



Estudio transcriptómico multitejido en la enfermedad severa por dengue: análisis *in silico* de posibles drogas para su manejo

Beatriz Sierra Vázquez ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-0164-3353>
Ana Beatriz Pérez Díaz ¹ <https://orcid.org/0000-0002-0468-0213>
Claudia Bracho Cardentey ¹ <https://orcid.org/0000-0001-6798-9835>
Eglis Aguirre Pérez ¹ <https://orcid.org/0000-0003-1834-9983>
Mayling Álvarez Vera ¹ <https://orcid.org/0000-0002-8811-455X>
María Guadalupe Guzmán Tirado ^{1,2} <https://orcid.org/0000-0003-3927-0844>
Halina Pérez Alvarez ⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3682-9147>
Ana Cristina Magalhães ³ <https://orcid.org/0000-0002-3988-3280>
Daniel Soares ³ <https://orcid.org/0000-0001-7502-8073>
Bruno Cavadas ³ <https://orcid.org/0000-0003-4104-5398>
Luisa Pereira ³ <https://orcid.org/0000-0002-4271-1527>

¹ Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba

² Academia de Ciencias de Cuba. La Habana, Cuba

³ Instituto de Patología e Inmunología Molecular, Universidad de Porto. Oporto, Portugal

⁴ Instituto Cubano de Medicina Legal. La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: siebet@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: El dengue constituye un grave y creciente problema de salud a nivel mundial, sin que exista un tratamiento antiviral específico que permita controlar tempranamente la infección. Existen pocos análisis transcriptómicos de dengue y ninguno en tejidos. Nuestro objetivo fue identificar fármacos efectivos contra la enfermedad del dengue mediante la aplicación de una investigación *in silico* a partir de un estudio transcriptómico en células sanguíneas de individuos con fiebre hemorrágica por dengue; y en células hepáticas y esplénicas de individuos fallecidos por dengue. Métodos: Para el estudio de transcriptoma se empleó secuenciación de última generación. La expresión diferenciada de genes se evaluó empleando el paquete R DESeq2. La modificación de las vías moleculares modificadas se analizó empleando las bases de vías de interacción de genes Gene Ontology y Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome. Para los análisis *in silico* de reposicionamiento de fármacos se trabajó con base de datos CMap Touchstone, conteniendo datos de perturbación de 2837 compuestos evaluados en 9 líneas celulares humanas. Resultados: Los genes y vías biológicas sobre expresados en células hepáticas esplénicas y sanguíneas fueron los asociados a la inflamación, la destrucción celular y la apoptosis, y los procesos de replicación viral; y se subexpresaron aquellos asociados al metabolismo celular, la respuesta antiviral, y la

Revisores

Enrique Rogelio Arús Soler
Instituto Nacional de Gastroenterología.
La Habana, Cuba

Juan de J. Llibre Rodríguez
Universidad de Ciencias Médicas de la
Habana. La Habana, Cuba

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

respuesta a patógenos. Se identificaron 203 compuestos con impacto potencial en los efectos de la infección por dengue, y 4 mecanismos de acción diferenciadamente expresados entre casos y controles en los 3 tejidos estudiados. Como conclusiones el presente trabajo constituye el primer estudio de transcriptoma en tejidos de casos fallecidos por dengue y el primer análisis *in silico* para reposicionamiento de drogas, y permitió identificar un importante número de fármacos conocidos que constituyen posibles candidatos para ser evaluados en el futuro en el tratamiento de la enfermedad por dengue.

Palabras Clave: dengue; transcriptoma; reposicionamiento de fármacos; expresión de genes

Multi-Tissue Transcriptomic study in dengue severe disease: *In silico* analysis of possible drugs for its management

