

GENES INVOLUCRADOS EN METABOLISMO LIPÍDICO Y

**RESPUESTA INMUNE INNATA, ASOCIADOS A ANCESTRALIDAD
AFRICANA, CONFIEREN PROTECCIÓN CONTRA DENGUE
HEMORRÁGICO**

UNIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Laboratório Imunologia Celular y
Laboratório Arbovirus, Departamento Virología, Instituto de Medicina Tropical
"Pedro Kourí"

AUTORA PRINCIPAL: Dra. Beatriz Sierra Vázquez. IPK

OTROS AUTORES: Dra. Ana Beatriz Pérez Díaz, Lic. Gissel García Menéndez, Téc.
Eglys Aguirre Pérez, Lic. Mayling Alvarez, Dra. Maria G. Guzmán Tirado, Lic. Didye Ruiz,
Luis Morier, Prof. Gustavo Kourí.

COLABORADORES:

(iii) Lic. Oney Ortega, MsC (iii) Lic. Alienys Izquierdo, DrC, (iii) Dr. Pedro Ariel
Martínez, DrC (iii) Lic. Ayna Mendez, MsC (iii) Lic. Alicia Aguilar (iii) Lic. Hermis
Rodríguez (iii) Lic. Emidalys Santana.

UNIDADES COLABORADORAS:

-Unidad de Genética Funcional de enfermedades infecciosas, Instituto
Pasteur, Paris, Francia

-Instituto de Inmunología Molecular y Patología, Universidad de Oporto, Portugal

- Departamento de Fisiología Molecular y Biofísica, Escuela de Medicina de la
Universidad de Vanderbilt, Nashville, EUA.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:

Dra. Beatriz de la C. Sierra Vázquez.

Laboratorio Inmunología Celular, Departamento de Virología. Centro de Investigación,
Diagnostico y Referencia, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

Autopista del Mediodía Km 6, Marianao 13, e/ Carretera Central y Autopista
Nacional. La Lisa, Ciudad de la Habana, Cuba. Emails:

siebet@ipk.sld.cu ; sierrab@infomed.sld.cu FAX: 537 2046051.

RESUMEN

Los diferentes grupos étnicos pueden presentar diferencias en la predisposición genética a las enfermedades infecciosas. El dengue es una de esas enfermedades, con una fuerte evidencia empírica de que la ancestralidad africana puede ser protectora contra la enfermedad severa por dengue (Fiebre hemorrágica/Síndrome de Choque por dengue: FHD/SCD). En el presente trabajo se identificaron, por ensayo de genoma amplio, los genes OSBPL10 (oxysterol binding protein-like 10), involucrado en el transporte de lípidos y el metabolismo de esteroides, y RXRA (receptor alfa del ácido retinoico) involucrado en el metabolismo lipídico y la respuesta inmune innata, significativamente asociados a ancestralidad africana e infección asintomática por dengue. La variación cinética en la expresión de ambos genes en la enfermedad por dengue fue confirmado e por PCR en tiempo real en un grupo de pacientes cubanos, y comprobado por un análisis de enriquecimiento genético empleando datos de transcriptoma de pacientes de dengue Tailandeses. Se comprobó además que ambos genes coinciden en la vía de activación LXR/RXR (Liver X receptor/ retinoid X receptor) en macrófagos, que integra metabolismo lipídico y funciones inmunológicas, siendo un factor crítico en la entrada del virus dengue en las células, su replicación y la producción de citoquinas. Finalmente se buscó una correlación directa de OSBPL10 con la replicación de dengue, comprobándose la significativa reducción en la replicación de los virus dengue en las células con este gen suprimido. Esto constituye una prueba directa de que la menor expresión en Africanos protege a este grupo ancestral contra la enfermedad severa por dengue. La población cubana actual proviene de la mezclas de africanos y europeos. Los genes OSBPL10 y RXRA parecen estar entre aquellos que, seleccionados durante la evolución, probablemente por otro flavivirus de elevada mortalidad como la fiebre amarilla, confieren resistencia contra la enfermedad severa por dengue. Este trabajo aporta nuevos genes al perfil lipídico diferencial entre africanos y europeos asociados además a resistencia a enfermedades. Permite la identificación genómica y la confirmación funcional de la protección conferida contra el dengue por los genes de ancestralidad africana OSBPL10 y RXRA, lo cual ofrece potenciales aplicaciones para el seguimiento clínico y posible aplicación terapéutica no solo contra dengue, sino contra otros flavivirus relacionados como Zika, fiebre amarilla y hepatitis C.

