ErbB signaling pathway
10 genes	193	34208	10	605	0.00867674	(KEGG) 04144: Endocytosis
9 genes	57	34208	9	605	9,64E-01	(KEGG) 05221: Acute myeloid leukemia
9 genes	62	34208	9	605	1,67E+00	(KEGG) 05210: Colorectal cancer
9 genes	88	34208	9	605	0.000209321	(KEGG) 04540: Gap junction
9 genes	92	34208	9	605	0.000244642	(KEGG) 04666: Fc gamma R-mediated phagocytosis
9 genes	107	34208	9	605	0.00065116	(KEGG) 04660: T cell receptor signaling pathway
9 genes	175	34208	9	605	0.0140395	(KEGG) 04020: Calcium signaling pathway
8 genes	52	34208	8	605	3,31E+00	(KEGG) 05213: Endometrial cancer
8 genes	68	34208	8	605	0.000200096	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
8 genes	70	34208	8	605	0.000224167	(KEGG) 05100: Bacterial invasion of epithelial cells
8 genes	70	34208	8	605	0.000224167	(KEGG) 05218: Melanoma
8 genes	73	34208	8	605	0.000266641	(KEGG) 05220: Chronic myeloid leukemia
8 genes	98	34208	8	605	0.00164423	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
8 genes	124	34208	8	605	0.00684163	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
8 genes	126	34208	8	605	0.00736005	(KEGG) 04380: Osteoclast differentiation
8 genes	130	34208	8	605	0.00826604	(KEGG) 04530: Tight junction
8 genes	149	34208	8	605	0.0168171	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
8 genes	159	34208	8	605	0.0235317	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
7 genes	53	34208	7	605	0.000247556	(KEGG) 05223: Non-small cell lung cancer
7 genes	61	34208	7	605	0.000570643	(KEGG) 05131: Shigellosis
7 genes	71	34208	7	605	0.0012452	(KEGG) 04520: Adherens junction
7 genes	75	34208	7	605	0.00163971	(KEGG) 04662: B cell receptor signaling pathway
7 genes	113	34208	7	605	0.0140412	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
7 genes	135	34208	7	605	0.0303175	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
6 genes	23	34208	6	605	2,57E+00	(KEGG) 04320: Dorso-ventral axis formation
6 genes	50	34208	6	605	0.00120814	(KEGG) 05014: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)
6 genes	69	34208	6	605	0.00586057	(KEGG) 04730: Long-term depression
6 genes	73	34208	6	605	0.00720765	(KEGG) 05412: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
6 genes	75	34208	6	605	0.00805934	(KEGG) 04370: VEGF signaling pathway
6 genes	86	34208	6	605	0.0141382	(KEGG) 04914: Progesterone-mediated oocyte maturation
6 genes	98	34208	6	605	0.0242796	(KEGG) 04916: Melanogenesis
6 genes	110	34208	6	605	0.0382036	(KEGG) 04114: Oocyte meiosis
5 genes	28	34208	5	605	0.000656844	(KEGG) 05216: Thyroid cancer
5 genes	46	34208	5	605	0.00555685	(KEGG) 04930: Type II diabetes mellitus
5 genes	70	34208	5	605	0.0238819	(KEGG) 05212: Pancreatic cancer
5 genes	86	34208	5	605	0.0495529	(KEGG) 04210: Apoptosis
4 genes	42	34208	4	605	0.0202438	(KEGG) 04960: Aldosterone-regulated sodium reabsorption
4 genes	49	34208	4	605	0.0313123	(KEGG) 00310: Lysine degradation
4 genes	53	34208	4	605	0.0393842	(KEGG) 05110: Vibrio cholerae infection

miR-409-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-409-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
3 genes	180	34208	3	93	0.013153	(KEGG) 05016: Huntington's disease

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-409-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
5 genes	193	34208	5	140	0.00550523	(KEGG) 04144: Endocytosis
5 genes	324	34208	5	140	0.0163731	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
4 genes	209	34208	4	140	0.0195942	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
4 genes	262	34208	4	140	0.0295049	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
3 genes	49	34208	3	140	0.00969271	(KEGG) 04961: Endocrine and factor-regulated calcium reabsorption

miR-18a-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-18a-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
10 genes	262	34208	10	241	0.00223319	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
8 genes	193	34208	8	241	0.00433061	(KEGG) 04144: Endocytosis
8 genes	324	34208	8	241	0.0331258	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
6 genes	130	34208	6	241	0.0131268	(KEGG) 05162: Measles
6 genes	153	34208	6	241	0.0232974	(KEGG) 04630: Jak-STAT signaling pathway
6 genes	172	34208	6	241	0.034067	(KEGG) 05152: Tuberculosis
5 genes	124	34208	5	241	0.032282	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
5 genes	133	34208	5	241	0.0340628	(KEGG) 05160: Hepatitis C
5 genes	137	34208	5	241	0.0316689	(KEGG) 04145: Phagosome
5 genes	149	34208	5	241	0.0383363	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
4 genes	70	34208	4	241	0.0303577	(KEGG) 04622: RIG-I-like receptor signaling pathway
4 genes	98	34208	4	241	0.0439892	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
4 genes	101	34208	4	241	0.0456545	(KEGG) 04620: Toll-like receptor signaling pathway
4 genes	102	34208	4	241	0.0443065	(KEGG) 05146: Amoebiasis
3 genes	39	34208	3	241	0.0311458	(KEGG) 03022: Basal transcription factors
3 genes	44	34208	3	241	0.036654	(KEGG) 04962: Vasopressin-regulated water reabsorption

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR 18a-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
6 genes	193	34208	6	132	0.000541881	(KEGG) 04144: Endocytosis
4 genes	137	34208	4	132	0.00500481	(KEGG) 04145: Phagosome
3 genes	130	34208	3	132	0.0234609	(KEGG) 04530: Tight junction

miR-132-5p

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-132-5p

No hay resultados

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-132-5p

No hay resultados

miR-194-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-194-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
7 genes	193	34208	7	279	0.00544728	(KEGG) 04144: Endocytosis
6 genes	135	34208	6	279	0.00870579	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
4 genes	130	34208	4	279	0.0368553	(KEGG) 04530: Tight junction
3 genes	36	34208	3	279	0.0104691	(KEGG) 00051: Fructose and mannose metabolism
3 genes	50	34208	3	279	0.0198242	(KEGG) 00562: Inositol phosphate metabolism
3 genes	67	34208	3	279	0.0350414	(KEGG) 05120: Epithelial cell signaling in H. pylori infection

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-194-5p

No hay resultados

miR-10b-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-10b-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
5 genes	124	34208	5	223	0.0486568	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
5 genes	128	34208	5	223	0.0419924	(KEGG) 04360: Axon guidance
5 genes	130	34208	5	223	0.035968	(KEGG) 05162: Measles

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-10b-5p

No hay resultados

miR-200a-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-200a-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
3 genes	81	34208	3	198	0.0409758	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
3 genes	81	34208	3	198	0.0409758	(KEGG) 05200: Pathways in cancer

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-200a-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
3 genes	324	34208	3	84	0.045761	(KEGG) 05200: Pathways in cancer

miR-504-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-504-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
11 genes	324	34208	11	210	0.000378804	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
10 genes	262	34208	10	210	0.000730219	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
5 genes	53	34208	5	210	0.000807187	(KEGG) 05223: Non-small cell lung cancer
5 genes	73	34208	5	210	0.00286878	(KEGG) 05220: Chronic myeloid leukemia
4 genes	63	34208	4	210	0.0159766	(KEGG) 05214: Glioma
5 genes	133	34208	5	210	0.016591	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
5 genes	124	34208	5	210	0.0167055	(KEGG) 04724: Glutamatergic synapse
4 genes	77	34208	4	210	0.0169758	(KEGG) 04664: Fc epsilon RI signaling pathway
4 genes	75	34208	4	210	0.0171032	(KEGG) 04370: VEGF signaling pathway
5 genes	123	34208	5	210	0.0184128	(KEGG) 05145: Toxoplasmosis
4 genes	84	34208	4	210	0.0195089	(KEGG) 05222: Small cell lung cancer
4 genes	86	34208	4	210	0.0196317	(KEGG) 04210: Apoptosis
4 genes	70	34208	4	210	0.0198202	(KEGG) 05211: Renal cell carcinoma
5 genes	149	34208	5	210	0.0214395	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
4 genes	101	34208	4	210	0.0304637	(KEGG) 04620: Toll-like receptor signaling pathway
3 genes	52	34208	3	210	0.0306532	(KEGG) 04150: mTOR signaling pathway
3 genes	52	34208	3	210	0.0306532	(KEGG) 05213: Endometrial cancer
4 genes	133	34208	4	210	0.0460978	(KEGG) 05160: Hepatitis C
3 genes	62	34208	3	210	0.047373	(KEGG) 05210: Colorectal cancer
3 genes	70	34208	3	210	0.0476354	(KEGG) 05218: Melanoma
3 genes	70	34208	3	210	0.0476354	(KEGG) 05212: Pancreatic cancer
4 genes	130	34208	4	210	0.0481915	(KEGG) 05162: Measles
4 genes	130	34208	4	210	0.0481915	(KEGG) 04530: Tight junction
5 genes	197	34208	5	210	0.04874	(KEGG) 04510: Focal adhesion
4 genes	124	34208	4	210	0.0495631	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-504-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
4 genes	262	34208	4	96	0.0128829	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
3 genes	135	34208	3	96	0.00986008	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
3 genes	159	34208	3	96	0.0123231	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
3 genes	129	34208	3	96	0.0173965	(KEGG) 05012: Parkinson's disease
3 genes	124	34208	3	96	0.0311849	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway

miR-200c-3p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-200c-3p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
20 genes	262	34208	20	717	4,56E+00	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
18 genes	197	34208	18	717	1,75E+00	(KEGG) 04510: Focal adhesion
17 genes	324	34208	17	717	0.0048166	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
15 genes	124	34208	15	717	9,18E-01	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
13 genes	149	34208	13	717	0.000345318	(KEGG) 04310: Wnt signaling pathway
13 genes	159	34208	13	717	0.00042315	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
12 genes	133	34208	12	717	0.000414776	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
12 genes	135	34208	12	717	0.00043765	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
12 genes	193	34208	12	717	0.00652423	(KEGG) 04144: Endocytosis
11 genes	88	34208	11	717	9,77E-01	(KEGG) 04540: Gap junction
11 genes	110	34208	11	717	0.000381572	(KEGG) 04114: Oocyte meiosis
11 genes	128	34208	11	717	0.000997451	(KEGG) 04360: Axon guidance
11 genes	209	34208	11	717	0.0287641	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
10 genes	113	34208	10	717	0.00142532	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
9 genes	67	34208	9	717	0.000356361	(KEGG) 04115: p53 signaling pathway
9 genes	70	34208	9	717	0.00036614	(KEGG) 05211: Renal cell carcinoma
9 genes	76	34208	9	717	0.000418513	(KEGG) 04070: Phosphatidylinositol signaling system
9 genes	87	34208	9	717	0.000982889	(KEGG) 04012: ErbB signaling pathway
9 genes	98	34208	9	717	0.00217069	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
8 genes	52	34208	8	717	0.000330542	(KEGG) 04150: mTOR signaling pathway
8 genes	92	34208	8	717	0.0058941	(KEGG) 04666: Fc gamma R-mediated phagocytosis
7 genes	66	34208	7	717	0.00424356	(KEGG) 03018: RNA degradation
7 genes	82	34208	7	717	0.012163	(KEGG) 04350: TGF-beta signaling pathway
6 genes	57	34208	6	717	0.00917119	(KEGG) 00562: Inositol phosphate metabolism
6 genes	67	34208	6	717	0.0193913	(KEGG) 04920: Adipocytokine signaling pathway
6 genes	68	34208	6	717	0.0200622	(KEGG) 04720: Long-term potentiation
6 genes	69	34208	6	717	0.0207605	(KEGG) 04730: Long-term depression
5 genes	61	34208	5	717	0.0499945	(KEGG) 05131: Shigellosis
3 genes	15	34208	3	717	0.0212516	(KEGG) 00533: Glycosaminoglycan biosynthesis - keratan sulfate

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-200c-3p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
2 genes	76	34208	2	31	0.0260693	(KEGG) 04070: Phosphatidylinositol signaling system
1 genes	6	34208	1	31	0.0325525	(KEGG) 00061: Fatty acid biosynthesis

miR-545-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-545-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
17 genes	262	34208	17	589	0.000115914	(KEGG) 04010: MAPK signaling pathway
15 genes	197	34208	15	589	0.000102245	(KEGG) 04510: Focal adhesion
14 genes	324	34208	14	589	0.0114537	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
13 genes	209	34208	13	589	0.00153565	(KEGG) 04810: Regulation of actin cytoskeleton
12 genes	124	34208	12	589	0.000136109	(KEGG) 04722: Neurotrophin signaling pathway
11 genes	128	34208	11	589	0.000383915	(KEGG) 04360: Axon guidance
10 genes	159	34208	10	589	0.0067485	(KEGG) 04141: Protein processing in endoplasmic reticulum
10 genes	172	34208	10	589	0.00759465	(KEGG) 05152: Tuberculosis
10 genes	186	34208	10	589	0.0112172	(KEGG) 04062: Chemokine signaling pathway
10 genes	193	34208	10	589	0.0129643	(KEGG) 04144: Endocytosis
9 genes	70	34208	9	589	0.000129563	(KEGG) 04622: RIG-I-like receptor signaling pathway
8 genes	66	34208	8	589	0.000407167	(KEGG) 03018: RNA degradation
8 genes	113	34208	8	589	0.0083713	(KEGG) 04270: Vascular smooth muscle contraction
8 genes	123	34208	8	589	0.0103695	(KEGG) 04110: Cell cycle
8 genes	133	34208	8	589	0.0127533	(KEGG) 05160: Hepatitis C
8 genes	133	34208	8	589	0.0127533	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway
8 genes	135	34208	8	589	0.0135134	(KEGG) 04120: Ubiquitin mediated proteolysis
7 genes	23	34208	7	589	1,35E+00	(KEGG) 04320: Dorso-ventral axis formation
7 genes	73	34208	7	589	0.00475485	(KEGG) 05412: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
7 genes	82	34208	7	589	0.00728645	(KEGG) 05410: Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)
7 genes	88	34208	7	589	0.00786262	(KEGG) 04540: Gap junction
7 genes	88	34208	7	589	0.00786262	(KEGG) 05215: Prostate cancer
7 genes	123	34208	7	589	0.0256022	(KEGG) 05145: Toxoplasmosis
7 genes	130	34208	7	589	0.0286614	(KEGG) 05162: Measles
6 genes	57	34208	6	589	0.00709173	(KEGG) 04621: NOD-like receptor signaling pathway
6 genes	61	34208	6	589	0.00787737	(KEGG) 05131: Shigellosis
6 genes	63	34208	6	589	0.00869566	(KEGG) 05214: Glioma
6 genes	73	34208	6	589	0.0110004	(KEGG) 05220: Chronic myeloid leukemia
6 genes	84	34208	6	589	0.0173606	(KEGG) 05222: Small cell lung cancer
6 genes	86	34208	6	589	0.0189024	(KEGG) 04914: Progesterone-mediated oocyte maturation
6 genes	89	34208	6	589	0.0217017	(KEGG) 05414: Dilated cardiomyopathy
6 genes	92	34208	6	589	0.02476	(KEGG) 04666: Fc gamma R-mediated phagocytosis
6 genes	98	34208	6	589	0.0292459	(KEGG) 04912: GnRH signaling pathway
6 genes	101	34208	6	589	0.0305981	(KEGG) 04620: Toll-like receptor signaling pathway
6 genes	107	34208	6	589	0.0391494	(KEGG) 04660: T cell receptor signaling pathway
5 genes	46	34208	5	589	0.00922603	(KEGG) 04930: Type II diabetes mellitus
5 genes	46	34208	5	589	0.00922603	(KEGG) 04330: Notch signaling pathway
5 genes	53	34208	5	589	0.0134642	(KEGG) 05223: Non-small cell lung cancer
5 genes	67	34208	5	589	0.0261743	(KEGG) 04920: Adipocytokine signaling pathway
5 genes	70	34208	5	589	0.028389	(KEGG) 05212: Pancreatic cancer
5 genes	70	34208	5	589	0.028389	(KEGG) 05211: Renal cell carcinoma
5 genes	77	34208	5	589	0.0383077	(KEGG) 04664: Fc epsilon RI signaling pathway
5 genes	79	34208	5	589	0.0415771	(KEGG) 03015: mRNA surveillance pathway
5 genes	82	34208	5	589	0.0462741	(KEGG) 04350: TGF-beta signaling pathway
4 genes	35	34208	4	589	0.0161103	(KEGG) 04130: SNARE interactions in vesicular transport
4 genes	42	34208	4	589	0.026111	(KEGG) 04960: Aldosterone-regulated sodium reabsorption
3 genes	23	34208	3	589	0.0296709	(KEGG) 03060: Protein export
3 genes	28	34208	3	589	0.0416488	(KEGG) 05216: Thyroid cancer
3 genes	30	34208	3	589	0.0482732	(KEGG) 00650: Butanoate metabolism

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-545-5p

No hay resultados

miR-192-5p**Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de miRDB del miR-192-5p**

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
4 genes	324	34208	4	129	0.034637	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
3 genes	73	34208	3	129	0.00806332	(KEGG) 05412: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
3 genes	118	34208	3	129	0.015306	(KEGG) 03040: Spliceosome