ABSTRACT

Introduction: Dengue is a serious and growing health problem worldwide, without a specific antiviral treatment that allows early control of the infection. There are few transcriptomic analyzes of dengue and none in tissues. Our objective was to identify effective drugs against dengue disease by applying *in silico* investigation from a transcriptomic study in blood cells of individuals with dengue hemorrhagic fever and in liver and spleen cells of individuals who died from dengue. **Methods:** It was used Next Generation Sequencing for the transcriptome study. It was assessed differentiated gene expression using the R DESeq2 package. They were analyzed modified molecular pathways using the gene interaction pathway bases Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome. For the *in silico* analysis of drug repositioning, it was used the CMap Touchstone database containing perturbation data of 2837 compounds evaluated in 9 human cell lines. **Results:** The genes and biological pathways overexpressed in splenic and blood liver cells were those associated with inflammation, cell destruction, apoptosis and viral replication processes; they were underexpressed those associated with cellular metabolism, antiviral response, and response to pathogens. They were identified 203 compounds with potential impact on the effects of dengue infection, and 4 differently expressed mechanisms of action between cases and controls in the 3 tissues studied. **Conclusions:** the present work constitutes the first transcriptome study in tissues of deceased patients due to dengue and the first *in silico* analysis for drug repositioning; it also allowed the identification of an important number of known drugs that constitute possible candidates to be evaluated in the future in the treatment of dengue disease.

Keywords: dengue; transcriptome; drugs repositioning; genes expression

INTRODUCCIÓN

Los síntomas de la enfermedad por dengue reflejan las diferentes alteraciones que ocurren tras la infección en órganos importantes como el hígado, el bazo y el encéfalo. El hígado muestra signos de inflamación, compromiso circulatorio, hipoxia e hipotensión, y alteraciones funcionales evidenciadas por la elevación de las transaminasas. ^(1,2) El bazo también resulta afectado, observándose inflamación y en ocasiones ruptura esplénica, la cual puede resultar fatal sino se trata inmediatamente con cirugía. ⁽³⁾ El encéfalo también resulta

afectado, observándose encefalopatía, encefalitis, encefalomiелitis aguda diseminada entre otras. ⁽⁴⁾ Se hacen necesarios entonces estudios adicionales para elucidar los mecanismos locales involucrados en estas afectaciones.

El conocimiento del transcriptoma y su regulación es fundamental para la interpretación articulada de los diversos constituyentes moleculares que integran la red de respuesta génica ante un determinado evento inductor, como los que se presentan en interacciones hospedero-patógeno. Las plataformas de secuenciación de nueva generación pueden

usarse para potenciar los estudios de transcriptoma a través del RNA-seq como herramienta transcriptómica que permite el secuenciamiento masivo de ADN o ARN, y hace posible obtener perfiles de expresión génica, ofreciendo grandes posibilidades para profundizar en el entendimiento de los mecanismos que se activan durante las interacciones hospedero-patógeno. ⁽⁵⁾

Existen pocos análisis transcriptómicos de dengue, que se han realizado en poblaciones de Asia y Sur-América, para diferentes fenotipos o fases de la enfermedad, en sangre o líneas celulares, y ninguno en tejidos. La comparación de los perfiles transcriptómicos en tejidos de casos de dengue y controles puede proporcionar información importante sobre los mecanismos biológicos de interacción entre hospedero y patógeno en los diferentes tejidos, ayudando a comprender la pato-fisiología de la enfermedad. ⁽⁶⁻¹¹⁾

Por otra parte, no existen un tratamiento antiviral específico para el dengue, y, básicamente, el paciente recibe tratamiento para minimizar y manejar los síntomas, y evitar las complicaciones de la extravasación de plasma. ⁽¹²⁾ Resulta entonces de gran interés contar con un fármaco que pueda controlar tempranamente la infección, y evitar el desarrollo de la enfermedad.

El proceso a ir de la investigación inicial a la aprobación de un fármaco es largo, costoso, y de alto riesgo. Como consecuencia, el número de nuevas drogas potenciales que se conviertan en fármacos aprobados para su uso es extremadamente bajo.

De forma generalizada, en biología y química se utiliza el término de técnicas *in silico* para referirse a simulaciones, modelizaciones, experimentos o análisis que se realizan por ordenador mediante algoritmos de simulación y predicción computacional. Las técnicas *in silico* permiten el análisis masivo y riguroso de procesos celulares realizados por un microorganismo, generando predicciones sobre posibles eventos moleculares con un alto grado de confiabilidad. El reposicionamiento de fármacos (del inglés, *drug repurposing* o *repositioning*) es una estrategia mediante la cual se identifican nuevos compuestos o drogas a partir de su capacidad para tratar enfermedades distintas de aquellas para las que fueron diseñadas originalmente. Esta estrategia permite la disminución de tiempo y costos en esta fase del proceso de descubrimiento o desarrollo de medicamentos. Una de sus aplicaciones de las técnicas *in silico* es precisamente el reposicionamiento de fármacos, facilitando la identificación de moléculas que puedan ser dianas de la acción de medicamentos. ⁽¹³⁾

