

Perfil transcripcional de explantes de placenta humana en respuesta a la interacción con *Plasmodium falciparum*

Ana María García, Carolina López-Guzmán, Cesar Hernando Segura, Ana María Vásquez Cardona

Ana María García Sierra, M.Sc.

Universidad de Antioquia
Grupo Malaria
Medellín, Colombia

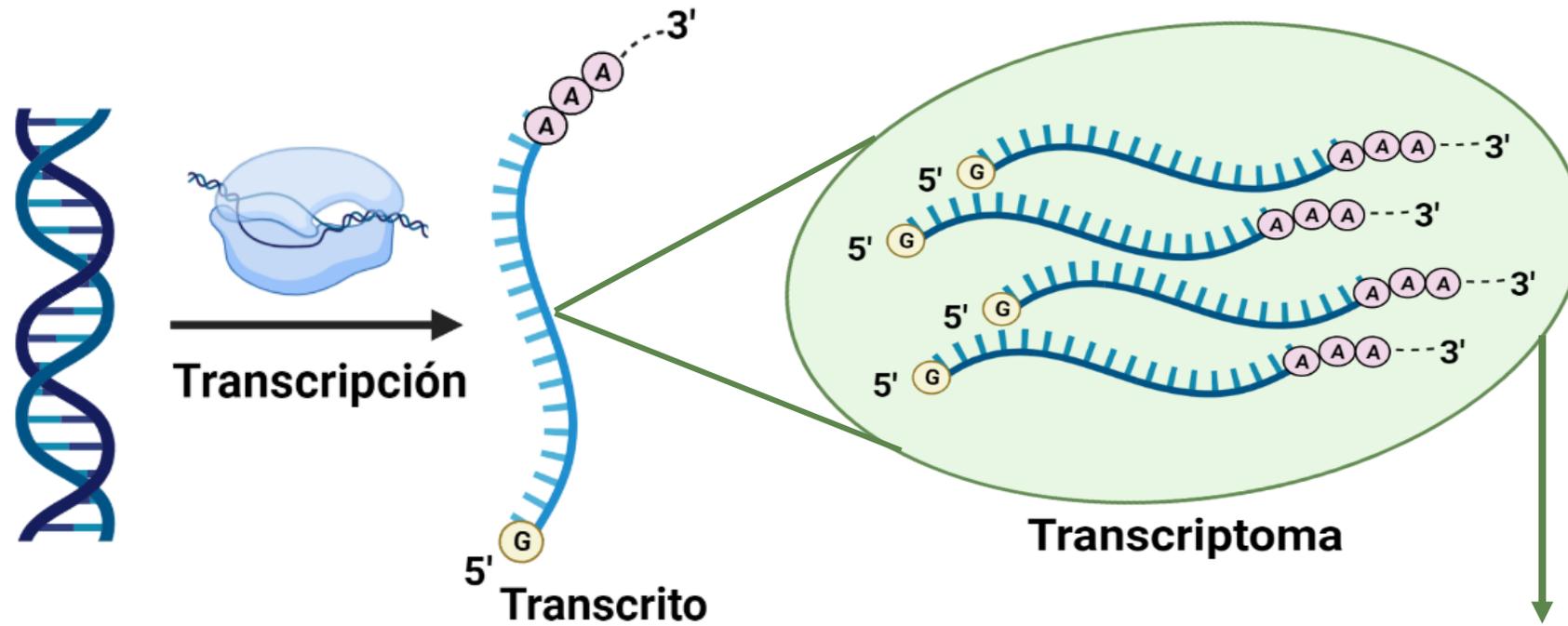




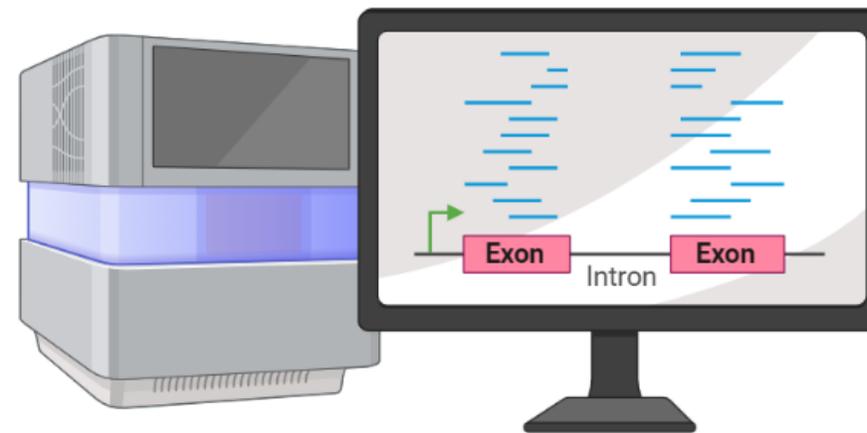
¿Qué cambios se están dando en la expresión de genes que participan en vías metabólicas, endocrinas e inmunológicas ?



Transcriptómica



Cuantificar los cambios en la expresión génica en células y tejidos.