Resultados de GeneCodis (vías enriquecidas) con targets de THS del miR-192-5p

Genes	NGR	TNGR	NG	TNG	Hyp*	Vías enriquecidas
5 genes	324	34208	5	146	0.0258107	(KEGG) 05200: Pathways in cancer
4 genes	128	34208	4	146	0.00902171	(KEGG) 04360: Axon guidance
3 genes	133	34208	3	146	0.0260098	(KEGG) 04910: Insulin signaling pathway

ANEXO 10 - Interacciones entre componentes de mTOR y miR diferenciales

A. Interacciones potenciales entre RNAm mTOR - miR diferenciales

Gen mTOR	Nombre completo	Interacción potencial *
IGF1	<i>insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)</i>	miR-192-5p
IRS1	<i>insulin receptor substrate 1</i>	miR-183-5p; miR-1271-5p; miR-
PIK3R1	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1</i>	miR-1271-5p
PIK3R2	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 2</i>	-
PIK3R3	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3</i>	miR-504-5p
PIK3R5	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 5</i>	-
PIK3CA	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, alpha</i>	miR-1271-5p; miR-10a-5p
PIK3CB	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, beta</i>	-
PIK3CD	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, delta</i>	-
PIK3CG	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, gamma</i>	-
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>	miR-584-5p; miR-126-5p
PDPK1	<i>3-phosphoinositide dependent protein kinase 1</i>	miR-200c-3p
AKT1	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1</i>	-
AKT2	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2</i>	-
AKT3	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3</i>	miR-504-5p
TSC1	<i>tuberous sclerosis 1</i>	miR-183-5p; miR-504-5p
TSC2	<i>tuberous sclerosis 2</i>	-
RHEB	<i>Ras homolog enriched in brain</i>	-
MLST8	<i>MTOR associated protein, LST8 homolog</i>	-
RRAGA	<i>Ras-related GTP binding A</i>	miR-1271-5p
RRAGB	<i>Ras-related GTP binding B</i>	-
RRAGC	<i>Ras-related GTP binding C</i>	miR-504-5p
RRAGD	<i>Ras-related GTP binding D</i>	-
MTOR	<i>mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)</i>	miR-1271-5p
RPTOR	<i>regulatory associated protein of MTOR, complex 1</i>	miR-132-5p
RICTOR	<i>RPTOR independent companion of MTOR, complex 2</i>	miR-194-5p
HIF1A	<i>hypoxia inducible factor 1, alpha subunit</i>	miR-1271-5p; miR-18a-5p
VEGFA	<i>vascular endothelial growth factor A</i>	miR-126-5p; miR-200c-3p
RPS6KB1	<i>ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 1</i>	miR-200c-3p
RPS6KB2	<i>ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 2</i>	-
EIF4B	<i>eukaryotic translation initiation factor 4B</i>	-
EIF4EBP1	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1</i>	-
EIF4E	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E</i>	miR-200c-3p
EIF4E2	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E family member 2</i>	-
EIF4E1B	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E family member 1B</i>	-
ULK1	<i>unc-51 like autophagy activating kinase 1</i>	-
ULK3	<i>unc-51 like kinase 3</i>	-
ULK2	<i>unc-51 like autophagy activating kinase 2</i>	miR-200c-3p
MAPK1	<i>mitogen-activated protein kinase 1</i>	miR-545-5p
MAPK3	<i>mitogen-activated protein kinase 3</i>	-
RPS6KA1	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 1</i>	-
RPS6KA2	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 2</i>	-
RPS6KA3	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3</i>	miR-183-5p; miR-200c-3p
RPS6KA6	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 6</i>	miR-1271-5p; miR-504-5p
DDIT4	<i>DNA-damage-inducible transcript 4</i>	miR-183-5p
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>	-
IKBKB	<i>inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells</i>	-
STK11	<i>serine/threonine kinase 11</i>	-
STRADA	<i>STE20-related kinase adaptor alpha</i>	-
CAB39	<i>calcium binding protein 39</i>	miR-183-5p; miR-200c-3p
PRKAA1	<i>protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit</i>	miR-584-5p
PRKAA2	<i>protein kinase, AMP-activated, alpha 2 catalytic subunit</i>	miR-409-5p; miR-10a-5p; miR-
BRAF	<i>B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase</i>	miR-126-5p
PRKCA	<i>protein kinase C, alpha</i>	miR-183-5p; miR-126-5p; miR-
PRKCB	<i>protein kinase C, beta</i>	miR-183-5p; miR-200c-3p
PRKCG	<i>protein kinase C, gamma</i>	-

* THS 6.2 y miRDB

B. Interacciones validadas entre RNAm mTOR - miR diferenciales

Gen mTOR	Nombre completo	Interacción validada *
IGF1	<i>insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)</i>	-
IRS1	<i>insulin receptor substrate 1</i>	miR-200c-3p
PIK3R1	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1</i>	-
PIK3R2	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 2</i>	-
PIK3R3	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 3</i>	-
PIK3R5	<i>phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 5</i>	-
PIK3CA	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, alpha</i>	-
PIK3CB	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, beta</i>	-
PIK3CD	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, delta</i>	-
PIK3CG	<i>phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, gamma</i>	-
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>	miR-18a-5p; miR-10b-5p
PDPK1	<i>3-phosphoinositide dependent protein kinase 1</i>	miR-200c-3p
AKT1	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1</i>	miR-625-3p
AKT2	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2</i>	-
AKT3	<i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3</i>	-
TSC1	<i>tuberous sclerosis 1</i>	-
TSC2	<i>tuberous sclerosis 2</i>	-
RHEB	<i>Ras homolog enriched in brain</i>	-
MLST8	<i>MTOR associated protein, LST8 homolog</i>	-
RRAGA	<i>Ras-related GTP binding A</i>	-
RRAGB	<i>Ras-related GTP binding B</i>	-
RRAGC	<i>Ras-related GTP binding C</i>	-
RRAGD	<i>Ras-related GTP binding D</i>	-
MTOR	<i>mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)</i>	-
RPTOR	<i>regulatory associated protein of MTOR, complex 1</i>	-
RICTOR	<i>RPTOR independent companion of MTOR, complex 2</i>	miR-18a-5p
HIF1A	<i>hypoxia inducible factor 1, alpha subunit</i>	miR-625-3p; miR-18a-5p
VEGFA	<i>vascular endothelial growth factor A</i>	miR-504-5p; miR-200c-3p
RPS6KB1	<i>ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 1</i>	miR-192-5p
RPS6KB2	<i>ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 2</i>	-
EIF4B	<i>eukaryotic translation initiation factor 4B</i>	-
EIF4EBP1	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1</i>	-
EIF4E	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E</i>	-
EIF4E2	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E family member 2</i>	-
EIF4E1B	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E family member 1B</i>	-
ULK1	<i>unc-51 like autophagy activating kinase 1</i>	-
ULK3	<i>unc-51 like kinase 3</i>	-
ULK2	<i>unc-51 like autophagy activating kinase 2</i>	-
MAPK1	<i>mitogen-activated protein kinase 1</i>	miR-584-5p
MAPK3	<i>mitogen-activated protein kinase 3</i>	-
RPS6KA1	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 1</i>	-
RPS6KA2	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 2</i>	-
RPS6KA3	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3</i>	-
RPS6KA6	<i>ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 6</i>	-
DDIT4	<i>DNA-damage-inducible transcript 4</i>	miR-200c-3p
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>	-
IKBKB	<i>inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells</i>	miR-200c-3p
STK11	<i>serine/threonine kinase 11</i>	-
STRADA	<i>STE20-related kinase adaptor alpha</i>	-
CAB39	<i>calcium binding protein 39</i>	miR-200c-3p; miR-192-5p
PRKAA1	<i>protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit</i>	-
PRKAA2	<i>protein kinase, AMP-activated, alpha 2 catalytic subunit</i>	miR-192-5p
BRAF	<i>B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase</i>	-
PRKCA	<i>protein kinase C, alpha</i>	-
PRKCB	<i>protein kinase C, beta</i>	-
PRKCG	<i>protein kinase C, gamma</i>	-

* miRWalk

ANEXO 11 – Niveles de expresión de proteína DDIT4 (*Western Blot*), RNAm de DDIT4 (*microarrays*), nivel de expresión de miR-200c-3p, y del miR-183-5p (secuenciación)

Paciente y muestra	RNAm DDIT4/REDD1	miR-200c-3p	miR-183-5p	Proteína DDIT4/REDD1
Paciente 1 - Re basal	373,78	6033,13	813,22	5,08
Paciente 2 - Re basal	275,36	5456,31	787,96	5,32
Paciente 3 - Re basal	273,07	3782,49	706,27	2,37
Paciente 1 - Re 3º día	335,52	6409,49	1186,57	2,29
Paciente 2 - Re 3º día	769,65	5744,76	1710,66	2,61
Paciente 3 - Re 3º día	651,80	4235,43	1763,62	3,82
Paciente 4 - noRe basal	367,46	4441,21	1893,18	7,08
Paciente 5 - noRe basal	593,44	6375,53	1078,01	6,84
Paciente 6 - noRe basal	340,82	4449,83	1146,93	11,46
Paciente 4 - noRe 3º día	772,29	11837,56	3726,13	2,79
Paciente 5 - noRe 3º día	468,99	10979,80	2888,2	5,06
Paciente 6 - noRe 3º día	686,38	6977,04	3259,27	3,03