La base de datos CMap es un ejemplo de herramienta útil para el descubrimiento de drogas *in silico*, construida con la

información de los perfiles de expresión genética, y de rutas de señalización y rutas metabólicas, de tejidos tratados con numerosas drogas. ⁽¹⁴⁾ Esta base contiene la información de miles de fármacos aplicados a 5 líneas celulares humanas. (MCF7, PC3, SKMEL5, HL60 y ssMCF7).

CMap permite conocer las drogas relacionadas con el patrón de expresión genética (genes sobreexpresados o suprimidos) de una enfermedad determinada, a través del cálculo del factor de conectividad tau (τ), que compara las perturbaciones del análisis transcriptómico con las de los compuestos en las líneas celulares.

El factor τ negativo: perfiles de perturbación inversos (los genes sobre expresados en la enfermedad se subexpresan por efecto del fármaco) posible utilidad del compuesto en esa condición. ⁽¹⁴⁾

En el presente trabajo nos referiremos al trabajo de Sierra y colaboradores, ⁽¹⁵⁾ quienes desarrollaron un análisis transcriptómico, empleando secuenciación de nueva generación, de tejidos de bazo e hígado de individuos fallecidos y células sanguíneas de pacientes con diagnóstico de enfermedad severa por dengue. Además, se exploraron los genes y vías moleculares diferenciadamente expresados entre casos y controles en cada tejido estudiado, y se evaluó por CMap que drogas podrían interferir con los perfiles de expresión de genes de casos comparados con controles en cada uno de los tejidos estudiados, y se identificaron mecanismos de acción comunes entre las células de los diferentes tejidos, con dianas para fármacos ya existentes, capaces de contrarrestar los efectos del dengue severo en los tejidos estudiados.

MÉTODOS

Muestras biológicas y procesamiento de laboratorio.

Se colectaron *postmortem* muestras de tejidos de 5 individuos fallecidos con diagnóstico confirmado de dengue severo, y de 3 individuos fallecidos por causas repentinas, con antecedentes de salud, durante autopsia de rutina en el Instituto de Medicina Legal. El ARN mensajero fue extraído usando un método de columna (RNeasyProtect Mini kit, Qiagen, Hilden, Germany). La evaluación de la expresión de genes se hizo por Next Generation Sequencing, usando Ion AmpliSeq Transcriptome Human Gene Expression Kit, Ion 550TM Chip kit and Ion S5TM XL System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Análisis y procesamiento de datos. Se trabajó con la base de datos viscrRNA-Seq dataset (Transcriptoma de tejido hepático infectado con dengue) (ID: GSE110496), y las bases de datos por transcriptoma por microarreglo, de células sanguíneas de pacientes con FHD y controles de Brasil (ID: GSE18090) y Thailandia (ID: GSE51808) a partir de sitio

Gene Expression Omnibus (GEO). La evaluación de la expresión diferenciada de genes (AmpliSeq) entre casos y controles se realizó para cada tejido individualmente, empleando el paquete R DESeq2.

El análisis de enriquecimiento de datos de grupos de genes (Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)) se hizo empleando las bases de vías de interacción de genes Gene Ontology (GO) y Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome (KEGG). Los gráficos para los perfiles de expresión (Volcano plots) se crearon empleando los paquetes R "ggplot2" y "ggrepel". Los gráficos que expresan los genes sobreexpresados y subexpresados entre las bases de datos se generaron empleando el paquete R "VennDiagram".

Análisis in silico de reposicionamiento de drogas. Se empleó un programa de mapa de conectividad (CMap Query tool from clue.io (<https://clue.io/query>; consultado el 27 de enero de 2021). Se trabajó con base de datos CMap Touchstone, conteniendo datos de perturbación de 2837 compuestos evaluados en 9 líneas celulares humanas: A375 (melanoma), A549 (carcinoma de pulmón), HCC515 (adenocarcinoma de pulmón), HEPG2 (carcinoma hepatocelular), MCF7 (adenocarcinoma mama), PC3 (adenocarcinoma de prostata), VCAP (metástasis de próstata), HT29 (adenocarcinoma colorectal), y HA1E (epitelio riñón inmortalizado). Se consideraron los valores de τ menores de -90 como drogas potenciales para revertir los efectos biológicos de la infección por dengue en los tejidos estudiados.

