

Genómica comparada de dos dianas moleculares en modelos animales de hipersensibilidad

Serrano-Barrera OR, Hernández-Betancourt JC
Hospital General Docente Dr. Ernesto Guevara de la Serna, Las Tunas, Cuba.
Email: orlandosb@infomed.sld.cu

RESUMEN

La bioinformática es aplicable al diseño de medicamentos, la simulación de efectos biológicos y en la comparación inter-especies de las moléculas implicadas en diversos fenómenos y enfermedades, como las alergias. Para comparar dos moléculas claves en los trastornos alérgicos, por medio de herramientas bioinformáticas, entre el hombre y otras especies animales, se seleccionaron las moléculas interleucina 4 y el receptor de alta afinidad para la porción Fc de la inmunoglobulina E, en las especies: hombre, ratón, rata y conejo. Los datos de los genes se obtuvieron de la base *Gene* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>). La comparación a nivel genómico se hizo por medio de Ensembl (<http://ensembl.org/>), la alineación múltiple de las secuencias se realizó con la herramienta MUSCLE (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) y las matrices de identidad se generaron a partir de Clustal2.1. Para la representación gráfica de las alineaciones de secuencia y la existencia de polimorfismos se usó *UCSC Genome Browser* (<https://genome.ucsc.edu/>). Se encontró una mayor similitud de las secuencias codificadoras entre el hombre y el conejo para la IL-4. Las alineaciones múltiples para ambas moléculas obtuvieron los más altos porcentajes de similitud para las secuencias del conejo y las humanas: 64,9 % para la IL-4 y 71,1 % para el receptor de la IgE. Los polimorfismos mononucleotídicos predominan en áreas no codificadoras de la IL-4. Los resultados presentados apoyan la utilidad del conejo como modelo de enfermedades humanas relacionadas con las alergias, a partir de las similitudes para ambas especies de organismos entre dos de las moléculas centrales en los fenómenos de hipersensibilidad.

Palabras clave: bioinformática, hipersensibilidad, alergia, interleucina 4, animales de laboratorio.

INTRODUCCIÓN

Las alergias son un importante y creciente problema de salud, que ha escalado en su magnitud hasta ubicarse incluso entre las primeras causas de muerte.¹ Tanto los eventos que tienen lugar a nivel celular y molecular, como las posibilidades de su corrección farmacológica, han sido abordados por medio de modelos animales, entre ellos el ratón, la rata, el cobayo, el conejo, el cerdo, el perro y el carnero.^{2,3} La selección del biomodelo para el problema a estudiar depende de múltiples factores e influye luego en la posibilidad de extrapolación al humano de los resultados obtenidos.

Las tecnologías ómicas pueden ser de utilidad para escoger el animal a usar, en la modelación del evento en cuestión y en la mejor interpretación y comprensión de los datos resultantes. La bioinformática no solo es aplicable al diseño de medicamentos y la simulación de efectos biológicos,⁴ sino también en la comparación inter-especies de las moléculas implicadas en los fenómenos estudiados. También, y no menos importante, contribuye significativamente al principio de las 3R de la experimentación animal: reemplazar, reducir y refinar el empleo de otras especies biológicas.⁵

OBJETIVOS

General: Comparar dos moléculas claves en los trastornos alérgicos, por medio de herramientas bioinformáticas, entre el hombre y otras especies animales.

Específicos:

- Determinar la utilidad de una metodología basada en herramientas bioinformáticas para la selección de los modelos animales para el estudio de fenómenos alérgicos.
- Describir las similitudes y diferencias a nivel genómico entre el humano y tres modelos animales para las moléculas seleccionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron como referencia las moléculas humanas interleucina 4 (IL-4, HGNC: 6014) y el receptor de alta afinidad para la porción Fc de la inmunoglobulina E (FcεR1a, HGNC: 3609), así como las especies: hombre (*Homo sapiens*), ratón (*Mus musculus*), rata (*Rattus norvegicus*) y

conejo (*Oryctolagus cuniculus*). Los datos de cada gen para el humano se obtuvieron de la base de datos Gene (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>).

La comparación a nivel genómico de los genes de las moléculas seleccionadas entre el humano y los modelos animales se hizo por medio de Ensembl (<http://www.ensembl.org>), en su edición 38; se editaron los gráficos individuales generados para la mejor apreciación de las similitudes y diferencias entre especies. La alineación múltiple de las secuencias se realizó con la herramienta MUSCLE (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>), versión 3.8.31; las matrices de identidad se generaron por esa propia herramienta a partir de Clustal 2.1.

Para la representación gráfica de las alineaciones de secuencia y la existencia de polimorfismos se usó UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu>), edición 38, de diciembre de 2013 (GRCh38).

