

**LA PLASTICIDAD DE LAS CÉLULAS ENDOTELIALES INDUCIDA
POR EL DENGUE**

- un enfoque desde las redes complejas -

Paula Andrea Camacho Villa

Cód. 1.098.804.301

Universidad de Pamplona
Facultad de Ciencias Básicas
Departamento de Biología
Pamplona, Norte de Santander

2022

**LA PLASTICIDAD DE LAS CÉLULAS ENDOTELIALES INDUCIDA
POR EL DENGUE**

- un enfoque desde las redes complejas -

Trabajo de grado para optar por el título de:

Bióloga

Director:

Nelson Josué Fernández B. Sc. M. Sc. Ph. D

Codirectora:

Juliana Estefanía Arcila Galvis B. Sc. M. Sc. Ph. D.(c)

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Biología

Pamplona, Norte de Santander

13 de junio de 2022

Dedicatoria

A la Paula de hace 18 años, la que soñó despierta con ser Bióloga y abrazó con tantas fuerzas su deseo que por fin lo cumplió. A ella, que no se rindió, que fue resiliente en el proceso y lo logró.

A ella le dedico cada letra de este escrito; le pertenece.

Agradecimientos

Al Dios de amor y tranquilidad, a la paz que habita en mi ser.

A mis cimientos, mis padres, que con verraquera me brindaron la oportunidad de cumplir lo que soñé desde mi infancia.

Al amor de mis días, mi hermana, mi regalo favorito de vida.

A la familia que escogí, mis amigos, que durante años me han apoyado y han sido partícipes de mi proceso de evolución en cada ámbito de mi vida.

A las personas que creyeron en mi sin desfallecer, que me abrazaron a la distancia, que invirtieron tiempo, cariño y conocimiento, Helifonso, Nelson y Juliana.

A cada uno de ustedes, gracias por estar y permanecer.

Resumen

A través de los años, en el estudio del desarrollo embrionario, se han encontrado diferentes tipos de plasticidad celular (CP) y también cuando se han producido lesiones o daños en las células. Recientemente, se ha descubierto que un tipo particular de CP se puede encontrar en las células endoteliales de alguna infección viral, como el virus del dengue (DENV). Esta infección provoca una Disfunción Endotelial (EndDys) caracterizada por un cambio en el fenotipo celular (endotelial a mesenquimal) Transition- EndMT), aumento de la permeabilidad vascular y baja expresión de algunas moléculas como la E-cadherina.

Dado que EndDys puede estar involucrado en varios procesos fisiológicos, tales como, mal funcionamiento cardiovascular, cardiopatía congénita, fibrosis sistémica y orgánica, pulmonar hipertensión arterial y aterosclerosis, su extracción promete aplicaciones potenciales en medicina regenerativa. Por lo tanto, el modelado de los componentes moleculares y sus interacciones son necesarias para comprender y dilucidar la estructura y dinámica de los fenómenos EndDys causados por DENV como un nuevo tipo de CP.

Con este fin, se presenta un modelo de red booleano de las moléculas implicadas en EndDys obtenidas a partir de un estudio bibliométrico sobre varias bases de datos. Se realizó el metanálisis y revisión sistemática en repositorios de PubMed, Scopus, CORE, GitHub y GitLab y se encontraron 79.531 trabajos, resultando en 393 artículos seleccionados. De estos documentos, sólo 33 estudios fueron extraídos utilizando criterios de exclusión y filtros para ecuaciones de búsqueda. En estos 33 artículos, encontramos 54 moléculas relacionadas con fenómenos CP generaron 128 interacciones.

Se encontraron las rutas de señalización de VEGF, la cual está involucrada en la activación de EC durante la remodelación vascular. Por lo general, durante la angiogénesis, VEGFA se une

a un homodímero VEGFR2 y activa la señalización de otras moléculas. Por otra parte, la señalización de RhoA mediada por el receptor Tie-2 por Ang-1 da como resultado la activación de Rac1, que inactiva RhoA. El Rac1 activado promueve la acumulación de VE-Cadherina en las uniones inter-endoteliales, mientras que la inactivación de RhoA previene la formación de fibras de estrés de actina y juntas conducen a la estabilización de la barrera endotelial. Por último, la actividad de SNAI1, SNAI2 son necesarias para la diferenciación de células mesenquimales, además, es importante tener en cuenta que el factor de transcripción GATA2 está involucrado en la dinámica de la regulación de la identidad de las CE, además la pérdida de esta misma induce en EndMT. La activación de GATA2 en las células endoteliales activa la transcripción de Vegfr2, Nrp1 y el propio GATA2.

Nuestro modelado constituye un marco teórico que incorpora los datos públicos de los resultados experimentales, es decir, un resumen del estado actual del tema en cuestión, permitiendo el análisis computacional. Al mismo tiempo, nuestro modelo puede generar algunas hipótesis y orientar investigación empírica para entender el marco regulatorio de los mecanismos de CP cuando DENV está involucrado.

Contenido

| | Pág. |
|--|-------------|
| Introducción..... | 11 |
| 1. Objetivos..... | 13 |
| 1.1. Objetivo General | 13 |
| 1.2. Objetivos específicos | 13 |
| 2. Marco Teórico y Estado del Arte..... | 14 |
| 2.1. El Endotelio..... | 14 |
| 2.2. Células Mesenquimales..... | 15 |
| 2.3. Plasticidad y Diferenciación Celular | 16 |
| 2.4. Disfunción Endotelial | 19 |
| 2.5. Transición Endotelial – Mesenquimal..... | 20 |
| 2.6. Antecedentes de Modelos en EMT y EndMT | 24 |
| 2.7. Patologías Vasculares por EndMT y el Dengue | 25 |
| 2.8. Modelado y Simulación | 28 |
| 2.8.1. Redes Booleanas (RB)..... | 28 |
| 2.8.2. Minería de Datos | 29 |
| 3. Metodología | 32 |
| 3.1. Minería de datos y de texto..... | 32 |
| 3.1.1. Redes de Co-ocurrencia..... | 36 |
| 3.1.2. Flujos de ejecución (Scripts) | 37 |
| Figura 7. <i>Métodos usados en la Minería de Datos.</i> | 37 |
| 3.2. Formalización de la red de regulación génica como un sistema complejo | 37 |
| 3.2.1. Modelado como Red Booleana | 37 |

3.2.2. Definición de Patrones y Atractores 38

3.3. Análisis de la topología de la red..... 38

4. Resultados 38

4.1. Cribado de artículos y flujos de ejecución 38

4.2. Minería de texto y redes de co-ocurrencia 41

4.2.1. Transición endotelial-mesénquimal (EndMT) 41

4.2.2. Disfunción endotelial..... 43

4.2.3. Disfunción endotelial y el virus del dengue 45

4.3. Identificación de moléculas 46

4.3.1. Moléculas revisión sistemática 46

6.4. Formalización de la red de regulación como un sistema complejo 49

4.4.1. Modelo formalizado como conjunto de ecuaciones booleanas..... 49

4.4.2. Visualización del modelo como red booleana. 50

4.5. Definición de patrones y atractores 52

4.6. Topología de la red 53

5. Discusión 54

5.1. Consideraciones de la revisión sistemática 54

5.2. Consideraciones de la abstracción computacional como modelo de regulación teórico55

6. Conclusiones 61

Bibliografía 62

Distancias entre los nodos de la red de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue 77

Lista de Figuras

| | Pág. |
|--|-------------|
| Figura 1. Cambios en las características celulares durante EndMT. | 21 |
| Figura 2. Representación gráfica de las activaciones canónicas y no canónicas del factor de crecimiento transformante TGF- β | 23 |
| Figura 3. Disfunción endotelial en patología DENV..... | 27 |
| Figura 4. Ejemplo de red booleana de diferenciación de células..... | 28 |
| Figura 5. Métodos usados en la Minería de Datos..... | 30 |
| Figura 6. Flujo de búsqueda y selección de artículos científicos..... | 35 |
| Figura 7. Métodos usados en la Minería de Datos..... | 37 |
| Figura 8. Síntesis del cribado (porcentajes)..... | 39 |
| Figura 9. Síntesis porcentual del cribado de artículos y scripts para la revisión sistemática. . | 41 |
| Figura 10. Red de co-ocurrencias para la ecuación de búsqueda “Endothelial to mesenquimal transition and virus”..... | 42 |
| Figura 11. Red de co-ocurrencias para la ecuación de búsqueda “Endothelial Dysfunction by Viral Infection”. | 44 |
| Figura 12. Red de co-ocurrencias para la ecuación de búsqueda “Endothelial dysfunction and severe dengue”..... | 46 |
| Figura 13. Atributos de las moléculas seleccionadas desde la literatura. | 47 |
| Figura 14. Atributos de las moléculas seleccionadas desde la literatura. | 49 |

Figura 15. Red de moléculas asociadas a la disfunción endotelial y EndMT inducida por el virus del dengue.51

Figura 16. Dendograma de las distancias entre los nodos de la red de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue7754

Lista de Tablas

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Ecuaciones de búsqueda. | 33 |
| Tabla 2. Distancias entre los nodos de la red de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue. | 78 |

Introducción

La plasticidad celular es considerada como una de las características más distintivas de los organismos multicelulares, se define como la capacidad que tiene las células con igual información genética (genotipo) de poder diferenciarse en distintos tipos celulares con fenotipos específicos para formar tejidos en la embriogénesis y organogénesis. Mientras que otras células especializadas del mismo organismo se des-diferencian en fenotipos menos específicos (Prince et al., 2017). Este fenómeno ha sido de vital importancia en la medicina regenerativa, ya que las células madres presentan mayor potencial de plasticidad celular y alta capacidad de reprogramación

A través de los años se han encontrados diferentes clases de plasticidad celular que ocurren en el desarrollo embrionario y cuando existen lesiones o daños celulares. Actualmente se ha encontrado que las infecciones virales inducen una plasticidad celular especial en las células endoteliales, causando una disfuncionalidad en la barrera endotelial caracterizado por la presencia de un fenotipo alterado, un aumento en la permeabilidad vascular y la disminución de expresión de moléculas como la e-cadherina (Lee et al., 2011).

En la infección del virus del dengue (DENV) específicamente, se ha evidenciado en experimentos in vitro que células endoteliales expuestas a medios condicionados por la infección previa del DENV cambian fenotípicamente, migran y presentan una expresión diferencial de microRNAs; es decir el DENV en las células endoteliales induce remodelamiento microvascular y otros procesos biológicos compatibles con el fenómeno conocido como Transición endotelial-mesenquimal o EndMT por sus siglas en inglés (Álvarez Díaz et al., 2019).

La EndMT en dengue solo ha sido estudiada a nivel de moléculas individuales y aspectos fenotípicos, sin embargo, para tener un mayor entendimiento de la dinámica y los estados del fenómeno se le debe considerar como un sistema complejo, es decir, pasar de las moléculas individuales a rutas interconectadas. En este sentido, el enfoque holístico de la biología de sistemas permitirá llevar más allá la comprensión del proceso biológico de EndMT en dengue, empleando herramientas teóricas, modelado y ciencias de la computación. Modelos teóricos recientes de EndMT, como el propuesto por Nathan Weinstein representan de manera amplia la red de regulación molecular de EndMT, no obstante, los mecanismos dinámicos integrados en en EndMT inducido por el virus del dengue aún no se comprenden bien (Weinstein et al., 2020).

Por esta razón este proyecto de investigación se propuso explicar el fenómeno de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue desde su abstracción computacional como un sistema complejo de redes de regulación génica. Este proyecto hizo parte de dos macro-proyectos en los que se busca una mayor claridad sobre los diversos estados que se estarían presentando entre el fenotipo endotelial, el mesenquimatoso, inducidos por medios condicionados por infección DENV. Así mismo tenía el propósito de obtener datos científicos sobre el potencial mutacional que tienen los medicamentos antivirales permitiendo dar un giro al tratamiento actual de la enfermedad en el que se considera que la causa principal de la disfunción endotelial en infecciones virales es una tormenta de citoquinas y pasar a una nueva visión en el que se plantea que la disfunción endotelial podría estar siendo causada por un fenómeno de plasticidad celular. De tal manera que los objetivos aquí planteados se alinean con lo que se pretende ejecutar en los macro-proyectos, desarrollando un modelo matemático-computacional alimentado con datos teóricos y experimentales de la plasticidad celular inducida por el virus del dengue.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Explicar el fenómeno de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue desde su abstracción computacional como un sistema complejo de redes de regulación génica.

1.2. Objetivos específicos

En cuanto al fenómeno de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus de dengue desde su modelado computacional como un sistema de redes de regulación génica esta propuesta pretende específicamente.