Transcriptómica



Estudios transcriptómicos en infecciones placentarias

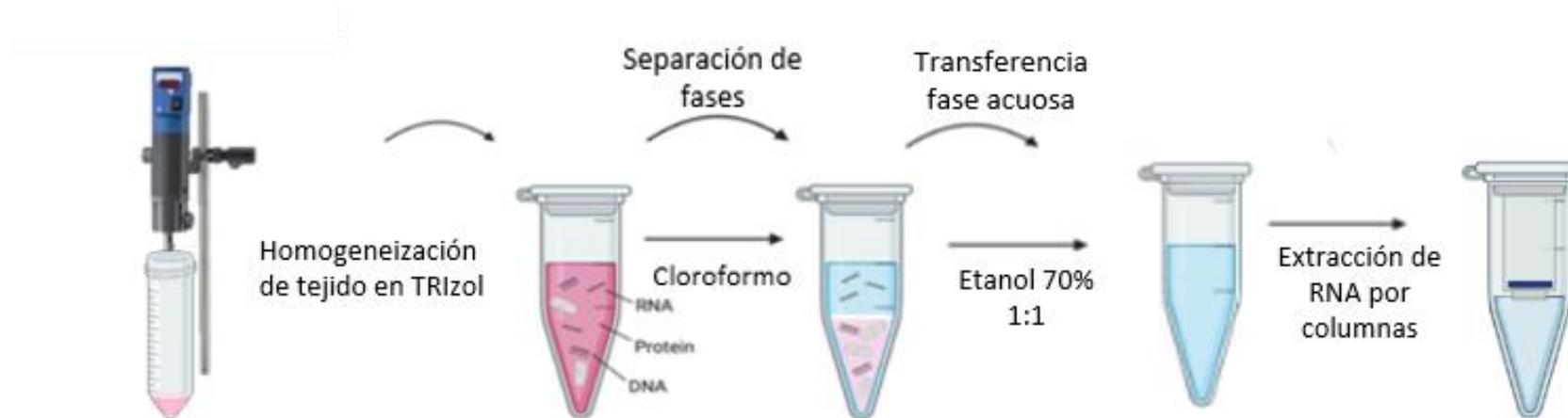
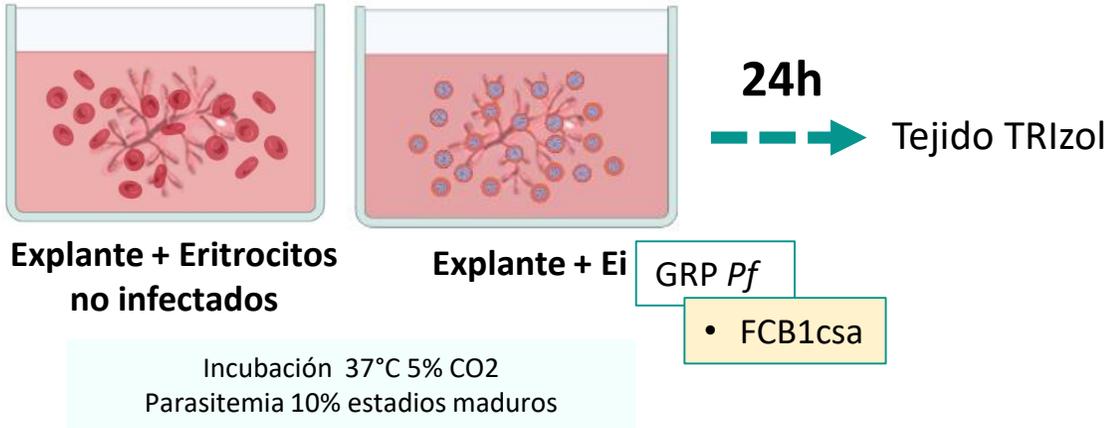
Autor y año	Modelo Infeccioso	Muestra	Hallazgos
Muehlenbachs A, 2007	<i>Plasmodium falciparum</i>	Placentas con infección natural	Se regulan al alza genes involucrados en la respuesta inmunológica, la inflamación y la angiogénesis.
Ander SE, 2018	<i>Toxoplasma gondii</i>	EPH, TPH	El papel de CCL22 como quimioatrayente en lugar de una citoquina efectora como IFN- γ , y su producción por parte de las células TPH depende completamente de MYR1.
Juiz NA, 2018	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Placentas con infección natural	Activación de genes relacionados con la organización de la matriz extracelular
Castillo C, 2018	<i>Trypanosoma cruzi</i>	EPH con infección in vitro	<i>T. cruzi</i> induce fuertes cambios en genes involucrados en una amplia gama de vías, especialmente en las involucradas en la respuesta inmune contra infecciones.

Objetivo

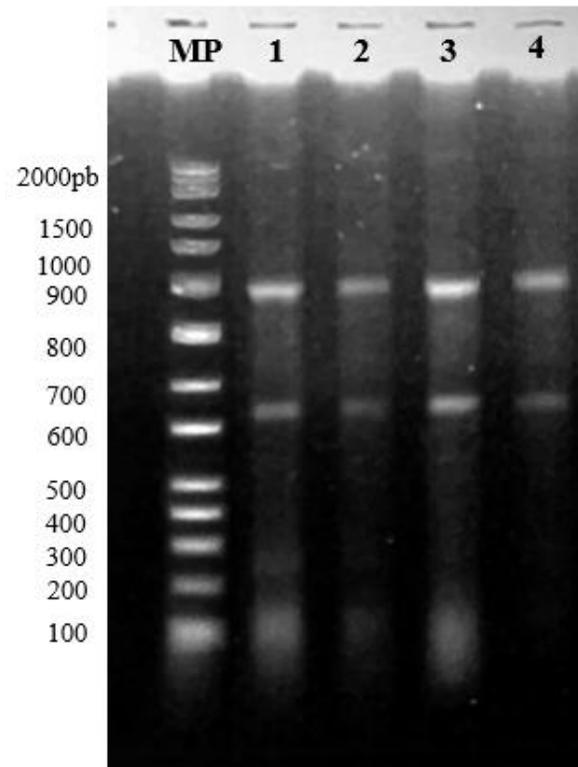
Identificar cambios en la expresión génica en explantes de placenta humana de donantes sanas en un modelo de infección *ex vivo* con *Plasmodium falciparum*.