Bibliografía

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126(6):1504-1517.
2. Barreiro-De Acosta M, Magro F, Carpio D, et al. Ulcerative colitis in northern Portugal and Galicia in Spain. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(7):1227-1238.
3. Solberg IC, Lygren I, Jahnsen J, et al. Clinical course during the first 10 years of ulcerative colitis: results from a population-based inception cohort (IBSEN Study). *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(4):431-440.
4. Molodecky NA, Kaplan GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2010;6(5):339-346.
5. Lakatos P-L. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? *World J Gastroenterol*. 2006;12(38):6102-6108.
6. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54.e42.
7. López-Serrano P, Pérez-Calle JL, Carrera-Alonso E, et al. Epidemiologic study on the current incidence of inflammatory bowel disease in Madrid. *Rev Esp Enferm Dig*. 2009;101(11):768-772.
8. Antón Martínez J, Ortega Gómez A, Arranz Carrero A, et al. Incidencia de enfermedad inflamatoria intestinal en el área de salud de Naval Moral de la Mata (Cáceres, España) entre 2000 y 2009. *Gastroenterol Hepatol*. 2010;33(10):694-699.
9. Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1989;170:2-6.
10. Sartor RB. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2008;134(2):577-594.
11. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science (80-)*. 2012;334(6052):105-108.
12. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(33):14691-14696.
13. Rajilić-Stojanović M, Shanahan F, Guarner F, de Vos WM. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(3):481-488.

14. Michail S, Durbin M, Turner D, et al. Alterations in the gut microbiome of children with severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Disease*. 2012;18(10):1799-1808.
15. Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, et al. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2012;57(11):2955-2964.
16. Machiels K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2013:1-9.
17. Varela E, Manichanh C, Gallart M, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(2):151-161.
18. Wang W, Chen L, Zhou R, et al. Increased proportions of *Bifidobacterium* and the *Lactobacillus* group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol*. 2014;52(2):398-406.
19. Robles Alonso V, Guarner F. Linking the gut microbiota to human health. *Br J Nutr*. 2013;109(S2):S21-S26.
20. Gibson P, Rosella O, Nov R, Young G. Colonic epithelium is diffusely abnormal in ulcerative colitis and colorectal cancer. *Gut*. 1995;36(6):857-863.
21. Heller F, Florian P, Bojarski C, et al. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology*. 2005;129(2):550-564.
22. Rahman A, Fahlgren A, Sitohy B, et al. Beta-defensin production by human colonic plasma cells: a new look at plasma cells in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13(7):847-855.
23. Rahman A1, Fahlgren A, Sundstedt C, Hammarström S, Danielsson A, Hammarström ML. Chronic colitis induces expression of B-defensins in murine intestinal epithelial cells. *Clin Exp Immunol*. 2011; 163(1):123-130.
24. Niess JH. CX3CR1-Mediated Dendritic Cell Access to the Intestinal Lumen and Bacterial Clearance. *Science*. 2005; 307(5707):254-258.
25. Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, Bell SJ, Emmanuel AV, Knight SC, Kamm MA SA. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2005;129(1):50-65.
26. Cario E, Podolsky DK. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect Immun*. 2000;68(12):7010-7017.

27. Vamadevan AS, Fukata M, Arnold ET, Thomas LS, Hsu D, Abreu MT. Regulation of TLR4-associated MD-2 in intestinal epithelial cells: a comprehensive analysis. *Innate Immun.* 2010;16(2):93-103.
28. Zhang C, Mancinelli R, Xu X, et al. Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through interleukin-1 signaling mediators in cultured human endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J Biol Chem.* 1999;374:7611-7614.
29. Eckmann L, Nebelsiek T, Fingerle AA, et al. Opposing functions of IKKbeta during acute and chronic intestinal inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(39):15058-15063.
30. Rogler G, Brand K, Vogl D, et al. Nuclear factor kappaB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. *Gastroenterology.* 1998;115(2):357-369.
31. Spehlmann ME, Eckmann L. Nuclear factor-kappa B in intestinal protection and destruction. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009;25(2):92-99.
32. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med.* 2009 Nov 19;361(21):2033-45.
33. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, et al. Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut.* 1991;32(8):913-917.
34. Matsuda R, Koide T, Tokoro C, et al. Quantitative cytokine mRNA expression profiles in the colonic mucosa of patients with steroid naïve ulcerative colitis during active and quiescent disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15(3):328-334.
35. Briskin M, Winsor-Hines D, Shyjan A, et al. Human mucosal addressin cell adhesion molecule-1 is preferentially expressed in intestinal tract and associated lymphoid tissue. *Am J Pathol.* 1997;151(1):97-110.
36. Rivera-Nieves J. Strategies that target leukocyte traffic in inflammatory bowel diseases: recent developments. *Curr Opin Gastroenterol.* 2015;31:441-448.
37. Monsén U, Broström O, Nordenvall B, Sörstad J HG. Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 1987;22(2):214-218.
38. Farmer RG, Michener WM ME. Studies of family history among patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol.* 1980;9(2):271-277.
39. Childers RE, Eluri S, Vazquez C, Weise RM, Bayless TM, Hutfless S. Family history of inflammatory bowel disease among patients with

- ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis. *J Crohn's Colitis*. 2014;8(11):1480-1497.
40. Vermeire S. Review article: genetic susceptibility and application of genetic testing in clinical management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24 Suppl 3(June 2006):2-10.
 41. Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E JG. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*. 2003;124(7):1767-1773.
 42. Orholm M1, Binder V, Sørensen TI, Rasmussen LP KK. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35(10):1075-1081.
 43. Thompson NP, Driscoll R, Pounder RE, Wakefield a J. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *BMJ*. 1996;312(7023):95-96.
 44. Yang H, McElree C, Roth MP, Shanahan F, Targan SR, Rotter JI. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut*. 1993;34(4):517-524.
 45. Niv Y, Abuksis G, Fraser GM. Epidemiology of ulcerative colitis in Israel: A survey of Israeli kibbutz settlements. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(3):693-698.
 46. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, Dermot P. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012;491(7422):119-124.
 47. Anderson C a, Boucher G, Lees CW, Franke A. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet*. 2011;43(3):246-252.
 48. Ek WE, D'Amato M, Halfvarson J. The history of genetics in inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol*. 2014;27(4):294-303.
 49. UK IBD Genetics Consortium, Barrett JC, Lee JC, et al. Genome-wide association study of ulcerative colitis identifies three new susceptibility loci, including the HNF4A region. *Nat Genet*. 2009;41(12):1330-1334.
 50. Wheeler JM, Kim HC, Efstathiou JA, Ilyas M, Mortensen NJ, Bodmer WF. Hypermethylation of the promoter region of the E-cadherin gene (CDH1) in sporadic and ulcerative colitis associated colorectal cancer. *Gut*. 2001;48(3):367-371.
 51. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(11):1462-1471.

52. Höie O, Wolters F, Riis L, et al. Ulcerative colitis: Patient characteristics may predict 10-yr disease recurrence in a European-wide population-based cohort. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(8):1692-1701.
53. Beaugerie L, Massot N, Carbonnel F, Cattan S, Gendre JP, Cosnes J. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(7):2113-2116.
54. Birrenbach T BU. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10(6):848-859.
55. Rutgeerts P, D'Haens G, Hiele M, Geboes K VG. Appendectomy protects against ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 1994;106(5):1251-1253.
56. Rodríguez LAG, Ruigómez A, Panés J. Acute Gastroenteritis Is Followed by an Increased Risk of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2006;130(6):1588-1594.
57. Porter CK, Tribble DR, Aliaga PA, Halvorson HA, Riddle MS. Infectious Gastroenteritis and Risk of Developing Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2008;135(3):781-786.
58. Takeuchi KEN, Smale S, Premchand P, et al. Prevalence and Mechanism of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(05):196-202.
59. Baumgart DC, Baumgart DC, Sandborn WJ, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*. 2007;369(9573):1641-1657.
60. Danese S, Semeraro S, Papa A, et al. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2005;11(46):7227-7236.
61. Schroeder KW, Tremaine WJ ID. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med*. 1987;317(26):1625-1629.
62. Loddenkemper C. Diagnostic standards in the pathology of inflammatory bowel disease. *Dig Dis*. 2009;27(4):576-583.
63. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19(suppl A):5A - 36A.