1. Caracterizar los elementos claves que interactúan funcionalmente y que han sido reportados en la literatura
2. Establecer las interacciones relevantes de los elementos claves, que determinan la dinámica del sistema.
3. Evaluar las características topológicas y las propiedades dinámicas emergentes del modelo de la red molecular resultante

2. Marco Teórico y Estado del Arte

2.1. El Endotelio

Las células endoteliales forman dentro del sistema vascular de un ser humano todo un órgano que trabaja sincrónicamente con la pared vascular y la adventicia, dicho órgano tiene diversas particularidades en la anatomía humana, por ejemplo, pesa aproximadamente 2Kg y su superficie alcanza los 1500m², casi el área de una cancha de tenis, regula el flujo sanguíneo de casi 7500 litros diarios y permite la salida de un 0,05% de líquidos hacia los tejidos vecinos (Fourcade, 2008). Sus funciones han permitido catalogarlo como un órgano dinámico, heterogéneo y diseminado que tiene funciones secretoras, sintéticas, metabólicas e inmunológicas, y cuya alteración es determinante en el curso de algunas enfermedades (Duboscq, 2017).

El endotelio como órgano se constituye como como una monocapa que separa los tejidos de la sangre, la cual actúa como una barrera selectiva que controla el movimiento de fluidos, iones y otras macromoléculas entre la circulación sanguínea y los tejidos adyacentes por medio de la regulación de los complejos de unión entre las células endoteliales (Carvajal, 2017). Las células endoteliales tienen una multitud de funciones que son específicas dependiendo de su localización, esto quiere decir que estas células son heterogéneas a nivel morfológico, expresión génica y composición antigénica, ya que los fenotipos endoteliales varían entre diferentes órganos, entre diferentes segmentos del lecho vascular dentro de un mismo órgano y entre CEs vecinas de un mismo órgano. (Carvajal, 2017). Dentro de sus funciones se incluyen el control del tráfico celular, la regulación del tono vasomotor, el mantenimiento de la fluidez de la sangre, el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos y el papel crucial en la homeostasis vascular (Duboscq, 2017).

Ahora bien, este trabajo de investigación se realiza con especial enfoque en las células endoteliales las cuales son las formadoras y precursoras de dicho órgano, estas células tienen la capacidad de adaptar su estado funcional a estímulos diversos y de allí surge la posibilidad de cubrir muchas funciones especializadas. A su vez, las CE son capaces de detectar y adaptarse a cambios tanto de tipo físico, relacionados con el estrés mecánico producido por el flujo sanguíneo, la presión arterial o la distensión de la pared, como de tipo químico, debidos a la liberación de sustancias por parte de las células sanguíneas o de los tejidos, es específicamente esta característica la que les permite a las CE mantener la homeostasis vascular (Badimón y Martínez, 2002).

2.2. Células Mesenquimales

Son un conjunto de células que pueden ser aisladas de diferentes fuentes: médula ósea, sangre de cordón umbilical, tejido adiposo, páncreas, hígado, músculo esquelético, dermis, membrana sinovial y pulpa dental; las cuales están catalogadas como células adultas multipotentes con morfología fibroblastoide y plasticidad hacia diversos linajes celulares (Socarrás, 2013). Por consiguiente, estas células tienen la particularidad de generar una variedad de tejidos mesenquimatosos especializados que incluyen hueso, cartílago, músculo, estroma de médula, tendón, ligamento, grasa y una variedad de otros tejidos conectivos (Caplan, 1994), esta particularidad de diferenciación celular tiene un impacto en el estado general de salud de las personas al controlar la capacidad del cuerpo para remodelar, reparar y, a demanda, rejuvenecer varios tejidos (Wang, et al., 2013).

Este conjunto de células ha estado sometido a diversos estudios, las investigaciones clínicas en humanos se han centrado en aplicaciones de este tipo de células en la reparación de tejidos usando administración a nivel celular. Por ejemplo, durante procedimientos clínicos que buscaban la regeneración de tejido óseo, se llevó a cabo una exitosa la aplicación de dichas células

mesenquimales a través vehículos porosos de fosfato de calcio (Bruder et al., 1994). También es posible aprovechar sus particularidades en la reparación de los tejidos cartilagosos, fueron aplicadas en sustrato de ácido hialurónico, el cual funciona como biomaterial para las células mesenquimales; dicho tratamiento ha generado buenos resultados en ensayos clínicos (Solchaga et al., 1999). Finalmente están los estudios en regeneración de tejidos musculares, las células mesenquimales se fusionan con los miotubos del huésped y forman fibras musculares funcionales (Shake et al., 2002).

Sin embargo, la presencia de células mesenquimales no siempre se relaciona con procesos beneficiosos para el organismo humano, es decir, en procesos como las transiciones de células epiteliales (EMT) y endoteliales (EndMT) a mesenquimales los resultados llegan a ser adversos. Estas diferenciaciones dan lugar a varios linajes que incluyen fibroblastos, miofibroblastos, células murales, osteoblastos, condrocitos y adipocitos, pero, también ha sido posible identificar patrones en sistemas de desarrollo cardíaco, fibrosis, nefropatía diabética, osificación heterotópica y cáncer (Medici y Kalluri, 2012).

2.3. Plasticidad y Diferenciación Celular

Para definir y tener un concepto claro acerca de este fenómeno es necesario remontarse al término de diferenciación celular, el cual se establece como un problema biológico con relación genética, que resulta ser un proceso por el cual una sola célula totipotente (cigoto) da lugar a un organismo multicelular constituido por varios tipos celulares especializados para llevar a cabo diversas funciones que son esenciales para la sobrevivencia del organismo (Kuri y Castro, 1987). Toda la variedad de células que posee una especie comparten un mismo genoma, es decir, el mismo conjunto de genes que pueden expresarse para dar lugar al fenotipo del organismo (Alberts et al., 2003). Tomando como base dicho término (diferenciación) es posible comprender de mejor

manera la capacidad que tienen las células para asumir las características (fenotipo) de otras células en un organismo, la cual es llamada plasticidad celular (Prince et al., 2017).

Retomando el tema referente a la diferenciación celular, Kuri y Castro en su trabajo de 1987 hacen especial énfasis en la embriogénesis como una etapa en la que se llevan a cabo la mayor parte de los procesos del desarrollo, así como en las etapas posteriores al nacimiento. Es en esta etapa embrionaria donde según los autores convergen tres procesos fundamentales en el desarrollo, los cuales son la morfogénesis, la diferenciación celular y el crecimiento (Kuri y Castro, 1987). Definen finalmente la diferenciación celular como el proceso por el cual se generan la presencia de diversos fenotipos en células que tienen el mismo genotipo y que pertenecen a un organismo multicelular. Dichos fenotipos celulares poseen características estructurales y funcionales los hacen diferentes de células vivientes en que no son esenciales para el mantenimiento de la vida celular (Kuri y Castro, 1987).

Helen Blau en su trabajo del año 1985 encontró una evidencia propia de lo que se considera plasticidad celular, su investigación estuvo basada en experimentos en los que células musculares fueron fusionadas con otras no musculares, evidenciando que en estas últimas existía una expresión de genes típicos de músculos. Sin embargo, esta investigación era iniciada con una relación más estrecha en lo que respecta a la diferenciación celular, ya que esta autora consideraba que el proceso de la célula madre hacia el fenotipo tejido específico estaba determinado hacia la especialización por una ruta específica y en la discusión de los resultados le fue posible determinar que la expresión de genes en los núcleos de células diferenciadas es marcadamente plástico y susceptible a modulación por señales del citoplasma. (Blau, et al., 1985), es decir, así como las células madre pueden ser precursoras de células con funciones especializadas determinadas

inicialmente, estas células especializadas tienen la capacidad de adaptarse según los requerimientos del sistema en el cual se desarrollen.

Otros autores más actuales como Tata y Rajagopal en el año 2016 realizaron toda una evolución del concepto de plasticidad celular a través de otros experimentos, e inician su estudio haciendo alusión a la regeneración de tejidos dañados por lesiones tisulares, fenómeno que se relacionaba al funcionamiento de mecanismos homeostáticos que permiten la regeneración de dichos tejidos, explicándolo por medio de la replicación de células madre / progenitoras adultas y su posterior diferenciación o mediante la replicación de células maduras diferenciadas. Es decir, dichos mecanismos supuestamente obedecían a jerarquías de linaje definidas, pero estos autores aseguran que cada vez es más claro que las jerarquías de linaje direccional clásico no definen todos los caminos fisiológicamente relevantes que puede recorrer una célula en regeneración (Tata y Rajagopal, 2016).

Finalmente, en este estudio se concluye que existe una contribución de la plasticidad celular a través de desdiferenciación, transdiferenciación y transdeterminación *in vivo*, en la regeneración de tejidos lesionados y responden ante situaciones donde se involucran infecciones, alérgenos o lesiones tóxicas. Pero, estos autores dan un aporte que permite adentrarse en el planteamiento del problema de este trabajo de investigación, ya que estos aseguran que los tejidos tienden a mantener los tipos y números celulares adecuados durante la homeostasis, pero cuando la plasticidad no se da dentro de casos que realmente lo necesite el organismo es probable que ésta contribuya a la patología en estadíos de enfermedad donde se evita la respuesta regenerativa normal (Tata y Rajagopal, 2016).

2.4. Disfunción Endotelial

Como bien se mencionado previamente el endotelio cumple diversas funciones que hacen de él un órgano único, una de ellas es la relacionada a la homeostasis vascular la cual funciona como un proceso que mantiene el equilibrio a través de la regulación y mantención de las condiciones internas del sistema circulatorio respecto a los cambios externos. En lo que respecta a la homeostasis vascular estos cambios externos son provocados por distintos factores hemodinámicos (p.ej. presión y fuerzas de rozamiento) y hormonales (p.ej sustancias vasoactivas, así como mediadores que se producen en las células sanguíneas y plaquetas), la función del endotelio es precisamente detectar estos cambios y sintetiza y libera sustancias biológicamente activas que mantienen este equilibrio (Verdejo, 2006).

Otra de sus funciones primordiales consiste en el control del tono vascular, el cual está regulado por la producción y liberación de varios factores dilatadores y constrictores. Cuando se trata de dilatación el factor más importante es el NO (Óxido Nítrico), el cual también influye en muchos de los efectos vasoprotectores del endotelio normal (Verdejo, 2006).

Según esta información es posible determinar que la disfunción endotelial se considera a la presencia de un fenotipo endotelial alterado que produce un incremento de la permeabilidad vascular y, lo predispone a la agregación plaquetaria, la trombosis, la inflamación, y a la vasoconstricción (Badimón y Martínez, 2002), a esta condición se le suma estrés oxidativo aumentado, expresión aumentada de factores protrombóticos y proinflamatorios y una vasorreactividad aumentada (Carvajal, 2017). Es decir, en condiciones normales hay un balance entre las sustancias con propiedades vasodilatadoras, antitrombogénicas, antimiotogénicas y las sustancias con propiedades protrombóticas, proliferativas, vasoconstrictoras. Por el contrario, durante una disfunción endotelial hay un desbalance de estas propiedades y prevalece un estado

vasoconstrictor, proinflamatorio, prooxidante protrombótico o pro-coagulante y con características de adhesión provascular (Thosar et al., 2012; Mudau et al., 2012).

Finalmente cabe resaltar que esta disfunción puede contribuir en el desarrollo de otros desórdenes vasculares, enfermedades crónicas o aterosclerosis ya que puede ser vista como una condición sistémica asociada a la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular y se observa en varias formas clínicas de enfermedades cardiovasculares (Flammer et al., 2012). Teniendo en cuenta esta particularidad es posible dar inicio a una relación con los cuadros clínicos presentados por el Dengue Hemorrágico, por ejemplo, Yau, Teoh y Verma en su trabajo del año 2015 aseguran que en el estado de disfunción endotelial las células endoteliales activadas participan en la activación de la trombina a través de la expresión de factores procoagulantes que contribuyen tanto a la iniciación como a la generación de trombina (Yau, Teoh y Verma, 2015) por lo tanto a través de la alteración de la producción de NO los estímulos aterogénicos perturban profundamente la homeostasis vascular y potencian el desarrollo de lesiones ateroscleróticas (Badimón y Martínez, 2002). Esto guarda relación con el virus del dengue a razón de que las hemorragias producidas por dicho virus son el producto de las lesiones en el endotelio vascular, de la trombocitopenia, de la disfunción de las plaquetas y de la alteración de los factores de coagulación (Pizarro, 2009).