Metodología



Resultado: RNA de EPH en co cultivo de calidad para secuenciación

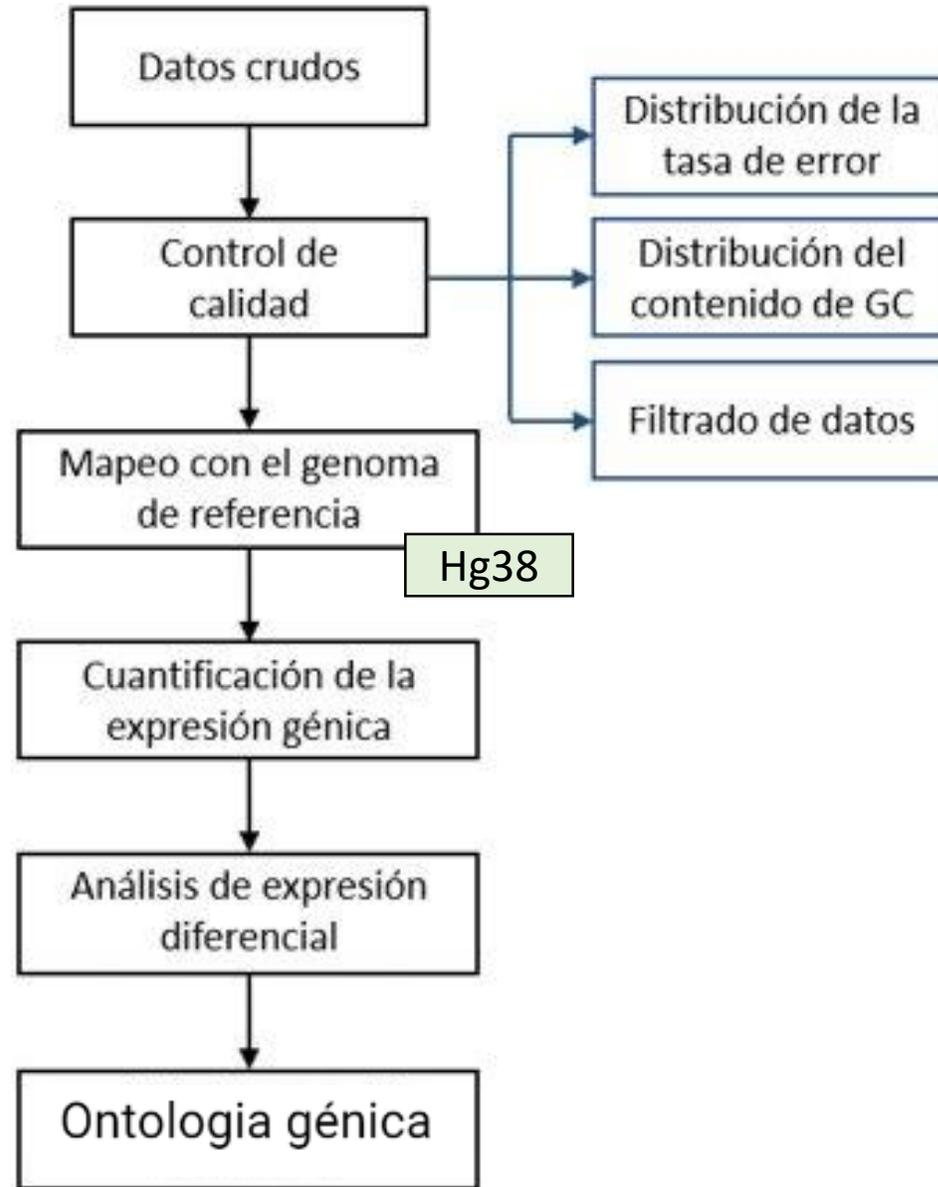


Electroforesis de RNA en gel de agarosa 1,2%. (MP) Marcador de peso molecular. (1, 2, 3, 4) Vellosidad placentaria. Se observan bandas 28s y 18s.

Muestra	Concentración (ng/ml)	Volumen (ml)	Concentración total en la muestra (mg)	RIN	Resultados control de calidad
P16 Eni	21.64	16.2	0.35	5.3	Pasa
P16 Ei	262.1	17.7	4.64	7	Pasa
P17 Eni	59.28	21	1.24	6.9	Pasa
P17 Ei	86.65	28	2.43	7.6	Pasa
P20 Eni (1)	33.77	21	0.71	8.9	Pasa
P20 Ei (1)	36.15	20	0.72	8	Pasa
P20 Eni (2)	48.31	21	1.01	8.6	Pasa
P20 Ei (2)	62.23	19.2	1.19	8.5	Pasa
P21 Eni	22.4	18	0.40	8.4	Pasa
P21 Ei	27.98	21	0.59	8.4	Pasa

Calidad de muestras de RNA realizadas con bioanalyzer Agilent. (n = 10).

Metodología



Resultado: Las lecturas y el alineamiento fueron de calidad

	# Lecturas sin procesar	# lecturas procesadas	Tasa de error de secuenciación	%GC	% Lecturas mapeadas
P16GRS	71946460	70913118	0.03	50.41	96.27%
P16GRP	77439408	76253160	0.03	50.71	94.12%
P17GRS	85261854	83998860	0.03	50.05	96.16%
P17GRP	73491204	72340336	0.02	50.21	95.04%
P20GRS(1)	119027970	117331704	0.03	52.31	95.63%
P20GRP(1)	105981018	103906160	0.03	51.1	95.44%
P20GRS(2)	110799074	108959082	0.03	51.99	95.43%
P20GRP(2)	89887742	87847928	0.03	51.2	95.63%
P21GRS	95510876	93787232	0.03	51.06	95.69%
P21GRP	86367118	84694734	0.03	50.42	95.39%