64. Ayres RC, Gillen CD, Walmsley RS AR. Progression of ulcerative proctosigmoiditis: incidence and factors influencing progression. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996;8(6):555-558.
65. Gomollón F, García-López S, Sicilia B, Gisbert JP, Hinojosa J. Guía clínica GETECCU del tratamiento de la colitis ulcerosa elaborada con la metodología GRADE. *Gastroenterol Hepatol*. 2013;36(8):e1-e47.
66. Dignass A, Eliakim R, Magro F, et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis. *J Crohn's Colitis*. 2012;6(10):965-990.
67. Orchard TR, van der Geest SA, Travis SP. Randomised clinical trial: early assessment after 2 weeks of high-dose mesalazine for moderately active ulcerative colitis - new light on a familiar question. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33(9):1028-1035.
68. Yamamoto T, Umegae S, Matsumoto K. High-dose mesalazine treatment for ulcerative colitis patients who relapse under low-dose maintenance therapy. *Dig Liver Dis*. 2011;43(5):386-390.
69. Kamm MA, Sandborn WJ, Gassull M, et al. Once-Daily, High-Concentration MMX Mesalamine in Active Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2007;132(1):66-75.
70. Danielsson A, Lofberg R, Persson T, et al. A steroid enema, budesonide, lacking systemic effects for the treatment of distal ulcerative colitis or proctitis. *Scand J Gastroenterol*. 1992;27(1):9-12.
71. Hanauer SB, Robinson M, Pruitt R, et al. Budesonide enema for the treatment of active, distal ulcerative colitis and proctitis: a dose-ranging study. U.S. Budesonide enema study group. *Gastroenterology*. 1998;115(3):525-532.
72. Mañosa M, Cabré E, Garcia-Planella E, et al. Decision tree for early introduction of rescue therapy in active ulcerative colitis treated with steroids. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(12):2497-2502.
73. Ho GT, Chiam P, Drummond H, Loane J, Arnott IDR, Satsangi J. The efficacy of corticosteroid therapy in inflammatory bowel disease: Analysis of a 5-year UK inception cohort. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(2):319-330.
74. Truelove SC, Willoughby CP, Lee EG, Kettlewell MG. Further experience in the treatment of severe attacks of ulcerative colitis. *Lancet (London, England)*. 1978;2(8099):1086-1088.
75. Faubion W, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister R, Sandborn WJ. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology*. 2001;121(2):255-260.

76. Travis SP, Farrant JM, Ricketts C, et al. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut*. 1996;38(6):905-910.
77. Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, et al. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med*. 1994;330(26):1841-1845.
78. Laharie D, Bourreille A, Branche J, et al. Ciclosporin versus infliximab in patients with severe ulcerative colitis refractory to intravenous steroids: A parallel, open-label randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;380(9857):1909-1915.
79. Langholz E, Munkholm P, Davidsen M B V. Colorectal cancer risk and mortality in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 1992;103(5):1444-1451.
80. Leijonmarck CE, Persson PG, Hellers G, Leijonmarck E, Leijonmarck C. Factors affecting colectomy rate in ulcerative colitis: an epidemiologic study. *Gut*. 1990;31:329-333.
81. Feagan BG MJ. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(10).
82. Gisbert JP, Linares PM, McNicholl AG, Maté J, Gomollón F. Meta-analysis: The efficacy of azathioprine and mercaptopurine in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30(2):126-137.
83. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut*. 2002;50(4):485-489.
84. Chaparro M, Ordás I, Cabré E, et al. Safety of thiopurine therapy in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 3931 patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(7):1404-1410.
85. Gustavsson A, Järnerot G, Hertervig E, et al. Clinical trial: Colectomy after rescue therapy in ulcerative colitis - 3-year follow-up of the Swedish-Danish controlled infliximab study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;32(8):984-989.
86. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis: final report on a therapeutic trial. *Br Med J*. 1955;2(4947):1041-1048.
87. Domènech E MM. Tratamiento convencional de la enfermedad inflamatoria intestinal aguda y crónica. *Tratamiento de las enfermedades Digestivas*. Ed Médica Panam. 2008.
88. Gassull MA, Gomollón F, Hinojosa J, Obrador A E. Enfermedad Inflamatoria Intestinal. 3a edición. 2007.

89. Assche G Van, Dignass A, Panes J, et al. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease : Definitions and diagnosis. *J Crohn's Colitis*. 2010;4(1):7-27.
90. Benazzato L, D'Inc?? R, Grigoletto F, et al. Prognosis of severe attacks in ulcerative colitis: Effect of intensive medical treatment. *Dig Liver Dis*. 2004;36(7):461-466.
91. Ho GT, Mowat C, Goddard CJR, et al. Predicting the outcome of severe ulcerative colitis: Development of a novel risk score to aid early selection of patients for second-line medical therapy or surgery. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;19(10):1079-1087.
92. Bojic D, Radojicic Z, Nedeljkovic-Protic M, Al-Ali M, Jewell DP, Travis SPL. Long-term outcome after admission for acute severe ulcerative colitis in Oxford: The 1992-1993 cohort. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(6):823-828.
93. Naves JE, Llaó J, Ruiz-Cerulla A, et al. Long-term comparative efficacy of cyclosporine- or infliximab-based strategies for the management of steroid-refractory ulcerative colitis attacks. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(8):1375-1381.
94. Reich KM, Chang HJ, Rezaie A, et al. The incidence rate of colectomy for medically refractory ulcerative colitis has declined in parallel with increasing anti-TNF use: A time-trend study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(6):629-638.
95. Reichstein T VEJ. Constituents of the adrenal cortex: isolation of substance Q (desoxycorticosterone) and R with other materials. *Helvet Chim Acta*. 1938.
96. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther*. 2002;96(1):23-43.
97. Schimmer B PK. *Adrenocorticotropic Hormone; Adrenocortical Steroids and Their Synthetic Analogs; Inhibitors of the Synthesis and Actions of Adrenocortical Hormones*. 11th ed; 2006.
98. Pelaia G, Vatrella A, Cuda G, Maselli R MS. Molecular mechanisms of corticosteroid actions in chronic inflammatory airway diseases. *Life Sci*. 2003;72(14):1549-1561.
99. Leung DY BJ. Update on glucocorticoid action and resistance. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(1):3-22.
100. Cheung J SD. Molecular chaperone interactions with steroid receptors. *Mol Endocrinol*. 2000;14(7):939-946.

101. Pratt WB TD. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev.* 1997;18(3):306-360.
102. Smith DF. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol.* 1993. doi:10.1210/me.7.1.4.
103. Pemberton LF PB. Mechanisms of receptor-mediated nuclear import and nuclear export. *Traffic.* 2005;6(3):187-198.
104. Barnes PJ. Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;120(2-3):76-85.
105. Kagoshima M, Ito K, Cosio B AI. Glucocorticoid suppression of nuclear factor-kappa B: a role for histone modifications. *Biochem Soc Trans.* 2003;31:60-65.
106. Croxtall JD, Choudhury Q, Flower RJ. Glucocorticoids act within minutes to inhibit recruitment of signalling factors to activated EGF receptors through a receptor-dependent, transcription-independent mechanism. *Br J Pharmacol.* 2000;130(2):289-298.
107. Stellato C. Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc Am Thorac Soc.* 2004;1(11):255-263.
108. Charmandari E KT. Crousos syndrome: a seminal report, a phylogenetic enigma and the clinical implications of glucocorticoid signalling changes. *Eur J Clin Invest.* 2010;40(10):932-942.
109. Domenech E, Vega R, Ojanguren I, et al. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: a prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy. *Inflamm Bowel Dis.* 2008;14(10):1373-1379.
110. Raddatz D, Middel P, Bockemühl M, Benöhr P, Wissmann C, Schwörer H RG. Glucocorticoid receptor expression in inflammatory bowel disease: evidence for a mucosal down-regulation in steroid-unresponsive ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19(1):47-61.
111. Flood L1, Löfberg R, Stierna P WA. Glucocorticoid receptor mRNA in patients with ulcerative colitis: a study of responders and nonresponders to glucocorticosteroid therapy. *Inflamm Bowel Dis.* 2001;7(3):202-209.
112. Lewis-Tuffin LJ CJ. The physiology of human glucocorticoid receptor beta (hGRbeta) and glucocorticoid resistance. *Ann N Y Acad Sci.* 2006:1-9.
113. Oakley RH, Sar M CJ. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J Biol Chem.* 1996;271(16):9550-9559.