2.5. Transición Endotelial – Mesenquimal

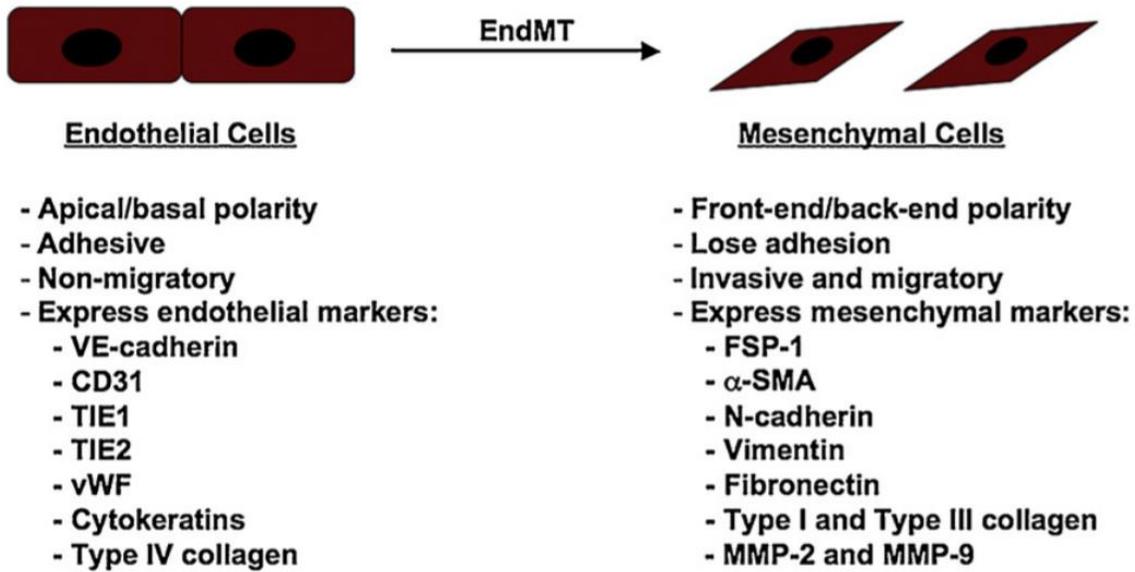
Esta transición es considerada como un proceso embrionario fisiológico que inicialmente da lugar a la formación completa del corazón, el cual necesita de este para poder generar y madurar el colchón endocárdico que conduce a la formación de los tabiques y las válvulas. Cabe resaltar que en el momento en el que este proceso sufre alguna regulación defectuosa desencadena fisiopatologías relacionadas a malformaciones cardiovasculares, cardiopatía congénita, fibrosis sistémica y orgánica, hipertensión arterial pulmonar y aterosclerosis (Weinstein et al., 2020). La

conversión de células endoteliales en células mesenquimales durante EndMT, no contempla un cambio permanente entre dos fenotipos de diferenciación celular sino se considera como un proceso de transición flexible y temporal en el que las células evolucionan a través de un espectro de fases intermedias (Welch-Reardon et al., 2015).

Este proceso de transición se caracteriza por profundos cambios morfológicos, funcionales y moleculares en el fenotipo de las células endoteliales. Los cambios morfológicos surten efecto debido a las alteraciones en la polaridad celular y a la notable reestructuración del citoesqueleto (Piera y Jiménez, 2019). Durante este proceso los marcadores de las células endoteliales como la cadherina VE, CD31, TIE1, TIE2, factor Von Willebrand (vWF) y citoqueratinas son reprimidos mientras que la expresión de marcadores de células mesenquimales como α - la actina del músculo liso (α -SMA) y la calponina mejoran (Medici y Kalluri, 2012) por consiguiente, a nivel molecular, las células endoteliales inician la expresión de genes específicos de células mesenquimatosas y la producción de sus proteínas correspondientes (Piera y Jiménez, 2019), por lo tanto se genera una pérdida de características endoteliales como la antitrombogenicidad y la capacidad de germinación angiogénica (Krenning et al., 2016). Estos cambios en la expresión de genes y proteínas hacen que las células endoteliales pierdan su adhesión y estimulan alteraciones en la composición y organización del citoesqueleto para inducir un cambio sorprendente en la morfología celular que forma células alargadas en forma de huso. Estas células mesenquimales recién formadas son altamente invasivas y migratorias (Medici y Kalluri, 2019).

Figura 1.

Cambios en las características celulares durante EndMT.



Nota. Tomado de Medici, D. y Kalluri, R. (2012). Endothelial–mesenchymal transition and its contribution to the emergence of stem cell phenotype. *Seminars in Cancer Biology*, 22, p. 379 – 384.

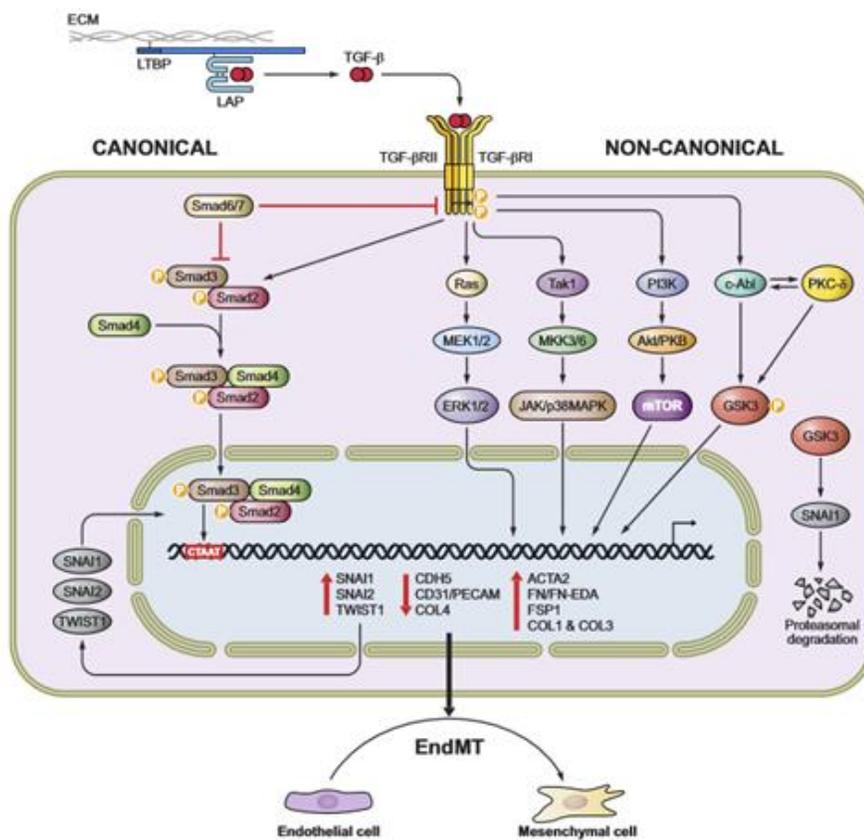
Entre los factores de estímulo para la generación de este proceso EndMT se destaca el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) / familia de factores de crecimiento de la proteína morfogenética ósea (BMP). Este factor de crecimiento transformante beta posee tres isoformas (TGF-1- β 1, TGF β 2 y TGF β 3) de las cuales se ha demostrado que inducen EMT (otro fenómeno de transición que involucra células epiteliales). Sin embargo, el EndMT aparece para ser estimulado principalmente por la isoforma TGF- β 2 (Medici y Kalluri, 2012).

La activación de estos factores de crecimiento transformante beta (TGF- β) se da a través de una señalización canónica en las células endoteliales por medio del receptor de TGF β tipo II (TGF β 2) que activa el receptor de TGF β tipo I Activinasa – Quinasa (ALK) 5, activando Smad2/3 regulado por el receptor, y conduce a la inhibición de la célula proliferación e inducción de EndMT (Krenning, 2016). Este autor también describe la activación del TGF- β a través de una señalización

no canónica la cual consiste en la activación de las vías de señalización ERK1/2 y p38 MAPK y la inducción en cascada del factor de transcripción mesenquimatoso Snail, Las moléculas proinflamatorias, como IL1 β y TNF α , se sinergizan con TGF β en la inducción de EndMT y además la molécula IL1 β y TNF α inducen la expresión de Snail y Slug, dos factores fundamentales factores de transcripción en EndMT.

Figura 2.

Representación gráfica de las activaciones canónicas y no canónicas del factor de crecimiento transformante TGF- β



Además de las vías de señalización de TGF β , se ha demostrado la participación de otras importantes vías reguladoras de señalización en la inducción de EndMT en ciertos contextos

celulares específicos. Estas vías moleculares incluyen la señalización Notch, la vía Wnt canónica, así como otros mecanismos reguladores importantes mediados por las citoquinas y otros mediadores inflamatorios, caveolina-1 (CAV1), endotelina-1 (ET-1), el factor inducible de hipoxia. (HIF) -1 vía inducida por hipoxia, y la respuesta al estrés oxidativo. (Fig 5). Otras moléculas como factores de crecimiento derivados de plaquetas PDGFAA y PDGFBB también tienen un rol en la regulación de EndMT (Piera y Jiménez, 2019).

2.6. Antecedentes de Modelos en EMT y EndMT

Las células del endotelio suelen ser similares en morfología a las células epiteliales, por sus formas aplanadas y porque justamente este tipo de células también sufren procesos de transición a células de tipo mesenquimal. Ambos tipos de transiciones han sido estudiados para determinar su impacto dentro de diversas enfermedades (EMT y EndMT). La transición tipo EMT funciona de manera muy similar a la EndMT, se describe como un proceso que involucra cambios como la pérdida de la polaridad celular, adquisición de una capacidad migratoria, capacidad invasora, resistencia a la apoptosis y aumento en la producción de componentes de la matriz extracelular. Estos procesos se desarrollan como la consecuencia de la activación y represión de genes involucrados con rutas de señalización específicas relacionadas con este evento (Troncoso et al., 2017).

En los estudios realizados por Piera y Jiménez en el año 2019, se hace una revisión de diferentes patologías en las que se relacionan estos procesos de transición. Se hace alusión a investigaciones de la ocurrencia de EndMT *in vitro* usando células endoteliales humanas provenientes de diferentes órganos. Dentro de los estudios que tuvieron en cuenta los autores están los de Zeisberg et al., (2007) el cual mostró que las células endoteliales de la arteria coronaria humana cuando se pasaron *in vitro* y se cultivaron con TGF-1 se volvieron alargadas con formas

de huso y perdieron sus marcadores moleculares de células endoteliales, adquiriendo simultáneamente la capacidad de producir varias macromoléculas específicas de fibroblastos, incluidas vimentina y Procolágeno tipo I. estas macromoléculas son contribuyentes de enfermedades relacionadas a la fibrosis la cual es prominente en las enfermedades renales como el síndrome de Alport y la nefropatía diabética.

En lo que respecta al cáncer las investigaciones arrojan que aproximadamente el 40% de los fibroblastos asociados a la formación de tejidos tumorales están relacionados directamente con el proceso de EndTM (Piera y Jiménez, 2019). Ya que ha demostrado que TGF-2- β induce la transdiferenciación mesenquimatosa de células endoteliales microvasculares humanas a células similares a los fibroblastos asociados al cáncer conocidos por sus siglas en inglés como CAF y también está comprobado que la estimulación de TGF-2- β resultó en la activación de MRTF, tal interacción inducida a la sobreexpresión de quinasa ligada a integrina (ILK), sugirieron un nuevo eje ILK-MMP9-MRTF (Factor de Transcripción Relacionado con la Miocardina) que parece ser crítico para el aumento de EndMT Células tipo CAF (Ciszewski, et al., 2017). Se ha sugerido que los CAFs regulan la metástasis mediante la secreción de citocinas como el TGF-1- β , que induce EMT de las células cancerosas y se suma el fenómeno de la hipoxia como otra condición en la cual puede ocurrir la formación de fibroblastos dependiente de EndMT (Medici y Kalluri, 2012).

2.7. Patologías Vasculares por EndMT y el Dengue

Ahora bien, es necesario dar énfasis en los estudios de modelos de EndTM que están relacionados a patologías vasculares. Durante el desarrollo de este marco teórico se especificó cómo la disfunción endotelial es también precursora de algunas de estas patologías, es en este punto donde convergen las teorías y estudios revisados a fondo, ya que existe la posibilidad de unir estos dos fenómenos como se revisará a continuación.

La disfunción endotelial ha tenido pocos estudios que verifiquen la relación que tiene dicha patología con los procesos de EndTM. Algunos de estos estudios arrojan resultados que indican que los procesos de EndTM posiblemente afectan los compuestos que funcionan como protección a las células endoteliales inhibiéndolos a través de las alteraciones provocadas por la EndTM, unos de estos compuestos son las lipoproteínas de alta densidad (HDL), ApoA1 y las estatinas. Este concepto se examinó directamente en células endoteliales aórticas humanas cultivadas, y los resultados proporcionaron la primera evidencia *in vitro* de que HDL redujo EndMT inducida por TGF-1- β , para la ApoA1 la cual funciona como compuesto que permite la suspensión de la disfunción endotelial inducida por TGF-1- β proporcionando un efecto protector para el EndMT inducido por TGF-1- β (Spillman, et al., 2015), se observó que en el cultivo de células endoteliales de la arteria coronaria humana que causan expresión elevada de marcadores fenotípicos específicos de células endoteliales y una marcada reducción de los niveles de expresión de Slug y Snail, factores transcripcionales cruciales de EndMT (Feng, et al., 2017).