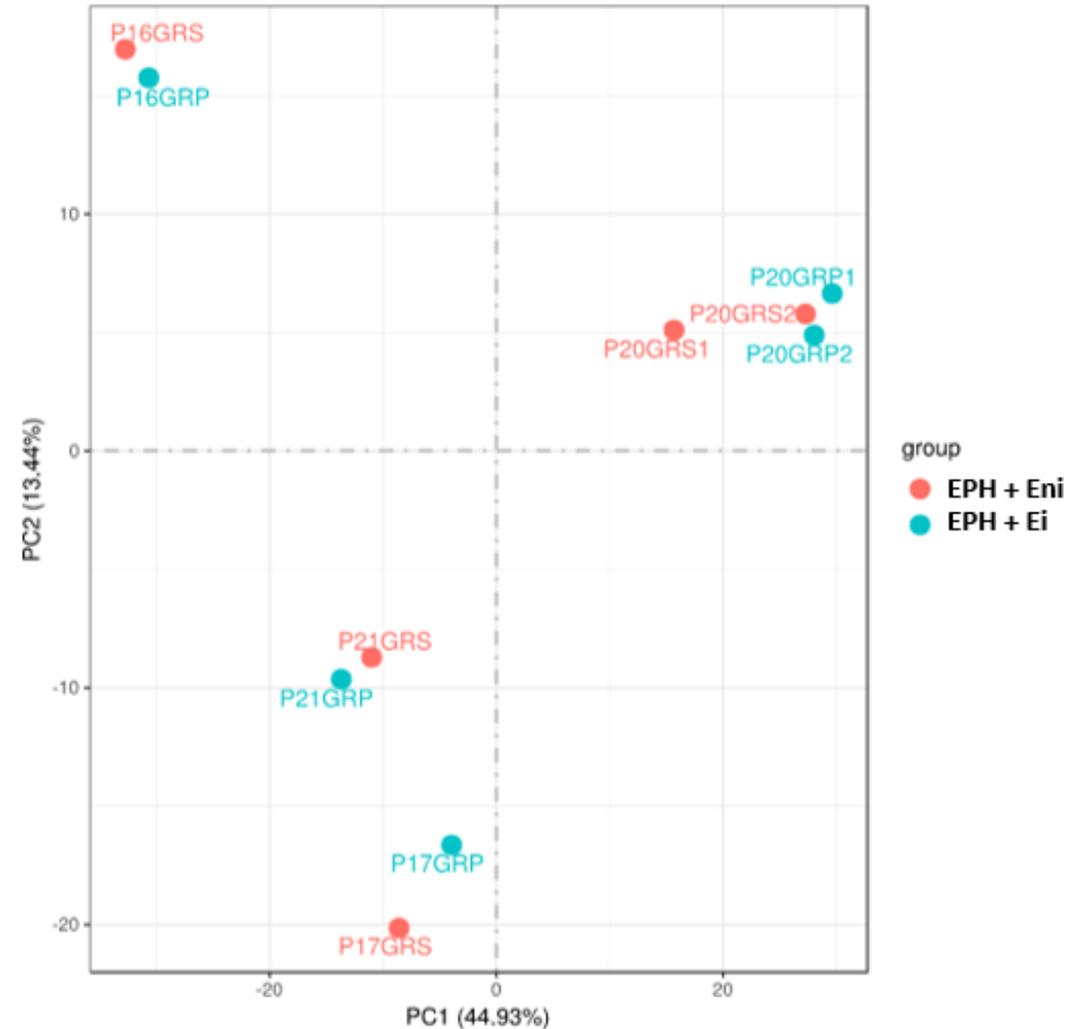
Tabla 7. Detalle de la calidad de la secuenciación y mapeo de las librerías

Resultado: Relación y análisis de componentes principales

Análisis de componentes principales

No hay agrupamiento entre condiciones.

Esto denota alta variabilidad interplacenta



Análisis de componentes principales (PCA).

Resultado: Expresión diferencial de genes

Tipos de RNA expresados diferencialmente

Tipo de transcripto	Regulados a la baja	Regulados al alza
RNA codificante de proteína	139	27
microRNA	2	1
LncRNA	32	13
snoRNA	3	-
snRNA	3	1
Misc_RNA	1	5
Pseudogenes	30	14
Otros *	22	23