RESULTADOS

Perfiles de expresión en hígado, bazo y encéfalo de casos fatales por dengue

La caracterización por AmpliSeq del ARN extraído de los tejidos permite 10 millones de lecturas por muestra, sin embargo, la cantidad inicial de lecturas obtenidas de nuestros tejidos fue baja (entre 1 410 487 y 9 239 028, con una media de 5 412 203), y no se observó efecto dependiendo del tejido: La media de las lecturas iniciales fue muy similar (5 987 967 en bazo, 5 136 132 en encéfalo y 5 077 912 en hígado). Se realizó entonces un análisis de componente principal (PCA) para evaluar si las muestras se agrupaban de acuerdo al tejido de origen, observándose que las muestras de bazo fueron las únicas que se agruparon, mostrando diferencias entre casos y controles. Las muestras de hígado y encéfalo presentaron una gran variabilidad, no agrupándose de acuerdo al estado de casos y controles. El tiempo transcurrido entre la muerte y la colecta del tejido puede haber interferido con la calidad del ARN en encéfalo e hígado, los cuáles son tejidos con rápida degradación. ⁽¹⁶⁾

Bases de datos de transcriptoma empleadas en los análisis

Se realizó una búsqueda bibliográfica de bases de datos de transcriptoma y dengue, con el objetivo de suplementar y comparar con nuestros resultados. Se obtuvieron solo 3 estudios de la base de datos Gene Expression Omnibus (GEO): ⁽¹⁷⁾ Células de línea de hígado (hepatoma) (Huh7) infectadas por dengue (ID: GSE110496). ⁽¹⁸⁾ Células mononucleares periféricas de pacientes con FHD y controles de Brasil (ID: GSE18090) ⁽⁶⁾ Células sanguíneas totales de pacientes con FHD y controles de Tailandia (ID: GSE51808) ⁽¹⁰⁾

Expresión diferenciada de genes

Se identificaron 23 genes sobreexpresados y 89 genes suprimidos en el bazo, y 1069 genes sobreexpresados y 1319 suprimidos en el hígado. Las células sanguíneas totales mostraron 4850 genes sobreexpresados y 4380 suprimidos. Las células mononucleares de sangre periférica mostraron 226 genes sobreexpresados y 85 suprimidos. Fueron 208 los genes sobreexpresados y 54 genes los suprimidos, compartidos por ambas bases de datos.

Análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes (GO y KEGG)

Tejidos de casos fatales por dengue. Se observó una sobreexpresión de las vías biológicas asociadas a la inflamación, la destrucción celular y la apoptosis, así como a los procesos de replicación viral. Se observó una sub expresión de las vías biológicas asociadas al metabolismo celular y la respuesta antiviral, tanto de inhibición de la replicación como de respuesta inmune.

Células sanguíneas. Se observó una sobre expresión de las vías biológicas asociadas a ciclo celular y mecanismos de reparación. Se observó una sub expresión de las vías biológicas asociadas a respuesta inmune y respuesta a patógenos.

Identificación de drogas con impacto potencial en los efectos de la infección por dengue. El número total de compuestos conocidos identificados, con impacto potencial en los efectos de la infección por dengue fue de 203, observándose diferencias entre los tejidos estudiados el número.

Las drogas se clasificaron en 7 grupos de acuerdo a su acción farmacológica en antineoplásicos 120, antibióticos 11, antiparasitarios 2, inmunosupresores 6, cardiovasculares 11, antiinflamatorios 9, antivirales 7 y otros 37.

Entre las drogas identificadas destaca la forskolina, un agente antihipertensivo e inhibidor de la agregación plaquetaria, con efecto antiviral contra el VIH, que fue la única droga identificada en los 3 tejidos estudiados. Entre las drogas iden-

tificadas en sangre se encuentra el purvalanol A y el palbociclib, ambos inhibidores de kinasas dependientes de ciclina, y el ácido micofenólico, inmunosupresor, todos con actividad antilavivirus. Entre las drogas identificadas con posible acción anti dengue en el hígado se encuentran la atorvastatina, la dexametasona y la prostaglandina A1, con efectos en metabolismo del colesterol, la respuesta inmune y la replicación viral. En el tejido esplénico se identificó la galdanamicina, inhibidor de Hsp90, con acción en replicación viral.