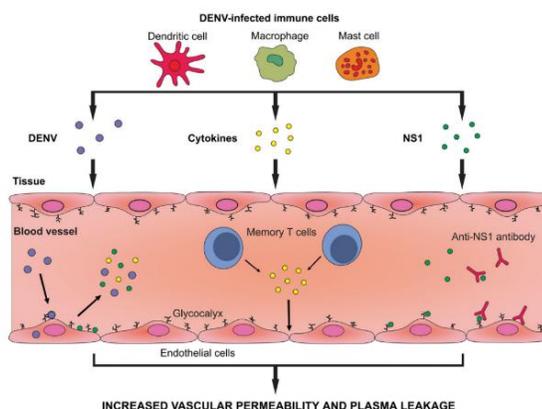
Esta patología vinculada a la disfunción de las células endoteliales es bastante común en las enfermedades causadas por virus tales como el dengue, conocido por sus siglas DENV. Estudios recientes indican que también se replica en las células endoteliales y que las células endoteliales infectadas con DENV pueden contribuir directamente a la viremia, la activación inmune, la permeabilidad vascular y el direccionamiento inmune del endotelio. Además, se ha informado que la proteína viral no estructural 1 y los anticuerpos dirigidos contra esta proteína secretada están involucrados en disfunción de las células endoteliales (Vervaeke et al., 2014).

Los estudios que se han hecho al respecto a través de evaluaciones de tejidos capilares en la piel y biopsias mostraron que existe una distorsión marcada con la inflamación de las células endoteliales, pero no vasos excesivamente dañados. Sin embargo, se encontró un aumento

significativo en las CE circulantes en pacientes con síndrome de shock por dengue en comparación con pacientes con fiebre por dengue o fiebre por dengue hemorrágico. Los pacientes con DENV positivo también tenían niveles elevados de molécula de adhesión celular soluble soluble-1 (sVCAM-1), molécula de adhesión intercelular soluble-1 (sICAM-1) y E-selectina soluble, que junto con un mayor número de CE circulantes en pacientes con DHF sugieren activación y daño de la CE (Saphapong et al., 1980; Butthep et al., 2006; Cardier et al., 2006).

Figura 3.

Disfunción endotelial en patología DENV.



Nota. Resultados de la infección por DENV de células dendríticas, monocitos / macrófagos y mastocitos en viremia y en la producción y secreción de citocinas, quimiocinas y otros factores que pueden afectar la integridad del endotelio.

La evidencia clínica también indica que la lesión de la CE La infección por dengue puede estar asociada con cambios en los niveles plasmáticos de (anti) coagulación y parámetros de fibrinólisis. Algunos de estos los factores se asociaron con la gravedad de la enfermedad, como como trombomodulina soluble (sTM), que se encuentra a niveles más altos en pacientes con DH / DSS que en DF (Butthep et al., 2006).

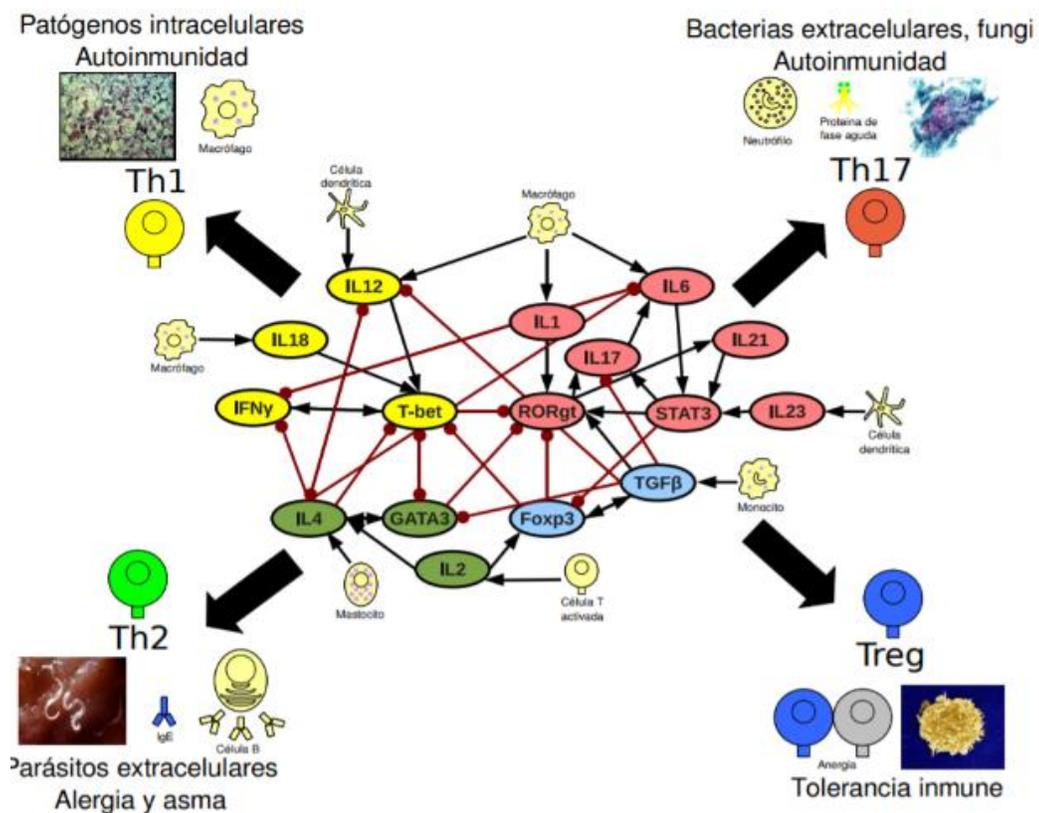
2.8. Modelado y Simulación

2.8.1. Redes Booleanas (RB)

Las redes booleanas (RB), son el modelo más simple para representar redes regulatorias génicas (Palma, 2015). El concepto de RB fue propuesto originalmente a finales de los 1960s por Stuart Kauffman para modelar la regulación génica a nivel celular.

Figura 4.

Ejemplo de red booleana de diferenciación de células.



Nota. Tomado de Martínez, M. (2011). Dinámica de la diferenciación de células Th: modelación con redes booleanas. Departamento de Matemáticas de la Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México.

Una red booleana consiste en N nodos con estados que toman valores de 1 o 0 (Booleanos). El estado de cada nodo es determinado por el número de interacciones (promedio) K . La estructura de la red es determinada por los nodos interactuante la función de la red es dada por tablas de actualización que determinan el estado futuro de cada nodo, en dependencia del estado de los nodos con los que interactúa. La estructura y función son inicialmente generadas de forma aleatoria, y se mantienen fija en lo subsiguiente (Gershenson, 2004).

Dependiente de las diferentes propiedades estructurales y funcionales, las dinámicas de las redes booleanas puede ser ordenadas, caóticas o críticas (compleja). Las dinámicas ordenadas son características de redes con nodos que cambian poco; el orden conduce a la robustez (Gershenson, 2004). Dinámicas caóticas son características de redes con nodos de estados cambiantes, lo que conduce a alta fragilidad. Dinámicas críticas (complejas) vienen del balance entre los regímenes caóticos que dan variabilidad, con la robustez de regímenes ordenados.

Los modelos representados con redes booleanas permiten capturar la dinámica general de sistemas cuyos estados son continuos (Rivera, 2013). A pesar de su simplicidad, las **RB** ellas proveen un marco teórico en el cual diferentes fenómenos pueden ser reproducidos y estudiados.

2.8.2. Minería de Datos

La “Data Mining” ó minería de datos, es una etapa dentro de un proceso mayor llamado extracción de conocimiento en bases de datos, el cual intenta obtener patrones o modelos a partir de los datos recopilados. Decidir si los modelos obtenidos son útiles o no suele requerir una valoración subjetiva por parte del usuario (Valcárcel, 2004). Otros autores pueden definir como Data Mining como una reunión de ventajas de varias áreas como la Estadística, la Inteligencia Artificial, la Computación Gráfica, las Bases de Datos y el Procesamiento Masivo, principalmente usando como materia prima las bases de datos, es decir, es la integración de un conjunto de áreas

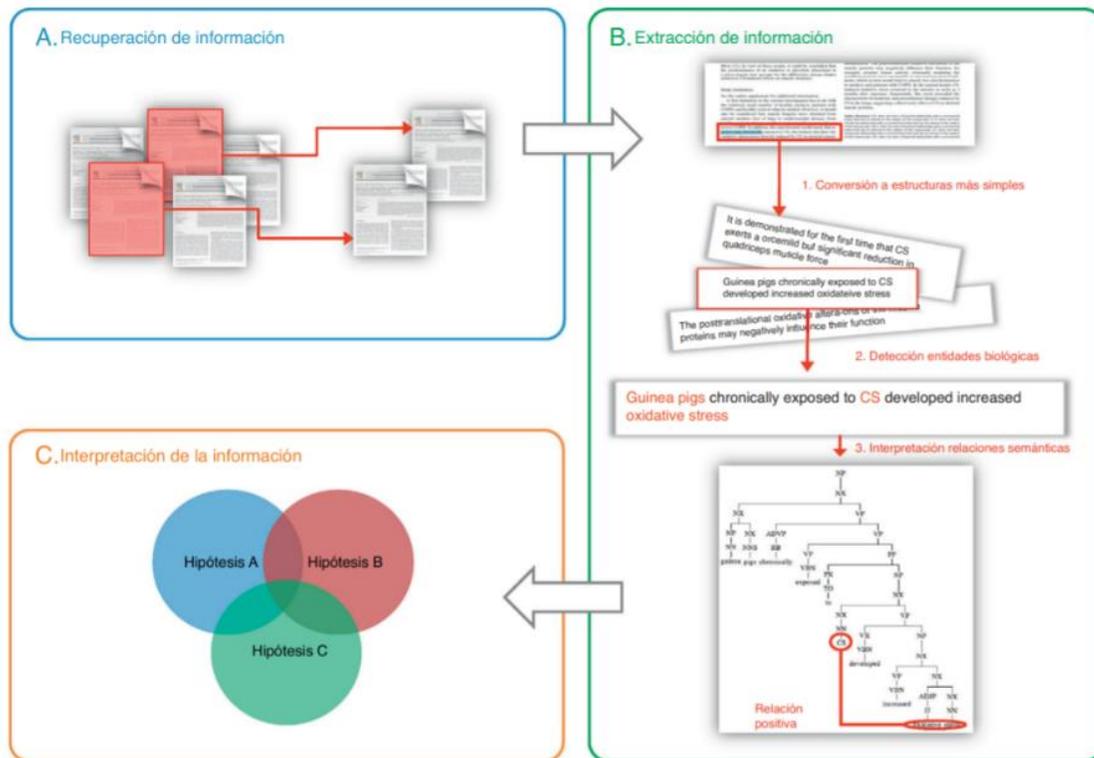
que tienen como propósito la identificación de un conocimiento obtenido a partir de las bases de datos que aporten un sesgo hacia la toma de decisión (Vallejos, 2006).

Finalmente, una definición que habla del propósito de la minería de textos o de datos, es la de Piedra, Ferrer y Gea en su trabajo investigativo del año 2014, en el cual aseguran esta metodología reúne un conjunto de técnicas informáticas que permiten el procesamiento de información digital de forma automatizada. Esto permite no solo disponer de dicha información en formato manejable, es decir, esta herramienta ayuda a gestionar gran cantidad de información, extrayéndola de fuentes diversas mediante sistemas de procesamiento (filtrado y curado), integrándola y permitiendo la generación de nuevo conocimiento (Piedra et al. Gea, 2014).

La minería de datos o de textos como es llamada también, tiene variedad de aplicaciones y su versatilidad le ha permitido integrarse o participar en diferentes proyectos de investigación de disciplinas en las que se encuentra la biología y la medicina. Esta metodología está constituida de fases o etapas necesarias para que cumpla con su objetivo. Inicialmente se habla de un pre-procesado, el cual elimina el exceso de documentos a analizar, seguido a esto se procede a realizar un análisis exploratorio de éstos para obtener información descriptiva de cada grupo y con ella, se elabora un clasificador. Lo que se busca con este, es que, al proporcionarle un nuevo documento, pueda determinar la carpeta en la que exista coincidencia con el documento y su texto. Estos clasificadores se muestran a través de aplicaciones que funcionan con algún código determinado (Calvo, 2016).

Figura 5.

Métodos usados en la Minería de Datos.



El primero corresponde a la Recuperación de la información; la segunda Extracción de la información, y por último la Interpretación de la información que puede llevar consigo más de una hipótesis corroborada. En el paso de la extracción de la información hay unas etapas más profundas aplicadas a la biología y la medicina que constan de: 1) descomposición de la información en unidades básicas (p. ej., frases); 2) identificación de las entidades biológicas, y 3) interpretación de las relaciones entre las entidades biológicas (Piedra et al., 2014).