114. Honda M, Orii F, Ayabe T, Imai S, Ashida T, Obara T KY. Expression of glucocorticoid receptor beta in lymphocytes of patients with glucocorticoid-resistant ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2000;118(5):859-866.
115. Fujishima S, Takeda H, Kawata S, Yamakawa M. The relationship between the expression of the glucocorticoid receptor in biopsied colonic mucosa and the glucocorticoid responsiveness of ulcerative colitis patients. *Clin Immunol*. 2009;133(2):208-217.
116. Gross KL, Lu NZ, Cidlowski JA. Molecular mechanisms Regulating Glucocorticoid Sensitivity and Resistance. *Mol Cell*. 2009;300:7-16.
117. Qian X, Zhu Y, Xu W LY. Glucocorticoid receptor and heat shock protein 90 in peripheral blood mononuclear cells from asthmatics. *Chin Med J*. 2001;114(10):1051-1054.
118. Denny WB, Valentine DL, Reynolds PD, Smith DF, Scammell JG. Squirrel monkey immunophilin FKBP51 is a potent inhibitor of glucocorticoid receptor binding [In Process Citation]. *Endocrinology*. 2000;141(11):4107-4113.
119. Tao T, Lan J, Lukacs GL, Haché RJ, Kaplan F. Importin 13 regulates nuclear import of the glucocorticoid receptor in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;35(6):668-680.
120. Raby BA, Van Steen K, Lasky-Su J, Tantisira K, Kaplan F, Weiss ST. Importin-13 genetic variation is associated with improved airway responsiveness in childhood asthma. *Respir Res*. 2009;10:67.
121. Percipalle P, Farrants AK. Chromatin remodelling and transcription: be-WICHed by nuclear myosin 1. *Curr Opin Cell Biol*. 2006;18(3):267-274.
122. Yoshinaga SK, Peterson CL, Herskowitz I, Yamamoto KR. Roles of SWI1, SWI2, and SWI3 proteins for transcriptional enhancement by steroid receptors. *Science*. 1992;258(5088):1598-1604.
123. Narlikar GJ, Fan HY, Kingston RE. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell*. 2002;108(4):475-487.
124. Becker PB, Hörz W. ATP-DEPENDENT NUCLEOSOME REMODELING. *Annu Rev Biochem*. 2002;71:247-273.
125. Holleman A, Cheek MH, den Boer ML, et al. Gene-expression patterns in drug-resistant acute lymphoblastic leukemia cells and response to treatment. *N Engl J Med*. 2004;351(6):533-542.

126. Pottier N, Cheok MH, Yang W, et al. Expression of SMARCB1 modulates steroid sensitivity in human lymphoblastoid cells: Identification of a promoter snp that alters PARP1 binding and SMARCB1 expression. *Hum Mol Genet.* 2007;16(19):2261-2271.
127. Chikanza IC, Kozaci DL. Corticosteroid resistance in rheumatoid arthritis: Molecular and cellular perspectives. *Rheumatology.* 2004;43(11):1337-1345.
128. Buttgereit F, Saag K, Cutolo M, da Silva J, Bijlsma J. The molecular basis for the effectiveness, toxicity, and resistance to glucocorticoids: focus on the treatment of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2005;34(1):14-21.
129. Farrell RJ, Farrell RJ, Kelleher D, Kelleher D. Glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. *J Endocrinol.* 2003;178:339-346.
130. Miller AH, Pariante CM PB. Effects of cytokines on glucocorticoid receptor expression and function. Glucocorticoid resistance and relevance to depression. *Adv Exp Med Biol.* 1999:107-116.
131. Batrakova E V., Han HY, Miller DW, Kabanov A V. Effects of pluronic P85 unimers and micelles on drug permeability in polarized BBMEC and Caco-2 cells. *Pharm Res.* 1998;15(10):1525-1532.
132. Raddatz D, Toth S, Schwörer H RG. Glucocorticoid receptor signaling in the intestinal epithelial cell lines IEC-6 and Caco-2: evidence of inhibition by interleukin-1beta. *Int J Color Dis.* 2001:377-383.
133. Franchimont D, Martens H, Hagelstein MT, et al. Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the sensitivity of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(8):2834-2839.
134. Ishiguro Y. Mucosal proinflammatory cytokine production correlates with endoscopic activity of ulcerative colitis. *J Gastroenterol.* 1999;34(1):66-74.
135. Santaolalla R, Mañé J, Pedrosa E, et al. Apoptosis resistance of mucosal lymphocytes and IL-10 deficiency in patients with steroid-refractory Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(7):1490-1500.
136. Creed TJ, Lee RW, Newcomb P, di Mambro AJ, Raju M, Dayan CM. The effects of cytokines on suppression of lymphocyte proliferation by dexamethasone. *J Immunol.* 2009;183(1):164-171.
137. Leung DY, Hamid Q, Vottero A, et al. Association of glucocorticoid insensitivity with increased expression of glucocorticoid receptor beta. *J Exp Med.* 1997;186(9):1567-1574.

138. Adcock IM, Lane SJ, Brown CR, Lee TH, Barnes PJ. Abnormal glucocorticoid receptor-activator protein 1 interaction in steroid-resistant asthma. *J Exp Med*. 1995;182(December):1951-1958.
139. Irusen E, Matthews JG, Takahashi A, Barnes PJ, Chung KF, Adcock IM. p38 mitogen-activated protein kinase-induced glucocorticoid receptor phosphorylation reduces its activity: Role in steroid-insensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(4):649-657.
140. Lorén V, Cabré E, Ojanguren I, et al. Interleukin-10 Enhances the Intestinal Epithelial Barrier in the Presence of Corticosteroids through p38 MAPK Activity in Caco-2 Monolayers: A Possible Mechanism for Steroid Responsiveness in Ulcerative Colitis. *PLOS One* 2015. *PLoS One*. 2015;10(6).
141. Ishiguro Y, Ohkawara T, Sakuraba H, et al. Macrophage migration inhibitory factor has a proinflammatory activity via the p38 pathway in glucocorticoid-resistant ulcerative colitis. *Clin Immunol*. 2006;120(3):335-341.
142. Callen DF, Baker E, Simmers RN, Seshadri R, Roninson IB. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. *Hum Genet*. 1987;77(2):142-144.
143. Farrell RJ, Murphy A, Long A, et al. High multidrug resistance (P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapy. *Gastroenterology*. 2000;118(2):279-288.
144. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(7):3473-3478.
145. Senhaji N, Kassogue Y, Fahimi M, Serbati N, Badre W, Nadifi S. Genetic Polymorphisms of Multidrug Resistance S-Transferase Gene and the Risk of Inflammatory Bowel Disease among Moroccan Patients. *Mediators Inflamm*. 2015.
146. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*. 2001;27(4):383-391.
147. Kim RB, Leake BF, Choo EF, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;70(2):189-199.
148. Dieckgraefe BK, Stenson WF, Korzenik JR, Swanson PE, Harrington CA. Analysis of mucosal gene expression in inflammatory bowel disease by parallel oligonucleotide arrays. *Physiol Genomics*. 2000;4(1):1-11.

149. Lawrance IC, Fiocchi C, Chakravarti S. Ulcerative colitis and Crohn's disease: distinctive gene expression profiles and novel susceptibility candidate genes. *Hum Mol Genet.* 2001;10(5):445-456.
150. Wu F, Dassopoulos T, Cope L, et al. Genome-wide gene expression differences in Crohn's disease and ulcerative colitis from endoscopic pinch biopsies: Insights into distinctive pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13(7):807-821.
151. Noble CL, Abbas a R, Cornelius J, et al. Regional variation in gene expression in the healthy colon is dysregulated in ulcerative colitis. *Gut.* 2008;57(10):1398-1405.
152. Costello CM, Mah N, Häsler R, et al. Dissection of the inflammatory bowel disease transcriptome using genome-wide cDNA microarrays. *PLoS Med.* 2005;2(8):0771-0787.
153. Ambros V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in *C. elegans*. *Cell.* 1989;57(1):49-57.
154. 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(5):843-854.
155. Ruvkun G, Giusto J. The *Caenorhabditis elegans* heterochronic gene *lin-14* encodes a nuclear protein that forms a temporal developmental switch. *Nature.* 1989;338(6213):313-319.
156. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1).
157. Griffiths-Jones S, Saini HK, Van Dongen S, Enright AJ. miRBase: Tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(SUPPL. 1).
158. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(Database issue):D140-D144.
159. Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(Database issue):D109-D111.
160. Ambros V, Bartel B, Bartel DP, et al. A uniform system for microRNA annotation. *RNA.* 2003;9(3):277-279.
161. Meyers BC, Axtell MJ, Bartel B, et al. Criteria for annotation of plant MicroRNAs. *Plant Cell.* 2008;20(12):3186-3190.

162. Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, Bartel DP. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature*. 2010;466(7308):835-840.
163. Bartel DP. MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*. 2009;136(2):215-233.
164. Vasudevan S, Tong Y SJ. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science (80-)*. 2007;318:1931-1934.
165. Friedman RC, Farh K, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009;19(1):92-105.
166. Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of Mammalian MicroRNA Targets. *Cell*. 2003;115(7):787-798.
167. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005;120(1):15-20.
168. Libri V, Miesen P, Van Rij RP, Buck AH. Regulation of microRNA biogenesis and turnover by animals and their viruses. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(19):3525-3544.
169. Ozsolak F, Poling LL, Wang Z, et al. Chromatin structure analyses identify miRNA promoters. *Genes Dev*. 2008;22(22):3172-3183.
170. Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(45):17719-17724.
171. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003;425(6956):415-419.
172. Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H, Kim VN. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*. 2004;18(24):3016-3027.
173. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*. 2003;17(24):3011-3016.
174. Zeng Y, Cullen BR. Structural requirements for pre-microRNA binding and nuclear export by Exportin 5. *Nucleic Acids Res*. 2004;32(16):4776-4785.
175. Du T, Zamore PD. microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development*. 2005;132(21):4645-4652.

176. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the Root of miRNA-Mediated Gene Silencing. *Cell*. 2008;132(1):9-14.
177. Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: Crucial regulators in immune response. *Autoimmun Rev*. 2012;11(5):305-314.
178. Guarnieri DJ, DiLeone RJ. MicroRNAs: a new class of gene regulators. *Ann Med*. 2008;40(3):197-208.
179. Biton M, Levin A, Slyper M, et al. Epithelial microRNAs regulate gut mucosal immunity via epithelium-T cell crosstalk. *Nat Immunol*. 2011;12(3):239-246.
180. Wu F, Zikusoka M, Trindade A, et al. MicroRNAs Are Differentially Expressed in Ulcerative Colitis and Alter Expression of Macrophage Inflammatory Peptide-2 alpha. *Gastroenterology*. 2008;135(5):1624-1635.
181. Wu F, Guo NJ, Tian H, et al. Peripheral blood MicroRNAs distinguish active ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(1):241-250.
182. Paraskevi A, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Mantzaris G, Nikiteas N GM. Circulating MicroRNA in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2012;6(9):900-904.
183. Duttagupta R, DiRienzo S, Jiang R, et al. Genome-wide maps of circulating miRNA biomarkers for Ulcerative Colitis. *PLoS One*. 2012;7(2).
184. Krissansen GW, Yang Y, McQueen FM, et al. Overexpression of miR-595 and miR-1246 in the sera of patients with active forms of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(3):520-530.
185. Chen G, Cao S, Liu F, Liu Y. miR-195 plays a role in steroid resistance of ulcerative colitis by targeting Smad7. *Biochem J*. 2015;471(3):357-367.
186. Takagi T, Naito Y, Mizushima K, et al. Increased expression of microRNA in the inflamed colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010.
187. Fasseu M, Tréton X, Guichard 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(10).
188. Bian Z, Li L, Cui J, et al. Role of miR-150-targeting c-Myb in colonic epithelial disruption during dextran sulphate sodium-induced murine experimental colitis and human ulcerative colitis. *J Pathol*. 2011;225(4):544-553.

189. Pekow JR, Dougherty U, Mustafi R, et al. miR-143 and miR-145 are down-regulated in ulcerative colitis: putative regulators of inflammation and protooncogenes. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(1):94-100.
190. Coskun M, Bjerrum JT, Seidelin JB, Troelsen JT, Olsen J NO. miR-20b, miR-98, miR-125b-1*, and let-7e* as new potential diagnostic biomarkers in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(27):4289-4299.
191. Van Der Goten J, Vanhove W, Lemaire K, et al. Integrated miRNA and mRNA expression profiling in inflamed colon of patients with ulcerative colitis. *PLoS One*. 2014;9(12).
192. Zahm AM, Hand NJ, Tsoucas DM, Le Guen CL, Baldassano RN, Friedman JR. Rectal microRNAs are perturbed in pediatric inflammatory bowel disease of the colon. *J Crohn's Colitis*. 2014;8(9):1108-1117.
193. Koukos G, Polytarchou C, Kaplan JL, et al. A microRNA signature in pediatric ulcerative colitis: deregulation of the miR-4284/CXCL5 pathway in the intestinal epithelium. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(5):996-1005.
194. Nguyen HT, Dalmasso G, Yan Y, et al. MicroRNA-7 modulates CD98 expression during intestinal epithelial cell differentiation. *J Biol Chem*. 2010;285(2):1479-1489.
195. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, et al. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet*. 2011;43(3):242-245.
196. Xue X, Feng T, Yao S, et al. Microbiota downregulates dendritic cell expression of miR-10a, which targets IL-12/IL-23p40. *J Immunol*. 2011;187(11):5879-5886.
197. Feng X, Wang H, Ye S, et al. Up-Regulation of microRNA-126 May Contribute to Pathogenesis of Ulcerative Colitis via Regulating NF-kappaB Inhibitor IKB-alfa. *PLoS One*. 2012;7(12).
198. Brain O, Owens BMJ, Pichulik T, et al. The intracellular sensor NOD2 induces microrna-29 expression in human dendritic cells to limit IL-23 release. *Immunity*. 2013;39(3):521-536.
199. Nata T, Fujiya M, Ueno N, et al. MicroRNA-146b improves intestinal injury in mouse colitis by activating nuclear factor-kB and improving epithelial barrier function. *J Gene Med*. 2013;15(6-7):249-260.
200. Chen B, She S, Li D, et al. Role of miR-19a targeting TNF- α in mediating ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*. 2013;48(7):815-824.

201. Chen Y, Xiao Y, Ge W, et al. miR-200b inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and promotes growth of intestinal epithelial cells. *Cell Death Dis.* 2013;4:e541.
202. Koukos G, Polytaichou C, Kaplan JL, et al. MicroRNA-124 regulates STAT3 expression and is down-regulated in colon tissues of pediatric patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2013;145(4).
203. Shi C, Liang Y, Yang J, et al. MicroRNA-21 Knockout Improve the Survival Rate in DSS Induced Fatal Colitis through Protecting against Inflammation and Tissue Injury. *PLoS One.* 2013;8(6).
204. Yang Y, Ma Y, Shi C, et al. Overexpression of miR-21 in patients with ulcerative colitis impairs intestinal epithelial barrier function through targeting the Rho GTPase RhoB. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;434(4):746-752.
205. Ludwig K, Fassan M, Mescoli C, et al. PDCD4/miR-21 dysregulation in inflammatory bowel disease-associated carcinogenesis. *Virchows Arch.* 2013;462(1):57-63.
206. Zhai Z, Wu F, Dong F, Chuang AY, Messer JS, Boone DL. Human autophagy gene ATG16L1 is post-transcriptionally regulated by MIR142-3p. *Autophagy.* 2014;10(3):468-479.
207. Lu C, Chen J, Xu HG, et al. MIR106B and MIR93 prevent removal of bacteria from epithelial cells by disrupting ATG16L1-mediated autophagy. *Gastroenterology.* 2014;146(1):188-199.
208. Chuang AY, Chuang JC, Zhai Z, Wu F, Kwon JH. NOD2 expression is regulated by microRNAs in colonic epithelial HCT116 cells. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(1):126-135.
209. Singh U, Murphy A, Enos R, et al. miR-155 deficiency protects mice from experimental colitis by reducing T helper type 1/type 17 responses. *Immunology.* 2014;143(3):478-489.
210. Wu F, Dong F, Arendovich N, Zhang J, Huang Y, Kwon JH. Divergent influence of microRNA-21 deletion on murine colitis phenotypes. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(11):1972-1985.
211. Nguyen HTT, Dalmasso G, Müller S, Carrière J, Seibold F, Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated adherent invasive escherichia coli modulate levels of microRNAs in intestinal epithelial cells to reduce autophagy. *Gastroenterology.* 2014;146(2):508-519.
212. Wang H, Flach H, Onizawa M, Wei L, McManus M. Negative regulation of Hif1a expression and TH17 differentiation by the hypoxia-regulated microRNA miR-210. *Nat Immunol.* 2014;15(4):393-401.

213. Lv B, Liu Z, Wang S, et al. miR-29a promotes intestinal epithelial apoptosis in ulcerative colitis by down-regulating Mcl-1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(12):8542-8552.
214. Min M, Peng L, Yang Y, Guo M, Wang W SG. MicroRNA-155 is involved in the pathogenesis of ulcerative colitis by targeting FOXO3a. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(4):652-659.
215. Hu Z, Chen J, Tian T, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest.* 2008;118(7):2600-2608. doi:10.1172/JCI34934.
216. Okubo M, Tahara T, Shibata T, et al. Association study of common genetic variants in pre-microRNAs in patients with ulcerative colitis. *J Clin Immunol.* 2011;31(1):69-73.
217. Gazouli M, Papaconstantinou I, Stamatis K, et al. Association study of genetic variants in miRNAs in patients with inflammatory bowel disease: Preliminary results. *Dig Dis Sci.* 2013;58(8):2324-2328.
218. Zwiers A, Kraal L, van de Pouw Kraan T, Wurdinger T, Bouma G, Kraal G. Cutting edge: a variant of the IL-23R gene associated with inflammatory bowel disease induces loss of microRNA regulation and enhanced protein production. *J Immunol.* 2012;188(4):1573-1577.
219. Slaby O, Svoboda M, Michalek J, Vyzula R. MicroRNAs in colorectal cancer: translation of molecular biology into clinical application. *Mol Cancer.* 2009;8:102.
220. Chen Y, Kitabayashi N, Zhou X, Fahey T. MicroRNA analysis as a potential diagnostic tool for papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2008;21(9):1139-1146.
221. Lu S, Mukkada VA, Mangray S, et al. MicroRNA profiling in mucosal biopsies of eosinophilic esophagitis patients pre and post treatment with steroids and relationship with mRNA targets. *PLoS One.* 2012;7(7).
222. Du P, Kibbe WA, Lin SM. lumi: A pipeline for processing Illumina microarray. *Bioinformatics.* 2008;24(13):1547-1548.
223. Smyth GK. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. *Stat Appl Genet Mol Biol.* 2004;3:Article3.
224. Garcia DM, Baek D, Shin C, Bell GW, Grimson A, Bartel DP. Weak seed-pairing stability and high target-site abundance decrease the proficiency of Isy-6 and other microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.* 2011;18(10):1139-1146.