Mecanismos moleculares de acción de drogas diferenciadamente expresados entre casos y controles. Se identificaron 4 mecanismos de acción diferenciadamente expresados entre casos y controles en los 3 tejidos estudiados:

- a) Inhibidor de la vía de NF-κB: Auranofina y Partenolide: Inhibidores de la infección por flavivirus
- b) Inhibidor de ATPasa: Potente acción anti-inflamatoria. Evodiamine: inhibe la producción de óxido nítrico y la acción del IFN-γ. Digoxina: inhibe replicación de virus influenza y producción de citoquinas inflamatorias en pulmón. Digitoxina: Efectos antivirales contra virus zika.
- c) Antagonista de receptor adrenérgico
- d) Antagonista del receptor de serotonina

DISCUSIÓN

Los perfiles de expresión de genes de perturbaciones farmacológicas obtenidas in vitro como el L1000 que constituye la segunda fase de CMAP han comenzado a arrojar luz en el entendimiento de la función de los genes y las bases moleculares de las enfermedades. ⁽¹⁹⁾ Un primer intento de evaluar los perfiles de expresión genética en sangre de pacientes de dengue contra CMAP fue llevado a cabo por Amemiya y colaboradores recientemente, ⁽²⁰⁾ sin embargo, se hace necesario un abordaje más amplio de otros tejidos afectados en la infección por dengue, y es en este contexto donde se inserta este trabajo. Un primer paso consistió en obtener muestras de tejido humano postmortem para estudiar los patrones de expresión génica subyacentes a la especificidad del tejido, ya que sería imposible tomar muestras de muchos tejidos de individuos vivos. Sin embargo, un inconveniente de las muestras de tejido humano postmortem es la reducción significativa de ARN, que se degrada rápidamente tras la muerte. ⁽²¹⁾ Como vimos en este trabajo, a pesar de los cuidadosos pasos que tomamos para recolectar las muestras lo antes posible después de las autopsias, la degradación afectó a los tejidos del hígado y el encéfalo, lo que nos llevó a excluir los datos transcriptómicos de estos tejidos.

Al referirnos a nuestro propio conjunto de datos transcriptómicos sobre el bazo y complementar con conjuntos de

datos publicados para la sangre y el hígado de pacientes con dengue, identificamos cierta heterogeneidad en vías moleculares entre tejidos. La diferencia en los resultados que reflejan la especificidad del tejido podría indicar inicialmente que un tratamiento basado en cócteles sería más adecuado para abordar esta diversidad. Sin embargo, dada la alta conectividad entre redes de moléculas en el cuerpo y los efectos múltiples de los fármacos, algunos fármacos candidatos pueden ser efectivos en los diversos tejidos para la enfermedad del dengue. En particular, las drogas que comparten los mecanismos de acción: "inhibidor de la vía NF-κB", "inhibidor de la ATPasa", "antagonista del receptor adrenérgico" y "antagonista del receptor de serotonina" parecen ser candidatos prometedores en el tratamiento del dengue, y algunas pruebas funcionales de precisión realizadas previamente han aportado evidencias que apoyan la acción antiviral de algunos de estos mecanismos. Al inhibir farmacológicamente la activación de NF-κB, Cheng *et al.* ⁽²²⁾ observaron que el papel potencial de NF-κB en la señalización oxidativa se evita durante la infección por dengue mediante la eliminación de la biosíntesis de iNOS/NO y la producción de TNF-α. Interesantemente, los compuestos inhibidores de la vía NF-κB identificados en este trabajo, auranofina y partenolida, han demostrado previamente que inhiben con éxito la infección por flavivirus. ^(23,24) Inhibidores de ATPasa, como evodiamina, digoxina y digitoxina, también presentan fuertes respuestas antiinflamatorias. La evodiamina inhibe la producción de óxido nítrico interfiriendo con el interferón gamma e inhibiendo la acción de los eventos de señalización de NF-κB. ⁽²⁵⁾ Se ha demostrado que la administración de digitoxina a ratas infectadas con el virus de la influenza A reduce los niveles de citoquinas proinflamatorias de TNF-α, GRO/KC, MIP-2, MCP-1 e IFN-γ en los pulmones, comúnmente asociadas con la tormenta de citoquinas. ⁽²⁶⁾ Dado que se observan altos niveles de citoquinas inflamatorias en la infección grave por dengue, la digitoxina podría tener un potencial terapéutico. Además de la digitoxina, la digoxina, otro glucósido cardíaco, muestra efectos antivirales contra el virus del Zika. ⁽²³⁾ Otros autores ⁽²⁷⁾ han identificado un grupo de moléculas pequeñas que inhiben la infección por dengue y otros flavivirus, e interesantemente dichas moléculas eran similares en estructura a los compuestos antipsicóticos tricíclicos, que actúan como antagonistas de los receptores de serotonina y dopamina. Una disminución de la expresión del receptor de dopamina D4 redujo la replicación de DENV a través de la inhibición de fosforilación de la quinasa relacionada con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (ERK). Se ha demostrado que los receptores de dopamina se expresan en macrófagos de roedores y humanos, una célula diana primaria de la infección por DENV. Estos receptores de