La aplicación multidisciplinaria de la Minería de Datos/Textos ha sido observada en el campo de la relación Medicina – Biología de sistemas, la cual está vinculada estrechamente al estudio de las enfermedades es así como es necesario conectar adecuadamente el conocimiento existente en áreas diversas de la ciencia, con el fin de aflorar nuevas propiedades e hipótesis no evidenciables a partir de los enfoques tradicionales (Noble, 2006). Todo esto a través de

herramientas como las Tecnologías de la Información y Comunicación (TIC) ya que son estas las que permiten en el procesamiento de grandes cantidades de datos de origen diverso, desarrollando nuevo conocimiento a partir de ellos (Piedra, Ferrer y Gea, 2014). El resultado de esta labor interdisciplinaria se refleja en proyectos en los cuales se han podido establecer modelos matemáticos de enfermedades que integran el conocimiento estructural y fisiopatológico en sus diferentes niveles de complejidad (Sobradillo, 2011).

Un ejemplo de estudios con aplicación de minería de textos es el publicado por García et al. (2011) y Burgel et al. (201), sobre la tipificación de fenotipos en la EPOC, a partir de un análisis de clúster sobre datos de todo tipo procedentes de pacientes reales. Una tercera faceta de la biología-medicina de sistemas. Otra aplicación reconocida es la realizada por Steiling et al. (2013) y Pierrou et al. (2007), autores que han demostrado los efectos del tabaco sobre la expresión de múltiples genes relacionados con la lesión celular y el estrés oxidativo en el epitelio bronquial.

3. Metodología

3.1. Minería de datos y de texto

Fueron examinadas las bases de datos existentes que alberguen estudios sobre los mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la plasticidad celular (EndMT) inducida por el virus del dengue y otros virus (Przybyla et al., 2016). Los repositorios-bases de datos que se consideraron son los mencionados a continuación, CORE, PubMed, Scopus y en los repositorios Github-GitLab.

Las palabras claves y las ecuaciones que guiaron la búsqueda se organizaron por niveles que corresponden a: (i). “Endothelial to mesenchymal transition and virus”, (ii). “Endothelial to

mesenchymal transition and virus Dengue”, (iii). “endothelial dysfunction and severe dengue”, (iv). “Endothelial dysfunction by viral infection”. Adicionalmente, y según la necesidad, se agregaron términos en cada plataforma, que contribuyeron con la exclusión de objetos de estudio no relacionados con el enfoque definido. Luego del proceso de exclusión por términos clave, se agregaron filtros propios de cada plataforma, como: tipo de documento, (article, journal article, research article, literature); año de publicación (2011-2021); especie (*Homo sapiens*, Human); idioma (español e inglés); hasta obtener un compendio de artículos afines con esta investigación.

Tabla 1.

Ecuaciones de búsqueda.

| Nivel | Repositorio- bases de datos | Ecuación de búsqueda con excluyentes |
|-------|--------------------------------|--|
| i | Pubmed | (Endothelial to Mesenchymal Transition) AND virus NOT vector NOT transplantation NOT endogenous NOT animal NOT mitochondria NOT epithelial NOT cáncer. |
| | Scopus | (Endothelial to Mesenchymal Transition) AND virus NOT vector NOT transplantation NOT endogenous NOT animal NOT mitochondria NOT epithelial NOT cáncer. |
| | CORE | (Endothelial to Mesenchymal Transition) AND virus NOT vector NOT transplantation NOT endogenous NOT animal NOT mitochondria NOT epithelial NOT cancer |
| | Github-GitLab | (endothel* AND dysfunction*) AND dengue (viral OR virus) |

| Nivel | Repositorio- bases de datos | Ecuación de búsqueda con excluyentes |
|-------|--------------------------------|--|
| ii | Pubmed | (Endothel* to Mesenchy* Transition OR EndMT OR EndoMT) And Dengue |
| | Scopus | ((endothel* AND to AND mesenchy* AND transition OR endmt OR endomt) AND (dengue)) AND NOT proteomic* |
| | CORE | (Endothelial to mesenchymal transition OR EndMT OR EndoMT) AND (dengue) NOT review NOT therapeutic NOT (animal OR mouse OR mice) |
| | Github-GibLab | Endothelial to mesenchymal transition OR EndMT OR EndoMT) AND (dengue) |
| iii | Pubmed | (Endothel* AND Dysfunction*) AND Dengue (Viral OR Virus) NOT review NOT vaccine NOT (animal* OR mouse OR mice) |
| | Scopus | (Endothel* AND dysfunction*) AND (dengue AND (virus OR viral)) AND NOT review AND NOT vaccine AND NOT endogenous AND NOT vector* AND NOT covid AND NOT (mice OR mouse OR animal*) |
| | CORE | Endothelial dysfunction AND dengue virus NOT review NOT vaccine NOT endogenous NOT vector NOT animal NOT lymphocyte NOT transplantation |
| | Github-GitLab | Endothelial dysfunction AND dengue virus |
| iv | Pubmed | (Endothel* AND Dysfunction*) AND (Viral OR Virus) NOT REVIEW NOT ENDOGENOUS NOT vectors AND infect* NOT vaccine NOT COVID-19. |

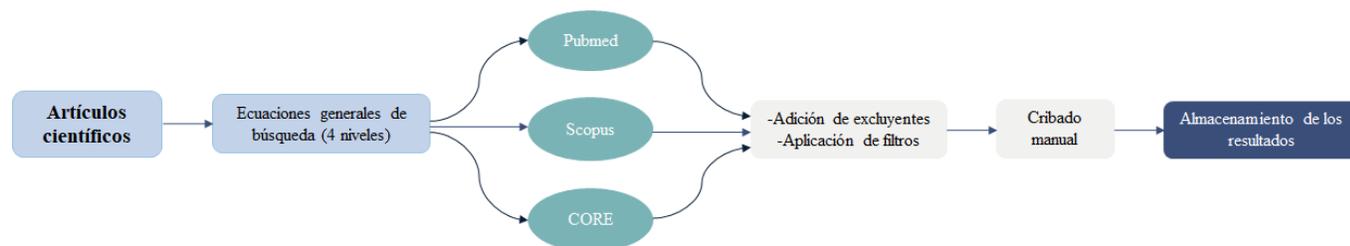
| Nivel | Repositorio-bases de datos | Ecuación de búsqueda con excluyentes |
|-------|----------------------------|---|
| | Scopus | (Endothel* AND Dysfunction*) AND (Viral OR Virus) NOT REVIEW NOT ENDOGENOUS NOT vectors AND infect* NOT vaccine NOT COVID-19 AND NOT mitochondria* AND NOT blood AND NOT lymphocyte* |
| | CORE | (Endothelial to mesenchymal transition OR EndMT OR EndoMT) AND (dengue) NOT review NOT therapeutic NOT (animal OR mouse OR mice) |
| | Github-GitLab | (endothel* AND dysfunction*) AND (viral OR virus) |

Nota. Los términos en negrita son la ecuación base de la búsqueda y los demás corresponden a los excluyentes utilizados. Se empleó el asterisco (*) denotando mayor exactitud de la búsqueda

En cada nivel se tomó el total de los artículos resultantes de los procesos de exclusión y filtrado, los cuales se sometieron a un cribado manual. De cada documento se consideró el título, resumen y palabras claves, posteriormente, se realizó un análisis del enfoque de investigación, linaje celular, objeto de estudio y la probable relación con alguno de los fenómenos de interés.

Figura 6.

Flujo de búsqueda y selección de artículos científicos.



Nota. Pasos empleados en la selección de la literatura, empleado en los análisis.

La minería de texto consideró el cálculo de las palabras claves más frecuentes y la distancia entre ellas en párrafos mediante una matriz binaria dispersa que tuvo en cuenta las relaciones entre los atributos o elementos que a su vez permitieron visualizar las entradas distintas de cero (Elati et al., 2007).

3.1.1. Redes de Co-ocurrencia

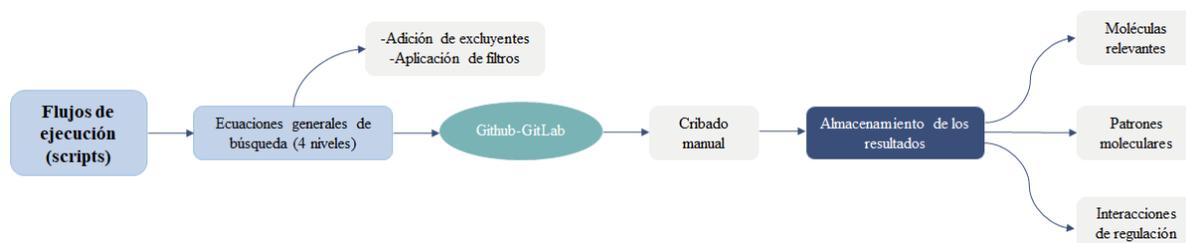
La minería de datos y texto, aplicó métodos de análisis de co-ocurrencia y su representación en redes de conceptos y co-citación (Caprile y Vidal, 2008).

La co-ocurrencia fue calculada desde un modelo bayesiano. Fue medido el índice de similitud Fuerza de Asociación (FA) para lo cual fueron usados los valores de similitud de co-citación y co-ocurrencia, para así obtener como resultados matrices normalizadas con el correspondiente peso de cada concepto y co-citación (Van Eck y Waltman, 2010). La representación de la red fue realizada teniendo en cuenta la conectividad y las relaciones que existen entre los nodos posicionados en el espacio bidimensional. Para la visualización de la red fue utilizado la herramienta VOSviewer la cual permite que a través de la ejecución de distintos algoritmos de clustering para clasificar en grupos similares las co-citaciones y la co-ocurrencia de los conceptos. (Van Eck y Waltman, 2010)

3.1.2. Flujos de ejecución (Scripts)

Figura 7.

Métodos usados en la Minería de Datos.



Nota. Los flujos de ejecución fueron extraídos de modelos pre-existentes con lo que fue posible identificar los elementos que se consideraron y a su vez utilizarlos como estructura inicial de la red de regulación génica. De esta forma, se infirieron las moléculas relevantes, los patrones de activación molecular para cada célula y las interacciones de regulación entre moléculas ya sean de activación o inhibición.

3.2. Formalización de la red de regulación génica como un sistema complejo

3.2.1. Modelado como Red Booleana

Teniendo en cuenta los datos que se encontraron, sean cuantitativos o cualitativos, fue construida la red de regulación molecular de la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue. A partir de esto, fue determinado el formalismo matemático que cumple la función de ensamblar el modelo y describir mediante ecuaciones el comportamiento de cada elemento de la red en el tiempo y de esta manera obtener como resultado un sistema dinámico en forma de red Booleana (BN) (Weinstein et al., 2020).

Posteriormente, fueron definidas, mapeadas y simuladas las rutas de regulación molecular intervinientes y fueron analizados los circuitos de retroalimentación del modelo a construir (Naldi et al., 2018).

Finalmente, fue representado el anterior análisis como una red booleana que tendrá estructura $K-N$, donde N es el número de nodos y K el número de ligas. El estado de cada nodo

(N) sea cero o uno dependió del número de ligas o relaciones de los nodos, determinando la dinámica de la red (Gershenson, 2004).

3.2.2. Definición de Patrones y Atractores

El modelado de la red booleana, permitió encontrar los patrones moleculares, mediante la identificación y etiqueta de los atractores aplicando un método heurístico que plantea la búsqueda de atractores como un problema de satisfacción booleana (SAT) y que fue resuelto a través del solucionador SAT(Weinstein et al., 2020), determinando la posibilidad de que variables de una fórmula booleana pudieran ser reemplazadas por valores que permitieran evaluar un conjunto de expresiones como verdaderas (TRUE) (SysTutorials, 2020) (SIGDA, 2006).

Para los anteriores procedimientos se tuvo soporte en el software R con sus paquetes (*BoolNet*) (Müssel et al., 2010).

3.3. Análisis de la topología de la red

Para establecer la topología de la red a construir fueron calculados: el número de nodos, el número de ligas, el grado de cada nodo de la red, es decir, el número de conexiones que tiene un nodo con otros (Zhou et al. 2018) y la distribución de grado, definida como la probabilidad de que un nodo seleccionado aleatoriamente tenga cierto número de ligas. Adicionalmente fue determinado el coeficiente de agrupamiento $C_i = 2E_i k_i / (k_i - 1)$ que cuantifica la interconectividad entre vecinos de un nodo N (Andres, 2018). Los cálculos se harán con soporte en el *Software R* y *R Studio*.

4. Resultados

4.1. Cribado de artículos y flujos de ejecución

La revisión sistemática y la minería de texto consideró cuatro niveles para la búsqueda, análisis e interpretación de los datos: (i). Endothelial to mesenchymal transition and virus”, (ii).

“Endothelial to mesenchymal transition and virus Dengue”, (iii). “endothelial dysfunction and severe dengue”, (iv). “Endothelial dysfunction by viral infection.