Resultado: Expresión diferencial de genes

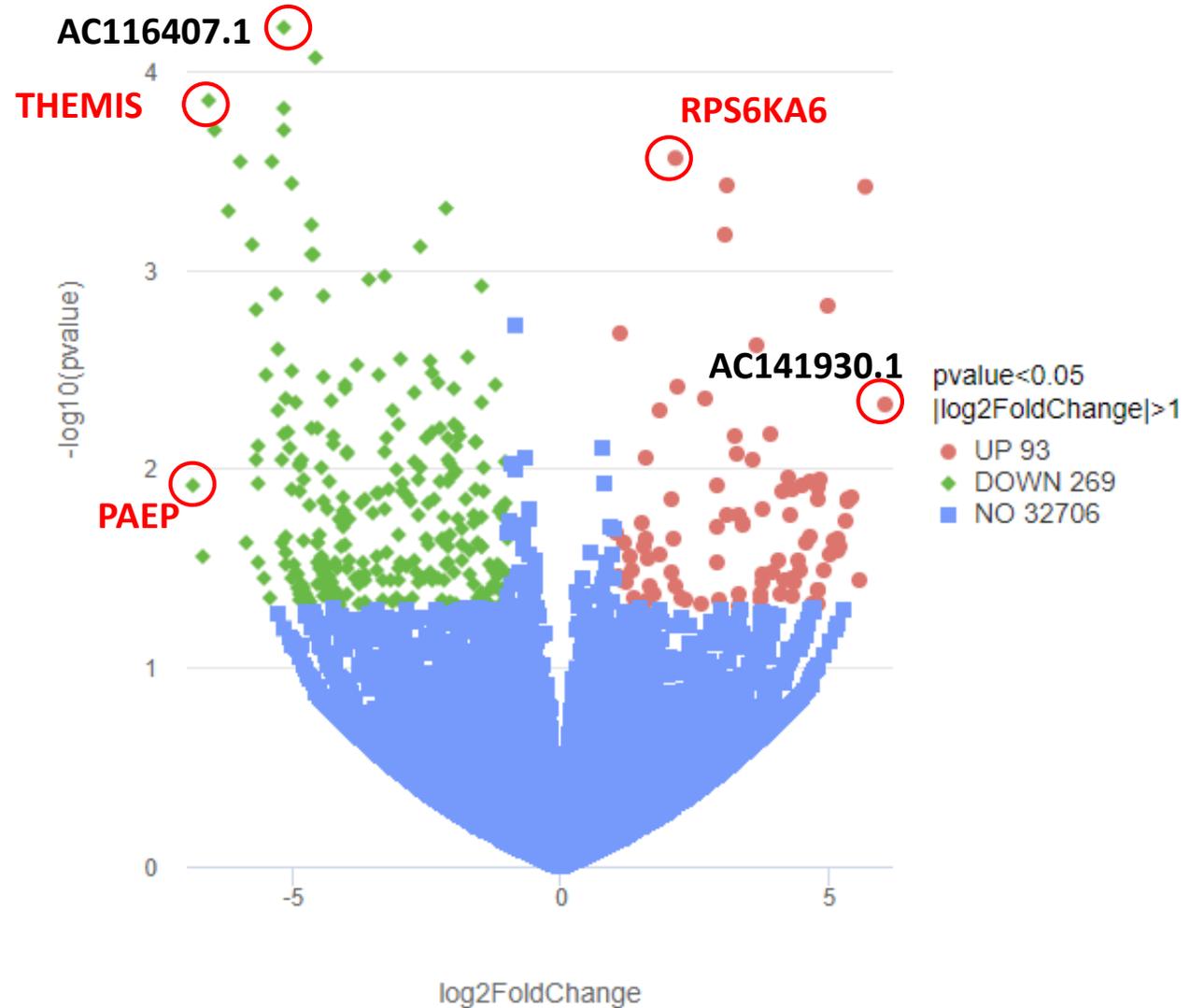
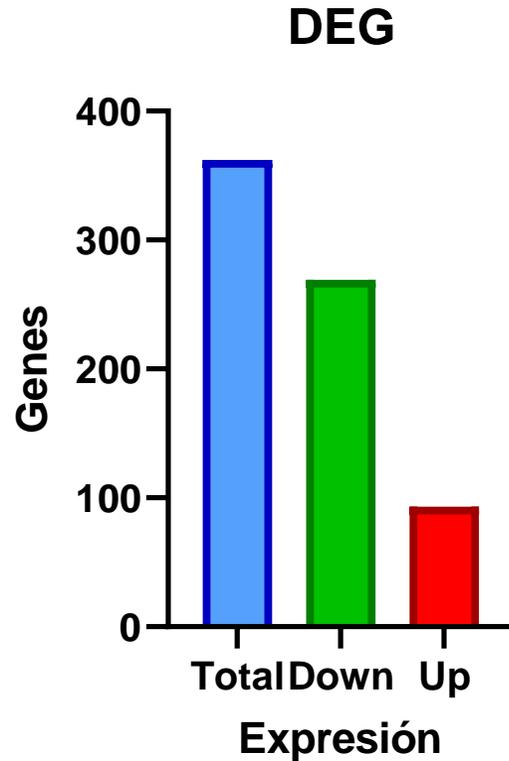
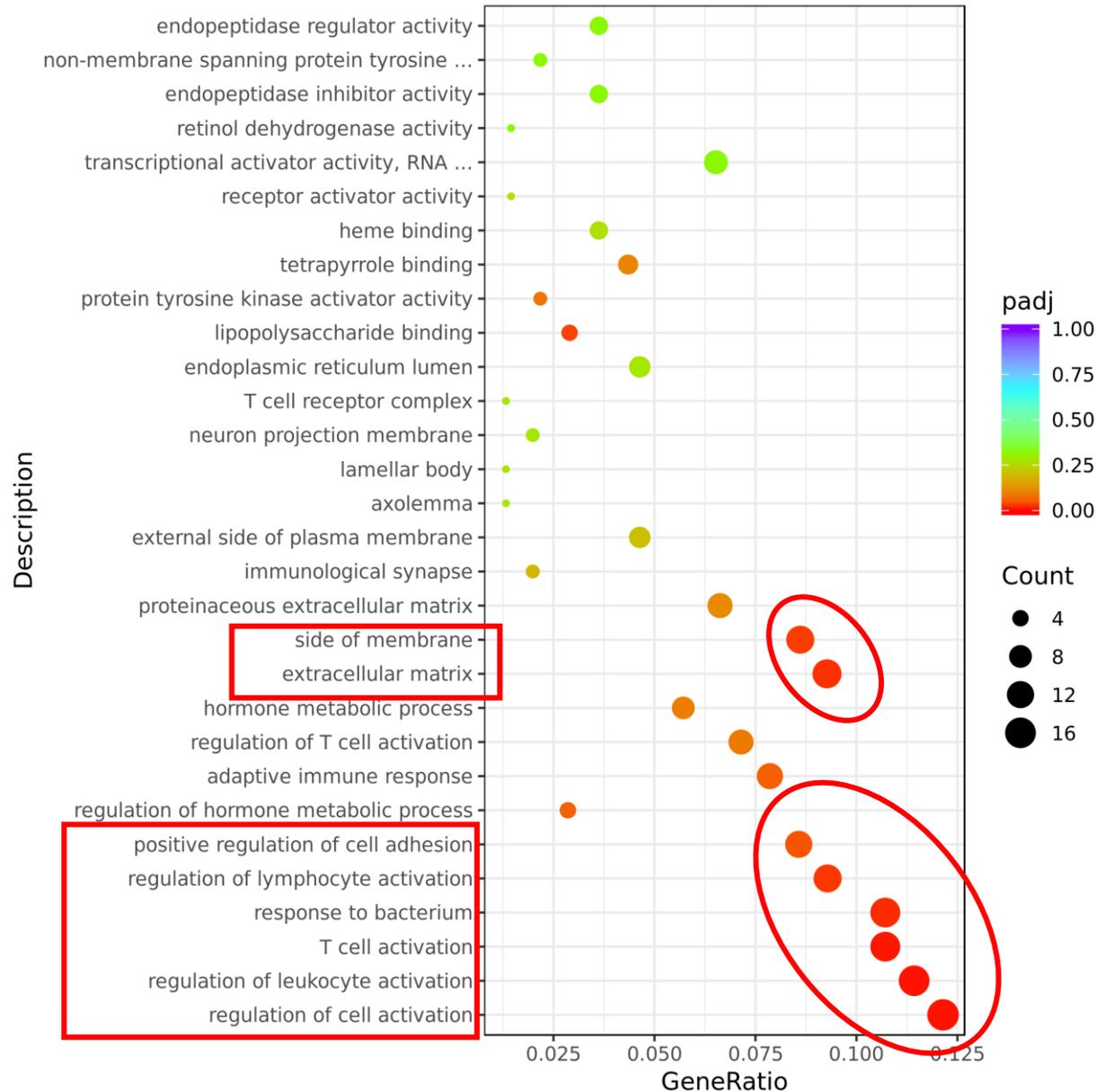


Diagrama de volcán. diagrama de dispersión de $-\log_{10}(p)$ (eje Y) en función de $|\log_2\text{foldChange}|$ (eje X).