dopamina relacionados con los macrófagos pueden ser los que están siendo influenciados por DENV.

En primera instancia, no hubo muchas indicaciones de fármacos relacionados con lípidos en los resultados de CMap. Esto puede deberse a la etapa tardía de la enfermedad analizada en este trabajo, mientras que los lípidos pueden ser más importantes en las primeras etapas de entrada del virus en las células y en su replicación en la fase aguda. ⁽²⁸⁾ Aun así, se identificó el mecanismo “agonista de Liver X Receptor (LXR)” en el bazo, y se identificaron las estatinas, atorvastatina y simvastatina en el hígado y la sangre, respectivamente. El desarrollo de un nuevo fármaco tarda varios años antes de que pueda ser accesible para el tratamiento de pacientes o la protección profiláctica. Por otro lado, los medicamentos reposicionados pueden omitir varios pasos en el proceso de aprobación y comercialización, ya que las pruebas de seguridad, toxicidad y evaluación de riesgos ya se han realizado en ensayos clínicos en humanos. Esta segunda clase de fármacos puede ser muy valiosa para una batalla más rápida contra la enfermedad del dengue y sus complicaciones, facilitando el enfrentamiento a la creciente incidencia de la infección por DENV y su rápida propagación por todo el mundo.

Conclusiones

Nuestros resultados mostraron que a pesar de cierta heterogeneidad tisular en la respuesta a DENV, los fármacos que actúan sobre los mecanismos “antagonista del receptor adrenérgico”, “inhibidor de ATPasa”, “inhibidor de la vía NF-κB” y “antagonista del receptor de serotonina” serían efectivos en el manejo de los mecanismos biológicos de la infección por dengue en células esplénicas, hepáticas y sanguíneas. Algunos de estos fármacos candidatos han sido descritos de manera precisa en la literatura por tener un impacto contra el DENV u otros virus asociados a la familia de los flavivirus. Nuestro trabajo avanza considerablemente en el conocimiento en esta área al demostrar que estos 4 mecanismos moleculares pueden modularse farmacéuticamente en los tejidos más afectados por la enfermedad del dengue.

El presente trabajo constituye el primer estudio de transcriptoma en tejidos de casos fallecidos por dengue, primer análisis *in silico* para reposicionamiento de drogas, para manejo de los mecanismos biológicos de la infección por dengue en tejido de bazo e hígado. La presente investigación permitió la identificación de 203 compuestos con impacto potencial en las vías biológicas de la infección por dengue en células de sangre, hígado y bazo, así como la identificación de 4 mecanismos biológicos de acción involucrados en la infección por dengue, conteniendo dianas potenciales de bloqueo y control de la infección. Las drogas que comparten estos mecanis-