La búsqueda se realizó en los cuatro repositorios científicos (PubMed, Scopus, CORE y Github-GitLab), inicialmente, a cada una de las ecuaciones se les añadieron términos de exclusión, es decir, se reestructuraron para una mayor especificidad de los resultados (tabla 1, anexos). Los términos de exclusión fueron específicos para cada una de las plataformas, según los resultados preliminares a la búsqueda por cada repositorio.

Posteriormente, el análisis manual de los estudios, dio como resultado la selección de artículos 5 para el primer nivel, cero (0) para el segundo, 11 para el tercero y 17 artículos para el cuarto nivel.

La tabla 2 muestra el resultado consolidado desde la ecuación sintética, que abarca la selección sin restricción y sus respectivos porcentajes.

Figura 8.

Síntesis del cribado (porcentajes).

| Ecuación sintética | Base de datos/ repositorio | SR | CR | %SRS | %CREx | FS | %FS | %FSEx |
|---|-------------------------------|------------|-----|-------|--------|------------|---------------|--------------|
| EndMT + Virus | PubMed | 45 | 15 | 33,33 | 66,67 | 11 | 73,33 | 26,67 |
| | Scopus | 6850 | 35 | 0,51 | 99,49 | 18 | 51,43 | 48,57 |
| | CORE | 527 | 17 | 3,23 | 96,77 | 9 | 52,94 | 47,06 |
| | Github-GitLab | 2 | 1 | 50,00 | 50,00 | 1 | 100,00 | 0,00 |
| | | 68 | | | | 39 | 57,35 | 42,65 |
| EndMT + Dengue Virus | PubMed | 0 | 0 | 0,00 | 100,00 | 0 | 0,00 | 100,00 |
| | Scopus | 3 | 1 | 33,33 | 66,67 | 1 | 100,00 | 0,00 |
| | CORE | 2 | 0 | 0,00 | 100,00 | 0 | 0,00 | 100,00 |
| | Github-GitLab | 0 | 0 | 0,00 | 100,00 | 0 | 0,00 | 100,00 |
| | | 1 | | | | 1 | 100,00 | 0,00 |
| Dysfunction Endothelial + Dengue Virus | PubMed | 76 | 25 | 32,89 | 67,11 | 14 | 56,00 | 44,00 |
| | Scopus | 93 | 32 | 34,41 | 65,59 | 7 | 21,88 | 78,13 |
| | CORE | 328 | 27 | 8,23 | 91,77 | 20 | 74,07 | 25,93 |
| | Github-GitLab | 3 | 2 | 66,67 | 33,33 | 1 | 50,00 | 50,00 |
| | | 86 | | | | 42 | 48,84 | 51,16 |
| Dysfunction Endothelial + Virus | PubMed | 1504 | 308 | 20,48 | 79,52 | 69 | 22,40 | 77,60 |
| | Scopus | 56875 | 361 | 0,63 | 99,37 | 37 | 10,25 | 89,75 |
| | CORE | 13219 | 127 | 0,96 | 99,04 | 45 | 35,43 | 64,57 |
| | Github-GitLab | 4 | 2 | 50,00 | 50,00 | 1 | 50,00 | 50,00 |
| | | 798 | | | | 152 | 19,05 | 80,95 |

Nota. En las bases de datos y repositorios científicos para la revisión sistemática y minería de texto. Los resultados iniciales de las ecuaciones basales o sintéticas. **SR** corresponde al número de estudios resultantes de la búsqueda sin restricción, **CR** es el número de estudios resultantes de la ecuación sintética con restricciones. Posteriormente, los estados porcentuales de los estudios seleccionados (**%SRS**) y de los estudios excluidos (**%CREx**), con sus correspondientes barras de progreso. Por último, **FS** los documentos finalmente seleccionados mediante un filtrado a CR en cada uno de los repositorios, adicional el estado porcentual de los estudios seleccionados (**%FS**) y de los estudios excluidos (**%FSEx**) en la investigación.

El número de registros totales inspeccionados fueron 79.531, teniendo en cuenta, que de este número se repitieron algunos títulos y artículos. De ellos, 1.334 artículos fueron filtrados y extractados con las restricciones aplicadas, para llegar a un número final seleccionado de 393 documentos. El porcentaje de exclusión promedio total para las ecuaciones y repositorios fue del 98.32%, además, el 1.67% corresponde al estado porcentual total de los artículos extractados con las restricciones y finalmente solo el 0.49% fue pre-seleccionado para un análisis de exclusión o inclusión mediante diferentes criterios mencionados a continuación.

Se realizó un proceso de cribado y elegibilidad manual, teniendo en cuenta la exclusión por criterios metodológicos incompatibles con el objetivo de nuestro estudio (tabla 4). Los criterios de exclusión que se utilizaron fueron: el tratamiento experimental a células no endoteliales o mesénquimales, estudios de caso, tratamientos farmacológicos, revisiones con ausencia de información o de respaldo bibliográfico de sus resultados (sesgo de publicación y/o la información publicada es incompleta o inexacta).

Figura 9.

Síntesis porcentual del cribado de artículos y scripts para la revisión sistemática.

| Total | Criterios de exclusión de los artículos y flujos de ejecución (scripts) | | | | | Seleccionado |
|-------|---|---------|--------------|-------------------------|----------------------------|--------------|
| | Otro tipo de célula | Especie | Tipo de dato | Ausencia de información | Tratamientos incompatibles | |
| 393 | 117 | 52 | 36 | 109 | 46 | 33 |
| % | 29,771 | 13,232 | 9,160 | 27,735 | 11,705 | 8,397 |

Nota. De 393 documentos preseleccionados, se excluye el 91.603% y finalmente, solo el 8.397% es seleccionado.

Finalmente, 32 artículos y un flujo de ejecución (script) de una red de regulación pre-existente del total cumplieron con más del 70% de los criterios mínimos requeridos para la inclusión en la investigación.

4.2. Minería de texto y redes de co-ocurrencia

En el proceso de análisis de co-palabras se construyeron matrices de co-ocurrencia, las cuales se determinaron mediante el índice de similaridad (FA). Las medidas de similitud permitieron el test de agrupamiento (clustering), el cual consistió en catalogar las unidades en grupos relacionados a las líneas de investigación. Estas técnicas estadísticas bayesianas dieron paso a una visualización en redes bibliométricas. Además, el estudio de las relaciones e interconexiones de los nodos permitió que se infirieran propiedades estructurales de los componentes de la red y no características particulares e individuales.

4.2.1. Transición endotelial-mesénquimal (EndMT)

Con el fin de construir la red fueron encontradas un total de 280 palabras claves, las cuales se extrajeron a partir de la ecuación de búsqueda (***Endothelial to mesenquimal transition and virus***) De ellas, se escogieron 12 palabras que superaron el umbral de co-ocurrencia el cual correspondía a 21 ocasiones acompañada de los demás términos clave.

De los anteriores conceptos se eliminaron todas las relativas al género humano y animales cómo: Humans, male, female, adult, mammals studies etc; por tener alto número de co-ocurrencias y solapar los conceptos que mayor relación tienen en el fenómeno.

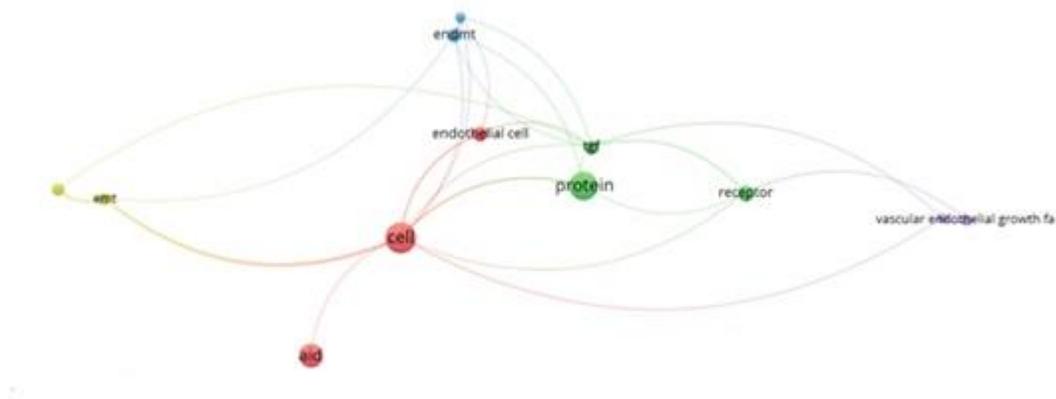
Es notable el cambio en la cantidad de información disponible en las bases de datos públicas utilizadas, respecto a la primera ecuación de búsqueda a la segunda ecuación de búsqueda, la cual se relaciona con el tema de “Disfunción endotelial”. En este caso, el criterio fue un poco más laxo, con el fin de encontrar la relación entre los términos de una manera más robusta.

En la red de co-ocurrencias de “Endothelial to mesenquimal transition and virus” se obtuvieron 5 clusters o agrupamientos. El primero de ellos (del más grande al más pequeño), fue el cluster correspondiente a Protein, seguidamente, Endmt, Emt, Cell – Endothelial Cell y TGF.

Teniendo en cuenta los nodos y ligas que se pueden evidenciar en la red, la transición del endotelio-mesénquima y las células endoteliales se relacionan con las proteínas, receptores y específicamente con el factor de crecimiento transformante. Por otra parte, en los últimos años se ha observado un aumento en los estudios enfocados a la investigación de este fenómeno de plasticidad celular endotelial.

Figura 10.

Red de co-ocurrencias para la ecuación de búsqueda “Endothelial to mesenquimal transition and virus”.



Nota. Obtenido de Vosviewer.

4.2.2. *Disfunción endotelial*

Para realizar esta red fueron seleccionadas un total de 2483 palabras claves, las cuales se extrajeron a partir de la ecuación de búsqueda relacionada a los artículos enfocados en el tema de: (***Endothelial Dysfunction by Viral Infection***) De ellas, se escogieron 88 palabras que superaron el umbral de co-ocurrencia el cual correspondía a 21 ocasiones acompañada de los demás términos clave.

Se decidió aplicar un criterio en el que fueron excluidas palabras con alta co-ocurrencia, pero y poca relevancia, tales como: human, female, male, adult, mild-age, mice, algunos conectores, etc. Con el fin de resaltar los hallazgos más importantes con respecto a las palabras con mayor relevancia y a su vez lograr unas mejores visualizaciones de los agrupamientos.

En la red de co-ocurrencias de Endothelial Dysfunction by Viral Infection fueron obtenidos 13 clusters o agrupamientos. El primero de ellos (del más grande al más pequeño), fue nuevamente el cluster correspondiente a Protein - Cytokine, seguido por Endothelial Cell, Endothelium y Endothelial Function acompañados de Permeability, Hypermeability – DENV y Cells.

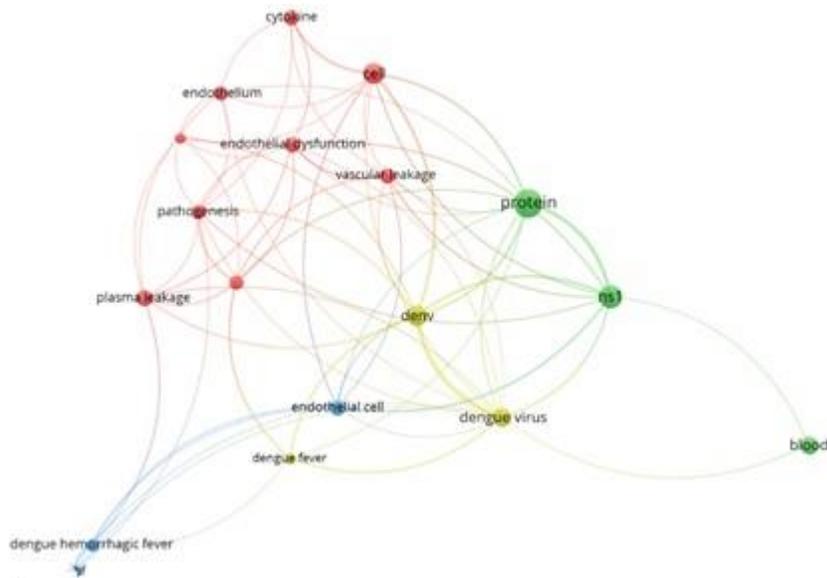
4.2.3. Disfunción endotelial y el virus del dengue

Para realizar esta red fueron extraídas un total de 90 palabras claves, las cuales se cribaron a partir de la ecuación de búsqueda relacionada a los artículos enfocados en el tema: (***Endothelial dysfunction and severe dengue***). De ellas, se escogieron 18 palabras que superaron el umbral de co-ocurrencia el cual correspondía a 21 ocasiones acompañada de los demás términos clave. En este caso, la cantidad de conceptos encontrados se vincularon de forma diferente, con respecto a las redes de co-ocurrencia anteriores.