Resultado: GO Principales procesos biológicos enriquecidos



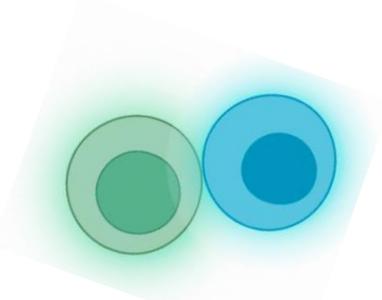
Genes
ZNF683
CNR2
CCL5

Activación celular

Resultado: Principales procesos biológicos enriquecidos

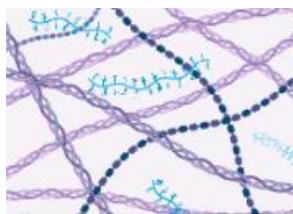
Anotación ontológica

Genes



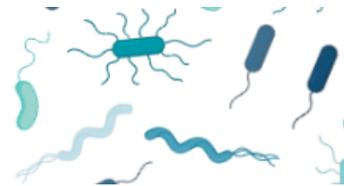
Regulación de la activación celular

ZNF683, CNR2, CCL5, IKZF3, FGG, BPI, TNFRSF18/CD80/GRAP2/SLA2/CD5/IRF4, HLA-DQB2/CD6/SPACA3/TBC1D10C



Matriz extracelular

WISP2/CDH2/MMP12/SFTPD/LINGO2/SPOCK2/ICAM1/CILP/WNT4/SFTPA2/EMILIN3/MMP17/CFP/CPXM2



Respuesta a bacterias

ZNF683, CCL5/SFTPD/IKZF3/TNFRSF18/CD80/GRAP2/SLA2/CD5/IRF4, HLA-DQB2/CD6/TBC1D10C

Resultado: Expresión diferencial de genes

Genes diferencialmente expresados regulados negativamente

	FC*	Descripción**
PAEP	-116.12	Participa en la regulación de la producción de citoquinas
UGT2B7	-101.85	Cataliza la glucuronidación de hormonas esteroideas endógenas como andrógenos y estrógenos potencialmente tóxicos.
THEMIS	-93.68	Gen involucrado en la selección de células T.
WISP2	-87.29	Puede participar en la modulación del recambio óseo.
CES5A	-57.96	Participa en la desintoxicación de xenobióticos y en la activación de profármacos de éster y amida
ZNF683	-53.55	Involucrado en la señalización del receptor de células T; respuesta celular a la ionomicina; y regulación de la expresión génica.
CNR2	-51.23	Actividad de receptor acoplado a proteínas G y actividad de receptor de cannabinoides.
JSRP1	-50.73	Regulador del canal de calcio sensible al voltaje CACNA1S, durante excitación/contracción del músculo esquelético
SLC51B	-41.26	Participa en el transporte de ácidos biliares.
HIST1H3G	-38.59	Codifica una histona dependiente de la replicación de la familia de histonas H3.

**Descripción tomada de GeneCards – the human gene database www.genecards.org

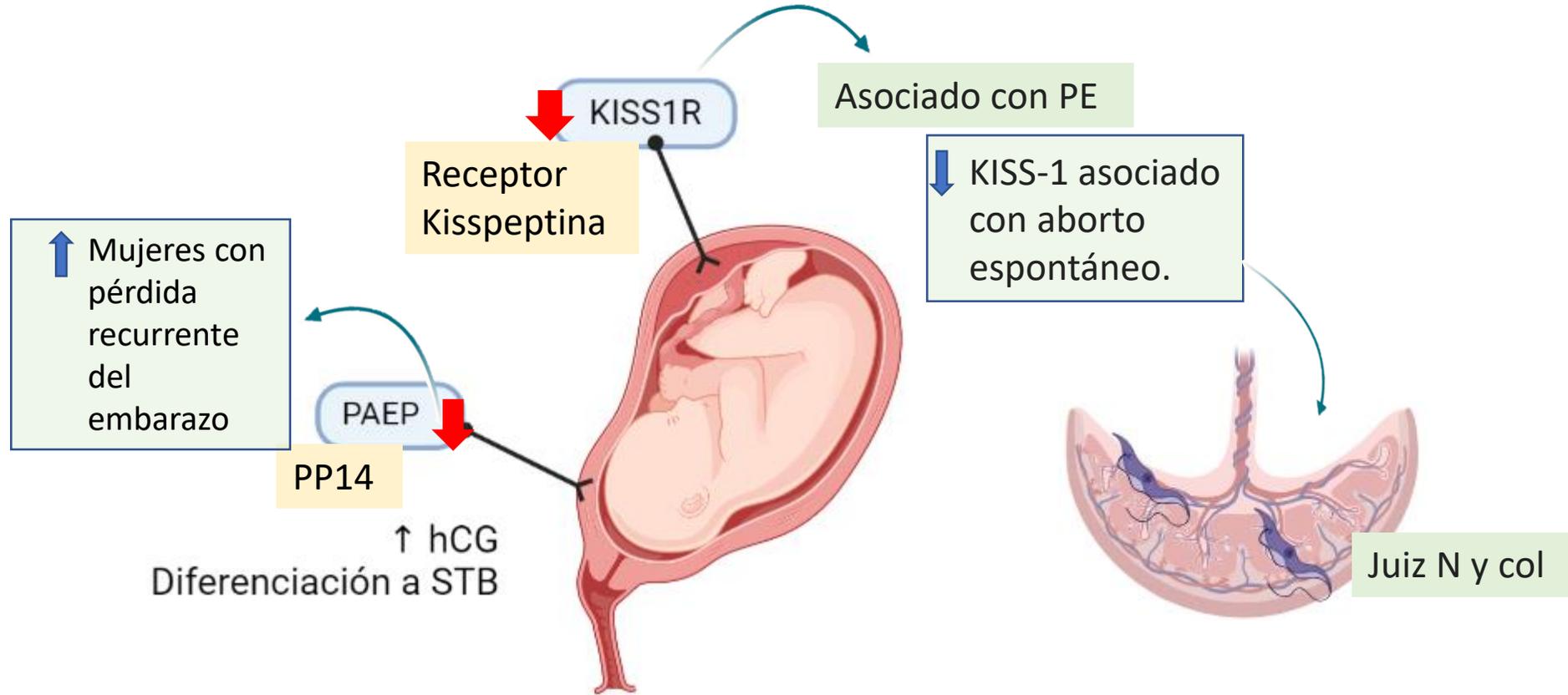
Resultado: Expresión diferencial de genes