RESULTADOS

En el caso del gen de la IL-4, se encontró una mayor similitud en términos de composición y ubicación de las secuencias codificadoras entre el hombre y el conejo, a pesar de encontrarse en este último caso un número superior de inserciones/deleciones.

El gen de la molécula humana FcεR1a ha sido ubicado en el brazo largo del cromosoma 1, específicamente en 1q23.2. El análisis de la estructura genómica por medio de Ensembl reveló que la estructura y la localización de las secuencias codificadoras son muy similares entre los modelos animales aquí incluidos, si bien en el conejo es menor el número de inserciones/deleciones y no se aprecian inversiones.

Una perspectiva más gráfica de la similitud entre especies se obtuvo para la IL-4 con *UCSC Genome Browser*; en esta herramienta no fue posible disponer de un análisis similar para FcεR1a. Además de la ubicación en el cromosoma 5, pudo apreciarse que las similitudes con el conejo cubren regiones más amplias, tanto codificadoras como no codificadoras. También es de destacar que los polimorfismos mononucleotídicos (*SNP*, de *single nucleotide polymorphism*) predominan en áreas no codificadoras.

Para dilucidar mejor las similitudes de secuencia entre todas las especies estudiadas, se ejecutaron alineaciones múltiples para ambas moléculas. En la tabla se observa que el conejo obtuvo los más altos porcentajes con relación a las secuencias humanas, tanto para IL-4 como para FcεR1a.



Tabla. Matriz de identidad (%) entre secuencias, generada por Clustal 2.1 en la herramienta MUSCLE

Especie	IL-4				FcεR1a			
	Conejo	Hombre	Ratón	Rata	Conejo	Hombre	Ratón	Rata
Conejo	100	64,89	55,14	54,15	100	71,14	60,34	59,35
Hombre	64,89	100	61,37	62,97	71,14	100	62,70	63,23
Ratón	55,14	61,37	100	83,27	60,34	62,70	100	81,90
Rata	54,15	62,97	83,27	100	59,35	63,23	81,90	100

No se pretende reducir la complejidad de los eventos biológicos, que implican numerosas estirpes celulares y mediadores químicos, a las similitudes estructurales a nivel génico y genómico de dos moléculas, sino mostrar las posibilidades de las tecnologías ómicas, como herramientas al servicio de la experimentación y sus potencialidades para aportar a los reclamos de un modelo integracionista, que reconozca al ser vivo en toda su complejidad.

CONCLUSIONES

Los resultados presentados aquí apoyan la utilidad del conejo como modelo de enfermedades humanas relacionadas con las alergias, a partir de las similitudes para ambas especies de organismos entre dos de las moléculas centrales en los fenómenos de hipersensibilidad. La integración de las herramientas bioinformáticas, las tecnologías genómicas, la biología de sistemas y otras disciplinas emergentes aportarán mucho a la comprensión más acabada de los procesos relacionados con la vida.

RECOMENDACIONES

Las herramientas bioinformáticas deben ser incorporadas en los estudios preclínicos desde la etapa de selección de los modelos animales para el estudio de eventos biológicos en el humano hasta el desarrollo de fármacos y vacunas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Panesar SS, Javad S, de Silva D, Nwaru BI, Hickstein L, Muraro A, et al. The epidemiology of anaphylaxis in Europe: a systematic review. *Allergy* November [revista en internet]. 2013 [citado 7 de diciembre 2016]; 68(11): 1353–61. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.12272/full>.
2. Van Gramberg JL, de Veer MJ, O'Hehir RE, Meeusen EN, Bischof RJ. Use of animal models to investigate major allergens associated with food allergy. *J Allergy (Cairo) Bioética* [revista en internet]. 2013 [citado 7 de diciembre 2016]; 2013: 635695. Disponible en: http://www.hindawi.com/journals/ja/2013/635695/?utm_medium=referral&utm_source=pulsenews.
3. Li Y, Feng X, Huang L, Zhu H, Xu Y, Sui X, et al. Hematologic and immunological characteristics of Henoch-Schonlein purpura in rat and rabbit models induced with ovalbumin based on type III hypersensitivity. *Sci Reports* [revista en internet]. 2015 [citado 7 de diciembre 2016]; 5: 8862. Disponible en: <http://www.nature.com/srep/2015/150309/srep08862/full/srep08862.html>.
4. Romero-Fernandez W, Batista-Castro Z, De Lucca M, Ruano A, García-Barceló M, Rivera-Cervantes M, et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Pública Bioética* [revista en internet]. 2016 [citado 7 de diciembre 2016]; 33(2): 288-99. Disponible en: <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/2169>.
5. Confederación de Sociedades Científicas de España. Documento COSCE sobre el uso de animales en investigación científica. *Cuadernos de Bioética* XXVI 2015/2. Disponible en: <http://aebioetica.org/revistas/2015/26/87/327.pdf>.