mos constituyen posibles candidatos para ser evaluados en el futuro en el tratamiento de la enfermedad por dengue.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trung DT, Thao le TT, Hien TT, Hung NT, Vinh NN, Hien PT, Chinh NT, Simmons C, Wills B. Liver involvement associated with dengue infection in adults in Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010;83:774-80. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0090>
2. Samanta J, Sharma, V. Dengue and its effects on liver. *World journal of clinical cases* 2015;3:125-31. DOI: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i2.125>
3. de Silva WT; Gunasekera M. Spontaneous splenic rupture during the recovery phase of dengue fever. *BMC Res. Notes*, 2015;8:286. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1234-5>
4. Carod-Artal F.J. Complicaciones neurológicas asociadas a la infección por el virus del dengue. *Rev Neurol.* 2019;69:113-22. DOI: <https://doi.org/10.33588/rn.6903.2019140>
5. Mutz KO, Heilkenbrinker A, Lönne M, Walter JG, Stahl F. Transcriptome analysis using next generation sequencing. *Curr Opin Biotechnol.* 2013;24:22-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.09.004>
6. Nascimento EJ, Braga-Neto U, Calzavara-Silva CE, Gomes AL, Abath FG, Brito CA, Cordeiro MT, Silva AM, Magalhães C, Andrade R et al. Gene expression profiling during early acute febrile stage of dengue infection can predict the disease outcome. *PLoS One.* 2009;4:e7892. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007892>
7. LokeP, Hammond SN, Leung JM, Kim CC, Batra S, Rocha C, Balmaseda A, Harris E. Gene expression patterns of dengue virus-infected children from nicaragua reveal a distinct signature of increased metabolism. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010;4:e710. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000710>
8. Popper SJ, Gordon A, Liu M, Balmaseda A, Harris E, Relman DA. Temporal dynamics of the transcriptional response to dengue virus infection in Nicaraguan children. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012;6:e1966. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001966>
9. Sessions OM, Tan Y, Goh KC, Liu Y, Tan P, Rozen S Ooi EE. Host cell transcriptome profile during wild-type and attenuated dengue virus infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013;7:e2107. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002107>
10. Kwissa M, Nakaya HI, Onlamoon N, Wrammert J, Villinger F, Perng GC, Yoksan S, Pattanapanyasat K, Chokeyhaibulkit K, Ahmed R et al. Dengue virus infection induces expansion of a CD14(+) CD16(+) monocyte population that stimulates plasmablast differentiation. *Cell Host Microbe.* 2014;16:115-27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.06.001>
11. Long HT, Hibberd ML, Hien TT, Dung NM, Van Ngoc T, Farrar J, Wills B, Simmons CP. Patterns of gene transcript abundance in the blood of children with severe or uncomplicated dengue highlight differences in disease evolution and host response to dengue virus infection. *J. Infect. Dis.* 2009; 199:537-46. DOI: <https://doi.org/10.1086/596507>
12. Rajapakse S, Rodrigo C, Rajapakse A. Treatment of dengue fever. Infection and drug resistance. 2012;5:103-12. DOI: <https://doi.org/10.2147/idr.s22613>