COMUNICACIÓN CORTA:

Introducción:

Los diferentes grupos étnicos pueden presentar diferencias en la predisposición genética a las enfermedades infecciosas. El dengue es un ejemplo de ese tipo de enfermedades. Existen varios factores de riesgo individuales cuya asociación con el riesgo o protección a desarrollar las formas severas de la enfermedad por dengue Fiebre hemorrágica/Síndrome de Choque por dengue FHD/SCD ha sido reportada a partir del análisis de las epidemias cubanas de dengue. Entre ellos resalta de forma particular la raza, en términos de ancestralidad. Interesante resulta también que existan escasos reportes de FHD en África, así como en los países caribeños de población negra, a pesar de haberse demostrado circulación del virus dengue en esas regiones. El análisis de ancestralidad global, basado en genotipificación de alto rendimiento en poblaciones con alto grado de mestizaje, permite comprobar esta hipótesis, mientras que aplicar el mapeo por mestizaje de poblaciones ancestrales (Admixture), un programa novedoso que ofrece análisis estadísticos mucho más poderosos que los que los del ensayo de genoma amplio (GWAS) tradicionales, permite identificar los genes específicos

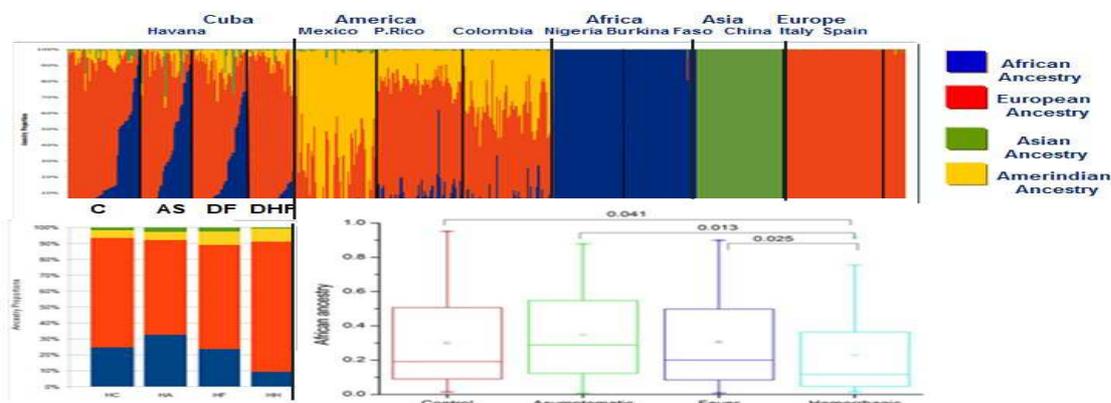
asociados a protección.

Metodología:

En el presente trabajo un grupo de individuos Cubanos con antecedentes de diferentes cuadros clínicos por dengue fueron genotipados empleando un chip de 2.5 millones de puntos polimórficos (SNPs, del inglés single nucleotide polymorphisms), incluyendo los Marcadores Informativos de Ancestralidad de varias poblaciones de diferentes partes del mundo seleccionados de la bases de genes del Proyecto de Genoma Humano. El alto grado de mestizaje de la población cubana nos permitió aplicar el mapeo ADMIXTURE por mestizaje de poblaciones ancestrales para determinar la ancestralidad global. Este es un programa novedoso que ofrece análisis estadísticos mucho más poderosos que los del ensayo de genoma amplio (GWAS) permitiendo detectar acertadamente el riesgo asociado a ancestralidad en un número de muestras de cientos, comparado con los miles requeridos en los GWAS tradicionales. Los resultados del mapeo de ancestralidad fueron empleados también para estratificar casos y controles en grupos que no diferían en más de 2% de ancestralidad africana en los análisis de asociación. La ancestralidad local fue inferida por el algoritmo RFMix algorithm.

Resultados:

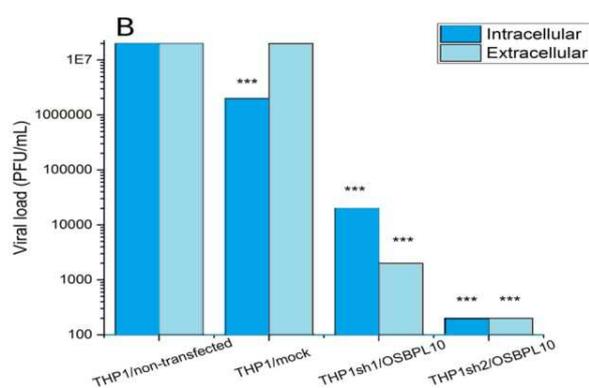
El análisis de mestizaje global que nos permitió confirmar la significativamente menor Ancestralidad Africana en el grupo de FHD y refinar y robustecer los análisis de Asociación, corrigiendo la muestra a analizar por estratificación pareando casos y controles en grupos que no diferían en más de 2% de ancestralidad africana, con una carga estadística de 2.6×10^8 .