A partir de la visualización, se puede evidenciar que se obtuvieron 4 clusters o agrupamientos. El primero de ellos (del más grande al más pequeño), fue el cluster correspondiente a Protein nuevamente, seguido de un gran cluster compuesto por varios términos relevantes como: Endothelial dysfunction, Cell, Cytokine y Endothelium, con otros dos clusters correspondientes a los términos asociados al Dengue. Además, la relación de la disfunción endotelial con la permeabilidad vascular en la infección por el virus del dengue y las moléculas involucradas en los fenómenos, tales como las citoquinas. En los últimos años, las investigaciones se han enfocado en la conceptualización y comprensión de temáticas que se derivan de la dinámica molecular en las células endoteliales inducida por el virus del dengue.

Figura 12.

Red de co-ocurrencias para la ecuación de búsqueda “*Endothelial dysfunction and severe dengue*”.



Nota. Obtenido de Vosviewer.

4.3. Identificación de moléculas

4.3.1. Moléculas revisión sistemática

A partir de los 32 artículos y un flujo de ejecución cribados, se reportaron un total 54 moléculas con importancia en la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue, en el cual están involucrados el fenómeno de la disfunción endotelial y la transición endotelial-mesénquimal. Se analizaron cada uno de los documentos y se seleccionaron según la metodología previamente mencionada. Se pudo evidenciar los tipos de células que se encargan de la secreción de algunas de las moléculas, mediante experimentos *in vitro*, que permitieron observar la influencia directa sobre el endotelio en la infección del virus del dengue. Adicional a esto, se correlacionó con estudios *in vivo*, encontrando relación en la expresión e inducción de moléculas en la infección directa con los diferentes serotipos (I y II) del virus del dengue.

Figura 13.

Atributos de las moléculas seleccionadas desde la literatura.

| MOLÉCULAS BASE INTEGRADAS DESDE LA LIERATURA | | | |
|--|--|----------------|---|
| Molécula | Secretado por (célula) | Tipo de cambio | Efectos en las celulas endoteliales |
| Ang-2 | Células endoteliales | Up | Desestabilización del endotelio, mayor respuesta a VEGF, respuestas de las CE a los estímulos inflamatorios provocando la interrupción de la barrera y la permeabilidad |
| Ang-1 | Células endoteliales | Down | Promueve la supervivencia de las células endoteliales, la migración celular y el brote en ausencia de contacto célula-célula, mientras que el fortalecimiento de la adhesión interendotelial previene la permeabilidad endotelial |
| HMGB1 | Monocitos, células dendríticas | Up | Aumentado expresión de moléculas de adhesión y secreción de citocinas, CE aumentado permeabilidad |
| IL-1 β | Monocitos, macrófagos, mastocitos | Up | Mayor secreción de citocinas, aumento de expresión de moléculas de adhesión, se asocia con el aumento de la permeabilidad vascular mediado por inflamasoma |
| IL-6 | Mastocitos, células endoteliales | Up | Pueden aumentar la permeabilidad directamente de las CE, reclutar células inmunes |
| IL-8 | Monocitos, macrófagos, células dendríticas y endoteliales | Up | Aumento de expresión de moléculas de adhesión, aumento de la permeabilidad, reclutar células inmunes. |
| MMP-9 / MMP-13 | Células dendríticas | Up | Regulación a la baja de PECAM-1 y VE-cadherin, aumento permeabilidad de CE |
| RANTES | Monocitos, macrófagos, células dendríticas, mastocitos, células endoteliales | Up | Aumentado expresión de moléculas de adhesión, aumento de la permeabilidad, reclutar células inmunes |
| TNF- α | Monocitos, macrófagos, células dendríticas, mastocitos | Up | Producción de oxígeno reactivo y especies de nitrógeno, aumento expresión de moléculas de adhesión, apoptosis, aumento de la permeabilidad de CE |
| VEGF | Mastocitos, células endoteliales | Present (P+) | Regulación a la baja de proteínas de unión |
| Svegr2 | Células endoteliales | Down | Aumento de la expresión de moléculas de adhesión, aumento de permeabilidad de CE, correlación inversa entre Svegr2 y el alcance de fuga de plasma |

| | | | |
|---------------------------|---|-------------|--|
| VE-Cadherina | Células endoteliales | Down (P+) | Puede contribuir al daño de las células endoteliales y / o al compromiso transitorio de la función de barrera endotelial. |
| RhoA | Células migratorias, citoesqueleto | Up (P+) | La internalización de VE-Cadherina mediada por fosforilación como la contractilidad del citoesqueleto mediada por RhoA juntos contribuyen a la permeabilidad vascular en el dengue. |
| E-selectina | Células endoteliales | Up | Participa en el movimiento transmembrana y su regulación a la baja o ausencia en el dengue puede ser uno de los factores de la formación discreta de infiltrado inflamatorio, aumenta la adherencia y activación de plaquetas a CE |
| ICAM-1 | Molécula de adhesión intercelular (membrana) | Present- Up | Aumentando expresión en CE infectadas con DENV, aumentando adherencia de leucocitos a células endoteliales |
| VCAM-1 | Células endoteliales | Up | Aumenta la adherencia de leucocitos a CE, aumenta la permeabilidad endotelial y libera señales intracelulares lo que lleva a la pérdida de la adhesión de VE-cadherina |
| PAF | células endoteliales, leucocitos, mastocitos, | Up | Es un potente inductor de aumento de la permeabilidad vascular, asociado a la fuga vascular |
| sPLA2 | | Up | Su aumento significativo es un inductor en la producción de PAF. Puede ser un posible inductor de la activación endotelial. |
| inflammasoma NLRP3 | | Present | Inducción de la producción de citocinas inflamatorias, por los monocitos. Además de un aumento en las micropartículas derivadas de plaquetas, lo que puede conllevar a un aumento de la permeabilidad |
| TLR4 | Proteína transmembrana | Up | Su activación induce la producción de citocinas inflamatorias y la activación de células de la inmunidad innata |

Nota. Documentación de los hallazgos encontrados a través de la revisión sistemática, moléculas base para la red inicial de la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue. Se reportan 20 moléculas involucradas en los fenómenos de la disfunción endotelial en la infección del virus del dengue y en la transición endotelial a mesénquimal. Las células que secretan, activan o presentan la molécula. Cambios en el estado por molécula, Up se refiere a las moléculas sobre-expresadas, es decir, (1), Present, moléculas que tiene influencia en el fenómeno sin cambios, P+, moléculas fosforiladas, Down, representa las moléculas sub-expresadas, es decir, (0). Los efectos en las células endoteliales de cada una de las moléculas que supera el umbral del estado.

6.4. Formalización de la red de regulación como un sistema complejo

4.4.1. Modelo formalizado como conjunto de ecuaciones booleanas

Cada molécula de una red de regulación presenta un límite de concentración el cual debe excederse para tener un cambio y efecto. Es necesario usar el formalismo de una red booleana, donde cada estado de las variables involucradas está determinado por las moléculas de dicha red. Cada molécula está representada por un nodo, el cual puede estar activo o inactivo, es decir, descrito de manera matemática por 1 o 0. Cada uno de los nodos tienen unas entradas y salidas, las cuales se visualizan con las ligas e interacciones en la red.

Por esta razón se tradujo la información molecular cribada de la revisión sistemática, para obtener las reglas lógicas y poder definir los componentes de la red y cada regla de actualización.

Figura 14.

Atributos de las moléculas seleccionadas desde la literatura.

| FORMALISMO MATEMÁTICO DE LA RED BOOLEANA |
|---|
| Ang_2, (NfjB_MAPK & Cox_2) Foxo_1 Vegfr2 & !Ang_1 |
| Cox_2, NfjB_MAPK |
| NfjB_MAPK, NfjB_MAPK |
| Tie_2, Ang_1 Ang_2 |
| Nos2, Nos2 |
| Rac_1, Ang_1 |
| Ang_1, IL_6 Nos2 TNF_a & !Ang_2 |
| iNos, TNF_a |
| IFN, Hmgb1 |
| Mmp_9, (Mmp_13 & TLR3) MAP TNF_a & !VE_Cadherin |
| TLR3, TLR3 |
| IL_17, IL_17 |
| Hmgb1, TLR4 |
| IL_1B, Hmgb1 NLRP3 TLR4 |
| IL_6, Ang_2 (TLR4 & Hmgb1) IL_1B ICAM_1 |
| IL_8, (TLR4 & Hmgb1) ICAM_1 |
| Mmp_13, Mmp_13 !AKT |
| Rantes, IL_8 TNF_a & (RIG_1 MIP_1) |
| TNF_a, IL_1B (TLR4 & Hmgb1) |
| VEGF, VEGF !VE_Cadherin |
| Vegfr2, VEGF & VEGFA & !SNAI1 GATA2 |
| VE_Cadherin, TNF_a VEGF Rac_1 |
| RhoA, (MYPT1 & MLC) MAP LIMK CPI17 ERM Adducin & !VE_Cadherin & Ang_1 |
| E_selectin, VEGF !VE_Cadherin |
| ICAM_1, IL_17 E_selectin & Vegf_VE_C |
| VCAM_1, ICAM_1 & E_selectin & !VE_Cadherin |
| PAF, TLR4 sPLA2 |

| |
|--|
| sPLA2, RAS_Map RAS_fosC & Fos_C & MAP |
| NLRP3, NLRP3 P_C14 |
| TLR4, Hmgb1 TLR4 |
| PLCy, Vegfr2 & VEGFA |
| TSAd, Vegfr2 & VEGFA |
| VEGFA, PAF STAT3 VEGFA |
| GATA2, Vegfr2 VEGFA GATA2 |
| STAT3, Vegfr2 VEGFA |
| SNAI1, STAT3 NfjB_MAPK & !SNAI1 |
| NRP1, VEGFA & GATA2 Vegfr2 |
| Fos_C, RAS_fosC & VEGF |
| MAP, RAS_Map & VEGF |
| RIG_1, RIG_1 |
| MIP_1, Hmgb1 MIP_1 |
| MYPT1, MLC CPI17 |
| LIMK, MYPT1 MLC |
| CPI17, MYPT1 CPI17 |
| ERM, MYPT1 |
| Adducin, MYPT1 |
| MLC, MLC |
| Foxo_1, AKT & !Ang_1 |
| AKT, TSAd Vegfr2 & !Ang_1 |
| P_C14, IL_1B NLRP3 |
| PTK, IL_8 |
| RAS_Map, VEGF |
| RAS_fosC, VEGF |
| Vegf_VE_C, TNF_a GATA2 STAT3 SNAI1 NRP1 AKT & (VEGFA VEGF Vegfr2) (PLCy & TSAd) & !VE_Cadherin |

4.4.2. Visualización del modelo como red booleana.

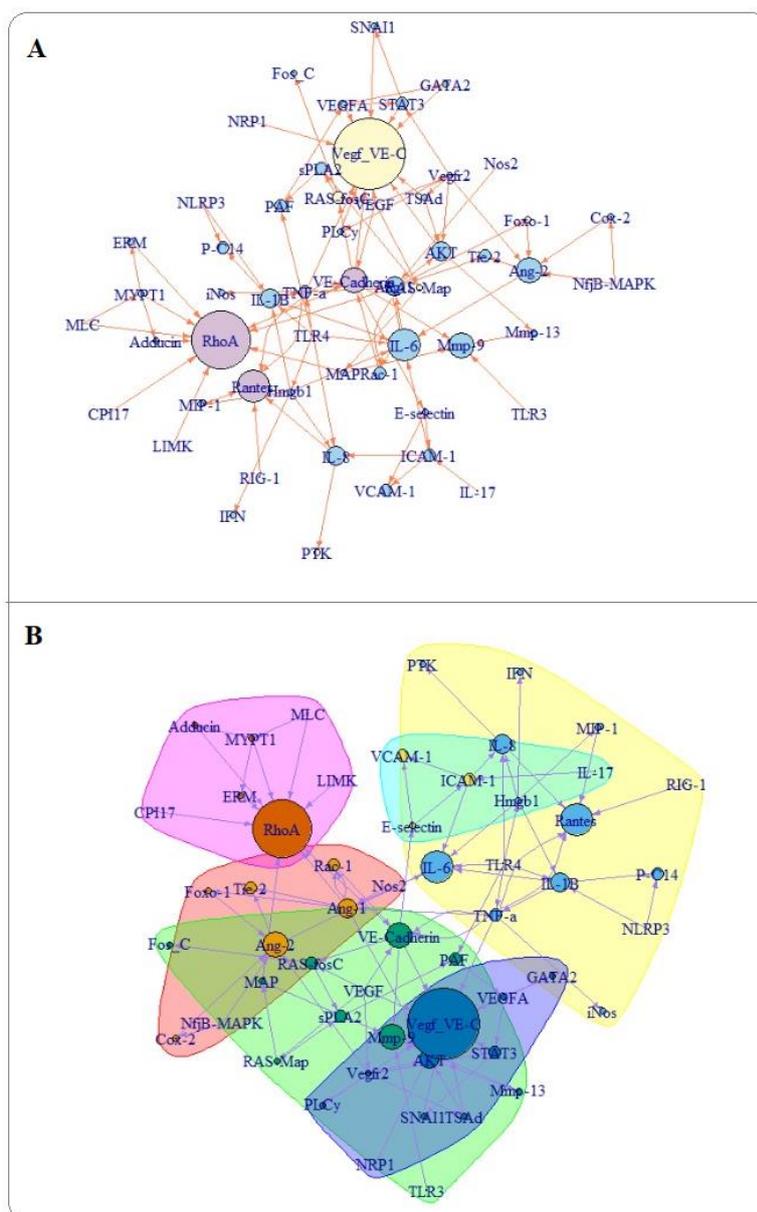
Como se resume en la sección anterior, se ha logrado describir un número significativo de componentes y moléculas involucradas en el fenómeno de la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue. Teniendo en cuenta esto, se han integrado los atributos para comprender el fenómeno de forma colectiva desde un enfoque de los sistemas complejos y dinámicos, utilizando las redes booleanas. Se seleccionaron un subconjunto de moléculas y se incorporaron al modelo solo aquellas que evidenciaban una función biológica esencial respaldada por la literatura cribada en la revisión sistemática.