Genes diferencialmente expresados regulados positivamente

Gen ID	FC	Descripción**
INSC	51.97	Participa en la orientación del huso durante la mitosis
C14orf180	47.29	Componente integral de la membrana
FFAR3	40.67	Participa en la vía de señalización de receptor acoplado a la proteína G que inhibe el adenilato ciclasa y en la respuesta celular a los ácidos grasos.
WFDC13	36.44	Codifica un antígeno tumoral auto inmunogénico de la familia ESO/LAGE de antígenos de cáncer de testículo
CTAG2	36.27	Codifica un antígeno tumoral auto inmunogénico de la familia ESO/LAGE de antígenos de cáncer de testículo
RDH12	25.36	Codifica una enzima que participa en el metabolismo de los aldehídos de cadena corta.
PRSS48	16.68	Actividad de endopeptidasa de tipo serina
NRG3	13.41	Codifica ligandos para los receptores ERBB3 y ERBB4. Activas respuestas celulares que incluyen proliferación, migración, diferenciación y supervivencia o apoptosis.
RASSF10	12.63	Participa en la regulación positiva de la proliferación de células precursoras neurales y la regulación positiva de la neurogénesis.
C6orf141	10.66	Participa en la eclosión de blastocistos.

**Descripción tomada de GeneCards – the human gene database www.genecards.org

Genes asociados a resultados adversos del embarazo



DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

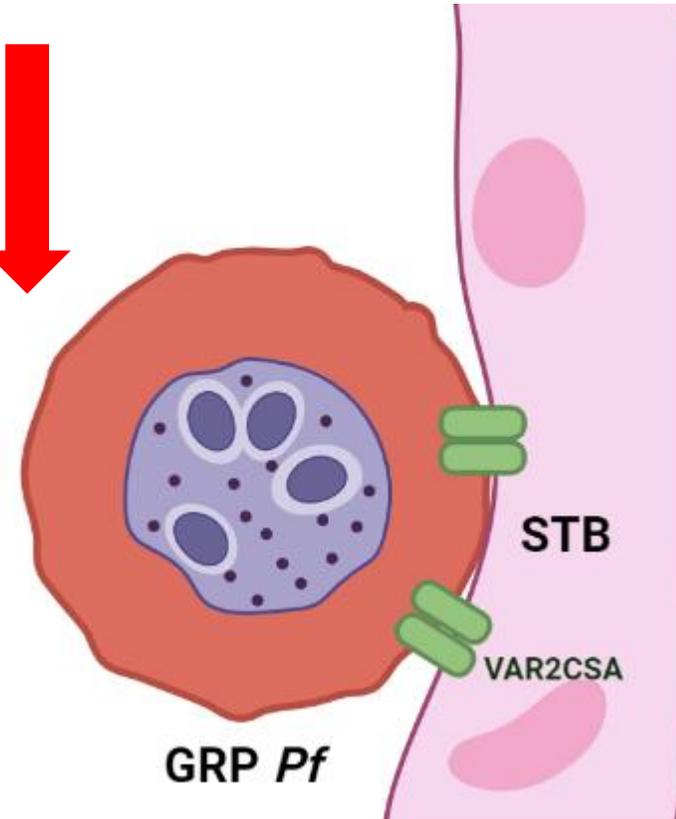
Genes asociados a resultados adversos del embarazo

↑ **MMP17** Placentas de maternas con **CYP27B1** preeclampsia (PE)

↑ **ZNF831** sangre periférica de maternas con PE

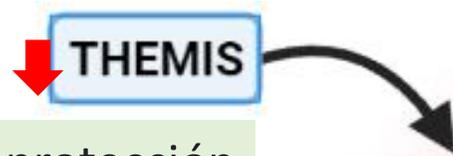
↑ **SERPINB7** sangre periférica de maternas con partos prematuros

MMP17
CYP27B1
ZNF831
SERPINB7



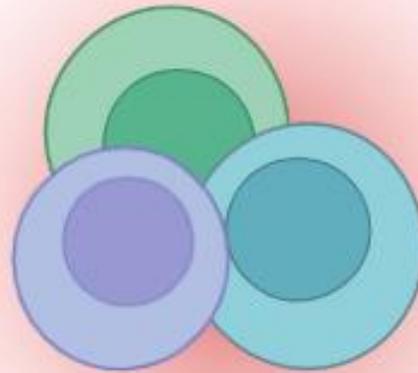
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Genes asociados a resultados respuesta inmune



Asociado en la protección contra la MC en ratones.