El análisis de ancestralidad local a lo largo de los cromosomas permitió identificar las regiones precisas y los genes donde la ancestralidad africana fue significativamente mayor en individuos asintomáticos comparados con el grupo de FHD. El análisis de asociación, corregido por estratificación de ancestralidad africana permitió identificar en el grupo de los asintomáticos, 6 SNP altamente relacionados, que se extienden por 8,370 bps en el cromosoma 3, en una región que contiene el gen de OSBPL10 (oxysterol binding protein-like 10), involucrado en el transporte de lípidos y el metabolismo de esteroides. El haplotipo Africano de OSBPL10 y su región 5' contiene varios SNPs con expresión regulatoria, con grandes diferencias en frecuencia entre Africanos y Europeos, debido a fuertes eventos de selección natural.

Como resultado del estudio de genoma amplio también se encontró en el grupo de

asintomáticos una región enriquecida en ancestralidad Africana, en el cromosoma 9 conteniendo el gen de receptor alfa del ácido retinoico (RXRA). Los RXRs se han implicado en el control de una variedad de procesos fisiológicos que incluyen diferenciación celular, metabolismo de la glucosa, metabolismo lipídico respuesta inmune innata. Ambos genes encontrados, OSBPL10 y RXRA coinciden en la vía de activación LXR/RXR en macrófagos, relacionada con el metabolismo del colesterol y la producción de citoquinas en macrófagos. Finalmente se buscó una correlación directa de OSBPL10 con la replicación de dengue, comprobándose la significativa reducción en la replicación de los virus dengue y Zika en las células con este gen suprimido.



CONCLUSIÓN:

La población africana y europea estuvieron expuestas a diferentes fuerzas de selección natural siendo las enfermedades epidémicas infecciosas una de las más importantes este pudiera ser el caso de las diferencias observadas en la severidad de la enfermedad por dengue en los diferentes grupos étnicos cubanos, donde los genes que regulan la severidad por dengue pudieran estar desigualmente distribuido entre los diferentes grupos. Considerando que la población cubana actual proviene de la mezclas de africanos y europeos que la fiebre amarilla y el dengue, así como sus vectores tiene un origen africano, estos genes pudieran estar entre aquellos que, moldeados durante el proceso evolutivo por un flavivirus de elevada mortalidad como la fiebre amarilla, confieren resistencia contra la enfermedad severa por dengue y probablemente también contra HCV y Zika y que nos fueron transmitidos como un legado por nuestros ancestros africanos.

IMPACTOS Y APLICACIONES:

1. Este trabajo constituye la primera demostración a nivel de genoma humano de la asociación de Ancestralidad Africana con la protección a padecer el dengue grave.
2. Permitió la identificación genómica y la confirmación funcional de la protección conferida contra el dengue por los genes de ancestralidad africana OSBPL10, RXRA, involucrados en metabolismo lipídico y respuesta inmune innata.
3. La asociación de genes de metabolismo lipídico con protección a dengue grave ofrece potenciales aplicaciones para el seguimiento clínico y posible aplicación terapéutica no solo contra dengue, sino contra otros flavivirus relacionados como Zika, fiebre amarilla y hepatitis C.

Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba Vol. 8 No. 1

4. Se demostró signos de selección positiva en el gene OSBPL10 en población Yoruba africana, confirmada en individuos asintomáticos ante la infección por dengue en población cubana

5. Se aporta el conocimiento de nuevos genes al perfil lipídico diferencial entre africanos y europeos asociados además a resistencia a enfermedades

6. Se logró Identificar la vía funcional en la cual convergen ambos genes: LXR/RXR en macrófagos, ofreciendo oportunidades terapéuticas que involucren ligandos sintéticos de receptores o inhibidores de kinasas que interactúen con proteínas involucradas en metabolismo lipídico.

7. Nuestros resultados se potencian al ofrecer una explicación comprensiva para diferentes observaciones independientes hechas sobre asociaciones de genes con la enfermedad por dengue en otras poblaciones, a través de la relación funcional de RXRA con los genes descritos.