225. Wong N, Wang X. miRDB: An online resource for microRNA target prediction and functional annotations. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(D1):D146-D152.
226. Wang X. Improving microRNA target prediction by modeling with unambiguously identified microRNA-target pairs from CLIP-Ligation studies. *Bioinformatics.* 2016:1-7.
227. Wang X, El Naqa IM. Prediction of both conserved and nonconserved microRNA targets in animals. *Bioinformatics.* 2008;24(3):325-332.
228. Wang X. miRDB: A microRNA target prediction and functional annotation database with a wiki interface. *Rna.* 2008;14:1012-1017.
229. Tabas-Madrid D, Nogales-Cadenas R, Pascual-Montano A. GeneCodis3: A non-redundant and modular enrichment analysis tool for functional genomics. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(W1):478-483.
230. Nogales-Cadenas R, Carmona-Saez P, Vazquez M, et al. GeneCodis: Interpreting gene lists through enrichment analysis and integration of diverse biological information. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(SUPPL. 2):317-322.
231. Carmona-Saez P, Chagoyen M, Tirado F, Carazo JM, Pascual-Montano A. GENECODIS: a web-based tool for finding significant concurrent annotations in gene lists. *Genome Biol.* 2007;8(1):R3.
232. Kanehisa M, Sato Y, Kawashima M, Furumichi M, Tanabe M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D457-D462.
233. Kanehisa M, Goto T. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):27-30.
234. Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. MiRWalk - Database: Prediction of possible miRNA binding sites by “walking” the genes of three genomes. *J Biomed Inform.* 2011;44(5):839-847.
235. Sofer A, Lei K, Johannessen CM, Ellisen LW. Regulation of mTOR and Cell Growth in Response to Energy Stress by REDD1. *Cell Growth.* 2005;25(14):5834-5845.
236. Gallagher LE, Williamson LE. Advances in Autophagy Regulatory Mechanisms. *Cells.* 2016;5(2).
237. Li N, Chen CC. Mammalian target of rapamycin complex (mTOR) pathway modulates blood-testis barrier (BTB) function through F-actin organization and gap junction. *Histol Histopathol.* 2016;31(9):961-968.

238. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev.* 2004;18(16):1926-1945.
239. Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature.* 2013;495 VN - (7441):333-338.
240. Baida G, Bhalla P, Kirsanov K, et al. REDD1 functions at the crossroads between the therapeutic and adverse effects of topical glucocorticoids. *EMBO Mol Med.* 2015;7(1):42-58.
241. Wolff NC, McKay RM BJ. REDD1/DDIT4-independent mTORC1 Inhibition and Apoptosis by Glucocorticoids in Thymocytes. *Mol Cancer Res.* 2014;12(6):867-877.
242. Otulakowski G, Duan W, Sarangapani A, Gandhi S, O'Brodovich H. Glucocorticoid-mediated repression of REDD1 mRNA expression in rat fetal distal lung epithelial cells. *Pediatr Res.* 2009;65(5):514-519.
243. Corradetti MN, Inoki K, Guan KL. The stress-induced proteins RTP801 and RTP801L are negative regulators of the mammalian target of rapamycin pathway. *J Biol Chem.* 2005;280(11):9769-9772.
244. Burakoff R, Pabby V, Onyewadume L, et al. Blood-based biomarkers used to predict disease activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(5):1132-1140.
245. Chua EW, Cree S, Barclay ML, et al. Exome sequencing and array-based comparative genomic hybridisation analysis of preferential 6-methylmercaptapurine producers. *Pharmacogenomics J.* 2015;(January 2014):1-8.
246. Prescott NJ, Lehne B, Stone K, et al. Pooled Sequencing of 531 Genes in Inflammatory Bowel Disease Identifies an Associated Rare Variant in BTNL2 and Implicates Other Immune Related Genes. *PLoS Genet.* 2015;11(2):1-19.
247. Baskaran K, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. Association of IRGM gene mutations with inflammatory bowel disease in the Indian population. *PLoS One.* 2014;9(9):1-9.
248. Beaudoin M, Goyette P, Boucher G, et al. Deep Resequencing of GWAS Loci Identifies Rare Variants in CARD9, IL23R and RNF186 That Are Associated with Ulcerative Colitis. *PLoS Genet.* 2013;9(9).
249. Cook JR, MacIntyre DA, Samara E, et al. Exogenous oxytocin modulates human myometrial microRNAs. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(1):65.e1-e65.e9.

250. Li NA, Wang W, Xu B, Gong H. miR-196b regulates gastric cancer cell proliferation and invasion via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Oncol Lett.* 2016;11(3):1745-1749.
251. Micevic G, Muthusamy V, Damsky W, et al. DNMT3b Modulates Melanoma Growth by Controlling Levels of mTORC2 Component RICTOR. *Cell Rep.* 2016;14(9):2180-2192.
252. Micolucci L, Akhtar MM, Olivieri F, Rippo MR. Diagnostic value of microRNAs in asbestos exposure and malignant mesothelioma: systematic review and qualitative meta-analysis. *Oncotarget.* 2016.
253. Kirschner MB, Cheng YY, Badrian B, et al. Increased circulating miR-625-3p: a potential biomarker for patients with malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2012;7(7):1184-1191.
254. Rasmussen MH, Jensen NF, Tarpgaard LS, et al. High expression of microRNA-625-3p is associated with poor response to first-line oxaliplatin based treatment of metastatic colorectal cancer. *Mol Oncol.* 2013;7(3):637-646.
255. Raitoharju E, Seppälä I, Oksala N, et al. Blood microRNA profile associates with the levels of serum lipids and metabolites associated with glucose metabolism and insulin resistance and pinpoints pathways underlying metabolic syndrome: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;391(1-2):41-49.
256. Wang Y, Ballar P, Zhong Y, et al. SVIP induces localization of p97/VCP to the plasma and lysosomal membranes and regulates autophagy. *PLoS One.* 2011;6(8):e24478.
257. Oz-Levi D, Gelman A, Elazar Z, Lancet D. TECPR2: A new autophagy link for neurodegeneration. *Autophagy.* 2013;9(5):801-802.
258. Rainer J, Ploner C, Jesacher S, et al. Glucocorticoid-regulated microRNAs and mirtrons in acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund, UK.* 2009;23(4):746-752.
259. Molitoris JK, McColl KS, Distelhorst CW. Glucocorticoid-mediated repression of the oncogenic microRNA cluster miR-17~92 contributes to the induction of Bim and initiation of apoptosis. *Mol Endocrinol.* 2011;25(3):409-420.
260. Harada M, Pokrovskaja-Tamm K, Söderhäll S, Heyman M, Grander D, Corcoran M. Involvement of miR17 pathway in glucocorticoid-induced cell death in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2012;53(10):2041-2050.

261. Yan J, Jiang N, Huang G, et al. Deregulated MIR335 that targets MAPK1 is implicated in poor outcome of paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2013;163(1):93-103.
262. Smith LK, Shah RR, Cidlowski JA. Glucocorticoids modulate microRNA expression and processing during lymphocyte apoptosis. *J Biol Chem*. 2010;285(47):36698-36708.
263. Ledderose C, Möhnle P, Limbeck E, et al. Corticosteroid resistance in sepsis is influenced by microRNA-124--induced downregulation of glucocorticoid receptor- α . *Crit Care Med*. 2012;40(10):2745-2753.
264. Tang R, Pei L, Bai T WJ. Down-regulation of microRNA-126-5p contributes to overexpression of VEGFA in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Biotechnol Lett*. 2016;38(8):1277-1284.
265. Algaba A, Linares PM, Fernandez-Contreras ME, et al. Relationship between levels of angiogenic and lymphangiogenic factors and the endoscopic, histological and clinical activity, and acute-phase reactants in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis*. 2013;7(11).
266. Zheng Y, Li S, Ding Y, et al. The role of miR-18a in gastric cancer angiogenesis. *Hepatogastroenterology*. 2013;60(127):1809-1813.
267. Deore V, Yewalkar N, Bhatia D, et al. Synthesis and therapeutic evaluation of pyridyl based novel mTOR inhibitors. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2009;19(11):2949-2952.
268. Schuster AT, Homer CR, Kemp JR, et al. Chromosome-associated protein D3 promotes bacterial clearance in human intestinal epithelial cells by repressing expression of amino acid transporters. *Gastroenterology*. 2015;148(7):1405-1416.e3.