13. Hodos RA, Kidd BA, Shameer K, Readhead BP, Dudley JT. In silico methods for drug repurposing and pharmacology. *WIREs Syst Biol Med*. 2016;8:186-210. DOI: <https://doi.org/10.1002/wsbm.1337>
14. Lamb J, Crawford ED, Peck D, Modell JW, Blat IC, Wrobel MJ, Lerner J, Brunet JP, Subramanian A, Ross KN et al. The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease. *Science*. 2006;313:1929-35. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1132939>
15. Sierra B, Magalhães AC, Soares D, Cavadas B, Perez AB, Alvarez M, Aguirre E, Bracho C, Pereira L, and Guzman MG. Multi-Tissue Transcriptomic-Informed In Silico Investigation of Drugs for the Treatment of Dengue Fever Disease. *Viruses*. 2021 Aug;13(8):1540. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13081540>
16. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, Guigó R. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. 2018. *Nature Communications*; 9:490. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02772-x>
17. Barrett T, Wilhite S.E, Ledoux P, Evangelista C, Kim IF, Tomashevsky M, Marshall KA, Phillippy KH, Sherman PM, Holko M et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update. *Nucleic Acids Res*. 2013; 41:D991-5. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>
18. Zanini F, Pu SY, Bekerman E, Einav S, Quake SR. Single-cell transcriptional dynamics of flavivirus infection. *eLife*. 2018;7. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.32942>
19. Subramanian A, Narayan R, Corsello SM, Peck DD, Natoli TE, Lu X, Gould J, Davis JF, Tubelli AA, Asiedu JK et al. A Next Generation Connectivity Map: L1000 Platform and the First 1,000,000 Profiles. *Cell* 2017;171:1437-52.e1417.
20. Amemiya T, Gromiha MM, Horimoto K, Fukui K. Drug repositioning for dengue haemorrhagic fever by integrating multiple omics analyses. *Sci. Rep.* 2019;9:523.
21. Ferreira PG, Muñoz-Aguirre M, Reverter F, CP SG, Sousa A, Amadoz A, Sodaei R, Hidalgo MR, Pervouchine D, Carbonell-Caballero J et al. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat. Commun.* 2018;9:490.
22. Cheng YL, Lin YS, Chen CL, Wan SW, Ou YD, Yu CY, Tsai TT, Tseng PC, Lin CF. Dengue Virus Infection Causes the Activation of Distinct NF- κ B Pathways for Inducible Nitric Oxide Synthase and TNF-Expression in RAW264.7 Cells. *Mediat. Inflamm.* 2015;2015:274025.
23. Barrows NJ, Campos RK, Powell ST, Prasanth KR, Schott-Lerner G, Soto-Acosta R, Galarza-Muñoz G, McGrath EL, Urrabaz-Garza R, Gao J et al. A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. *Cell Host Microbe* 2016;20:259-70.
24. Mazzon M, Ortega-Prieto AM, Imrie D, Luft C, Hess L, Czieso S, Grove J, Skelton JK, Farleigh L, Bugert JJ et al. Identification of Broad-Spectrum Antiviral Compounds by Targeting Viral Entry. *Viruses* 2019;11:176.
25. Ko HC, Wang YH, Liou KT, Chen CM, Chen CH, Wang WY, Chang S, Hou YC, Chen KT, Chen CF et al. Antiinflammatory effects and mechanisms of the ethanol extract of *Evodia rutaecarpa* and its bioactive components on neutrophils and microglial cells. *Eur. J. Pharmacol.* 2007;555:211-7.
26. Pollard BS, JC BL, Pollard JR. Classical Drug Digoxin Inhibits Influenza Cytokine Storm, With Implications for Covid-19 Therapy. *In Vivo* 2020;34:3723-30.
27. Smith JL, Stein DA, Shum D, Fischer MA, Radu C, Bhinder B, Djabballah H, Nelson JA, Früh K, Hirsch AJ. Inhibition of dengue virus replication by a class of small-molecule compounds that antagonize dopamine receptor d4 and downstream mitogen-activated protein kinase signaling. *J. Virol.* 2014;88:5533-42.

Recibido: 06/09/2022

Aprobado: 03/11/2022

Agradecimientos

Agradecemos a las familias de las personas fallecidas que dieron su consentimiento para que su material postmortem sea incluido en este trabajo de investigación.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz
Curación de datos: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Cristina Magalhães, Daniel Soares, Bruno Cavadas, Luisa Pereira.

Análisis formal: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz, Luisa Pereira, María Guadalupe Guzmán Tirado

Adquisición de fondos: Luisa Pereira

Investigación: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz, Luisa Pereira

Administración del proyecto: Beatriz Sierra Vázquez, Luisa Pereira

Recursos: Luisa Pereira, Halina Alvarez

Software: Daniel Soares, Bruno Cavadas

Supervisión: Luisa Pereira, María Guadalupe Guzmán Tirado

Validación: Ana Cristina Magalhães, Daniel Soares, Bruno Cavadas, Luisa Pereira.

Visualización: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz, María Guadalupe Guzmán Tirado

Redacción-borrador original: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz

Redacción-revisión y edición: Beatriz Sierra Vázquez, Ana Beatriz Pérez Díaz, María Guadalupe Guzmán Tirado

Financiamiento

El Ministerio de Salud Pública de Cuba contribuyó al financiamiento de la presente investigación.

Cómo citar este artículo

Sierra Vázquez B, Pérez Díaz AB, Bracho Cardentey C, Aguirre Pérez E et al. Estudio transcriptómico multitejido en la enfermedad severa por dengue: análisis in silico de posibles drogas para su manejo. *An Acad Cienc Cuba [internet] 2023 [citado en día, mes y año];13(2):e1316*. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1316>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