Efecto regulador reduciendo la expansión de linfocitos T CD4+ y CD8+,



↑TPH infectados con *T. gondii*.

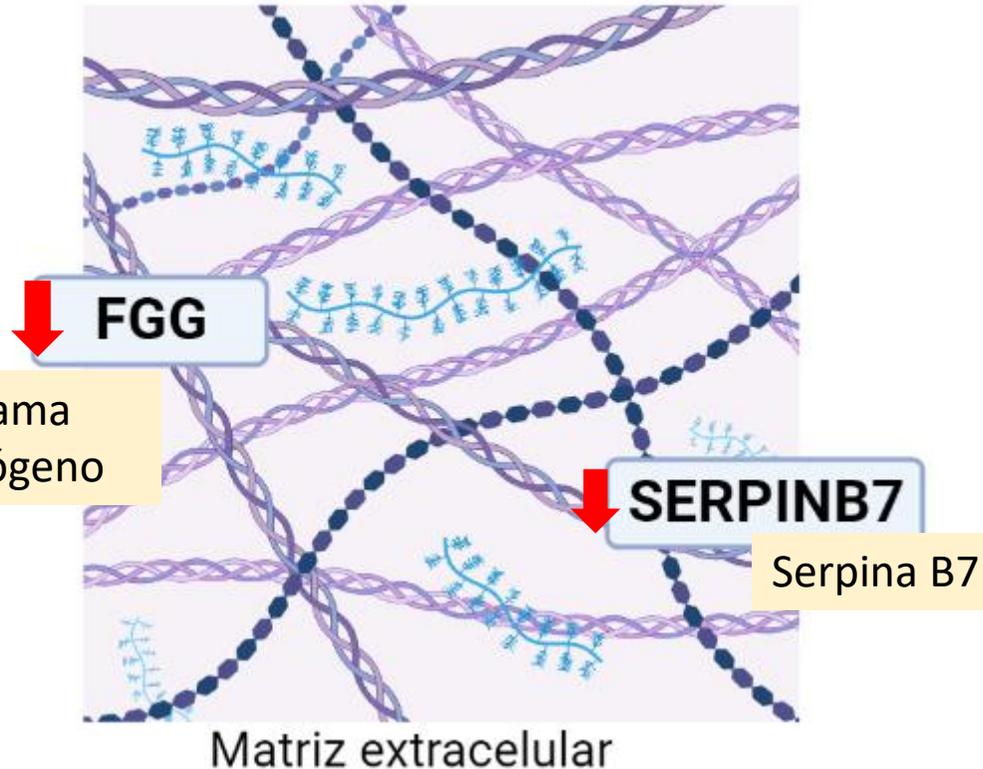
↓TB infectados por *Listeria monocytógenes*

Leucocitos de sangre periférica de pacientes con pérdidas recurrentes del embarazo



Genes relacionados la matriz extracelular y el estroma vellososo

Desregulación de proteínas de la matriz extracelular en respuesta a infecciones afecta la integridad de la barrera placentaria



Cadena gama del fibrinógeno

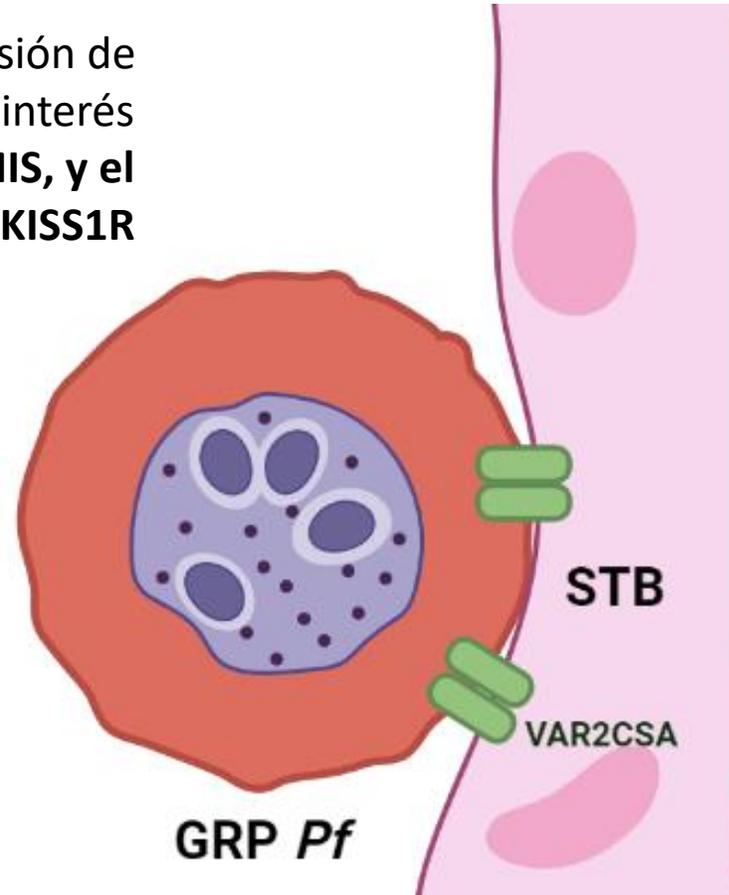
Serpina B7

⊘ Plasmina
↑ Colágeno tipo IV
Expresión alterada de colágeno: abortos recurrentes, diabetes mellitus gestacional y PE

Perspectivas

Confirmar los cambios en la expresión de los genes o sus productos de mayor interés en el modelo: **PAEP, IRF4, THEMIS, y el complejo KISS1/KISS1R**

Evaluar el comportamiento de **THEMIS** en y así determinar su rol en la regulación de la respuesta inflamatoria, específicamente en la activación de linfocitos T.



Investigar la asociación entre la expresión de **SERPINB7/megsina** con la desregulación en la expresión del colágeno en tejido placentario en presencia de Ei

Evaluar el papel del gen **PAEP/glicodelina** en el daño observado en la integridad del tejido placentario.



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA**

1 8 0 3

Gracias



Ciencias