Como resultado se obtuvo la red de regulación de la plasticidad de las células endoteliales inducida por la infección del virus del dengue, que incluye el fenómeno de la disfunción endotelial y del EndMT. Se incorporaron 54 moléculas conectadas por 138 interacciones de regulación, como se observa en la figura 10. La abstracción computacional abarca las moléculas que son necesarias para la identidad de las células endoteliales (CE), los

ligados, representan las regulaciones (transcripcionales o postranscripcionales) y las vías de señalización.

Figura 15.

Red de moléculas asociadas a la disfunción endotelial y EndMT inducida por el virus del dengue.



En la figura 15, las flechas representan la dirección de la regulación, es decir, las entradas y salidas de cada uno de los nodos. El tamaño de los nodos depende de la cantidad de

relaciones que lo retroalimentan, es directamente proporcional, a mayor tamaño, mayor cantidad de relaciones. **(B)** El color de los nodos permite agrupar las moléculas dependiendo a sus interacciones, creando subconjuntos asociados a las rutas de señalización y regulación.

4.5. Definición de patrones y atractores

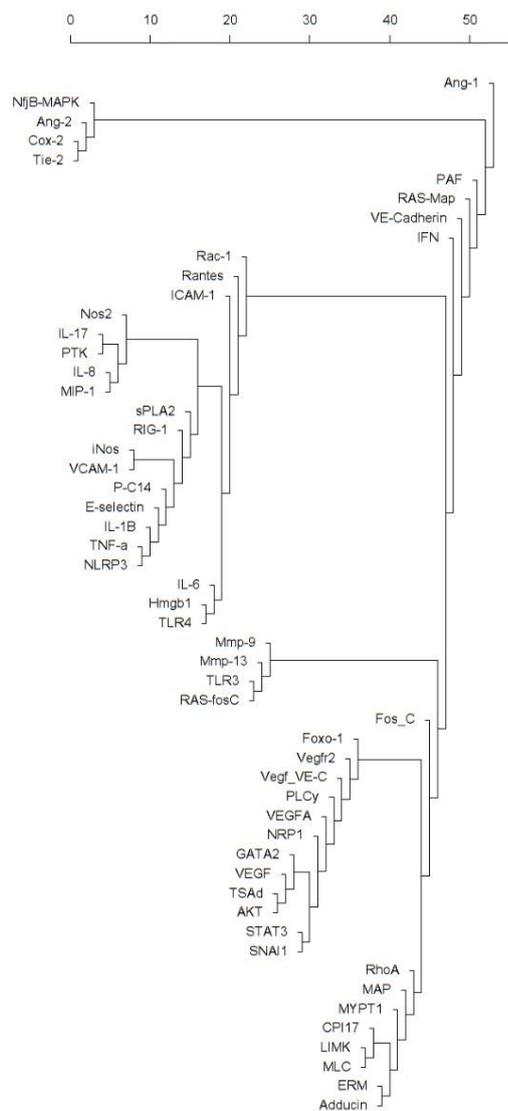
El comportamiento dinámico simulado en la red de regulación que se muestra en la figura 10, da como resultado 2138 atractores por el efecto de la retroalimentación positiva funcional, esto se debe a la variedad de patrones moleculares de las células endoteliales que se han mencionado en la literatura (Weinstein, Mendoza, & Álvarez-Buylla, 2020). En el análisis, se evidencia que el modelo booleano presenta diferentes estados de la red, es decir, 1892 atractores de punto fijo, 246 atractores cíclicos, que se catalogan a patrones de activación molecular clasificados en tipos específicos de células, que pueden ser endoteliales y mesénquimales.

Existen moléculas que todas las células endoteliales las expresan, como: VE-cadherina, Tie-2 y VEGFR2. Por esta razón, cuando en el sistema complejo están activos los nodos de dichas moléculas, se entiende que la red representa una célula endotelial. Por otra parte, es importante tener en cuenta que todos los mecanismos de señalización a nivel molecular del EndMT no se han esclarecido en su totalidad, sin embargo, GATA2, STAT3, SNAI1, se expresa en algunas células mesenquimales. Es decir que cuando esta molécula se activa se podría identificar la red como una célula mesénquimal.

4.6. Topología de la red

Figura 16

Dendograma de las distancias entre los nodos de la red de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue.



La distancia entre los nodos se define como el número mínimo de nodos por los que hay que transitar, entre dos nodos dados de la red, es decir, un nodo origen a un nodo destino. lo que permite caracterizar en redes complejas pequeñas distancias entre nodos.

La distancia mínima de la red es de 1 entre las moléculas que se encuentran en el primer grupo, es decir, los relacionados con el nodo, Ang-1. Asimismo, la distancia máxima es de 6,

en las que se encuentran las moléculas Mmp-9 y Mmp-13, entre otras. En los anexos se puede evidenciar mayor especificidad de los resultados (Tabla 1, anexos).

Actualmente, el agrupamiento jerárquico, mediante índices de similaridad y distancias, es una herramienta común en el análisis de grandes conjuntos de datos moleculares, permitiendo la identificación de patrones similares en diversas escalas. De esta manera evidencia una mayor relevancia del fenómeno en cuestión y el contenido biológico. Se agruparon 54 moléculas en 7 grupos teniendo en cuenta las relaciones y conexiones de cada una de ellas.

Se encontraron las rutas de señalización de VEGF la cual está involucrada en la activación de EC durante la remodelación vascular. Por lo general, durante la angiogénesis, VEGFA se une a un homodímero VEGFR2 y activa la señalización de otras moléculas. Por otra parte, la señalización de RhoA mediada por el receptor Tie-2 por Ang-1 da como resultado la activación de Rac1, que inactiva RhoA. El Rac1 activado promueve la acumulación de VE-Cadherina en las uniones inter-endoteliales, mientras que la inactivación de RhoA previene la formación de fibras de estrés de actina y juntas conducen a la estabilización de la barrera endotelial. Por último, la actividad de SNAI1, SNAI2 son necesarias para la diferenciación de células mesénquimas, además, de la influencia en el factor de transcripción GATA2 el cual evidencia una actividad importante o en la dinámica de la regulación de la identidad de las CE, además la pérdida de esta misma induce en EndMT.

5. Discusión

5.1. Consideraciones de la revisión sistemática

En la búsqueda de información para seleccionar los artículos más robustos en los fenómenos involucrados en la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue, se construyeron las ecuaciones base con el comodín “asterisco (*)”. Este permite una

mayor precisión en el rastreo de información, en las diferentes plataformas científicas (Comodines y operadores de búsqueda - Documentación de IBM, s/f). Adicionalmente, al evidenciar la cantidad de resultados, se utilizaron criterios de exclusión que permitieron el filtrado de patrones identificados en los resultados que sesgaban la búsqueda de información. Por esta razón, se definieron los operadores de exclusión con los términos no deseados, para que el algoritmo se ejecutara con la mayor precisión y no se distorsionara el enfoque de la investigación.

Por otra parte, en cada plataforma, se utilizaron los filtros de tipo de documento (article, journal article, research article, literature), año de publicación (2011-2021), especie (*Homo sapiens*, Human) e idioma (español e inglés) hasta obtener un compendio de artículos afines con el objetivo del estudio, permitiendo así una mayor confiabilidad en la calidad de la documentación encontrada.

Los resultados que coincidieron con la mayoría de los criterios adoptados en la investigación se descargaron para el cribado manual. De un total de 393 artículos científicos y flujos de ejecución se descartaron el 91,603 % de documentos y se incluyeron únicamente 33 estudios, que representan el 8,397 % de ellos. Los datos con mayor índice de exclusión corresponden a estudios en otro tipo de células (29,771 %), seguido de aquellos que presentaron ausencia de información (27,735 %), por último, otros parámetros como especie, tratamientos incompatibles y tipo de datos que suman el 42,494 % del total.

5.2. Consideraciones de la abstracción computacional como modelo de regulación teórico

El modelo booleano de la red de regulación molecular involucrada, en la plasticidad de las células endoteliales, inducida por el virus del dengue, incorpora los datos públicos de resultados experimentales, constituyendo el resumen del estado actual del tema en cuestión, permitiendo la abstracción computacional del fenómeno, como base de posteriores estudios *in*

vitro o *in vivo*. Es importante tener en cuenta que existen muchas preguntas sin responder sobre este fenómeno (Welch Reardon et al., 2015) y que es necesario los estudios experimentales para respuestas más concluyentes. Por esta razón, en los siguientes apartados se plantearán hipótesis sobre la base molecular de la red reguladora anteriormente mencionada.

El aumento de la expresión y liberación de Ang-2 de las células endoteliales infectadas puede ser el resultado de una respuesta inflamatoria en la que se secreta la proteína IL-6 (Van de Weg et al., 2014). Además, la activación de la señalización de NF κ B y MAPK durante la infección puede estimular la expresión de COX-2, lo que resulta en el aumento de la producción de Ang-2 (Michels et al., 2012). También, la débil señalización del ligando antagonista del receptor Tie-2 da como resultado un desprendimiento endotelial mediado por la disminución de Ang1 / Tie2, con una baja actividad de AKT (Ong et al., 2013). Esto, a su vez, mejora la activación del factor de transcripción FOXO1, que aumenta la expresión de Ang-2 (Singh et al., 2018).

La Ang-1 es capaz de inhibir la liberación de Ang-2 de los cuerpos de Weibel-Palade de las CE, mediada por un alto nivel de iones de calcio intracelular. Las células infectadas pueden inducir la entrada de iones de calcio en las células endoteliales (Michels et al., 2012). Por lo tanto, la combinación de la baja expresión de Ang-1 y el aumento de iones de calcio intracelular en infectados promueve la liberación de Ang-2 (Van de Weg et al., 2014). Además, la secreción mejorada de Ang-2 actúa como un mecanismo de retroalimentación positiva y puede sensibilizar aún más las células endoteliales al TNF- α y aumentar la inflamación (Singh et al., 2018). Por otra parte, el TNF- α es un factor vaso-activo que muestra un nivel elevado en su expresión durante la fiebre hemorrágica e induce la liberación de citoquinas, quimiocinas (Yen et al., 2008), la expresión de moléculas de adhesión y del efecto sobre la apoptosis de las células endoteliales causada por DENV (Dewi et al., 2004; Chen et al., 2002).

Mientras tanto, el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)¹, junto a otros factores de crecimiento, es capaz de activar vías de señalización dependientes e independientes de RAS. Es decir, La vía independiente aumenta la fosfolipasa Cy1 y activa PKC, lo que aumenta el calcio y activa sPLA2. Por otra parte, la vía dependiente de RAS activa a la kinasa MAP que puede activar a sPLA2 (Syenina et al., 2015). La activación de sPLA2 y su aumento significativo es un inductor en la producción de PAF (Murakami et al., 2015). Asimismo, se ha comprobado que VEGF promueve la proliferación, migración y supervivencia de las células endoteliales. Además, la unión de VEGF a VEGFR-2 en las células endoteliales da como resultado la fosforilación del receptor, cambios en la morfología y proliferación de las CE (Seet et al., 2009) y el mantenimiento del estado fisiológico de los vasos sanguíneos. También, la disminución de los niveles de sVEGFR-2 podría representar la disfunción de la homeostasis en las células endoteliales vasculares y se correlacionan con un aumento de la fuga de plasma (Furuta et al., 2012). La señalización de VEGF-sVEGFR2 afecta directamente la unión adherente porque causa endocitosis de VE-cadherina en la célula endotelial (Van deWeg et al., 2014).

Esto se debe a que VE-cadherina puede contribuir al daño de las CE o al compromiso transitorio de la función de barrera endotelial. Durante infección por DENV, ocurre fosforilación y pérdida de la proteína de unión VE-Cadherina de las uniones de células inter-endoteliales y fosforilación de RhoA (Dewi et al., 2008). La inducción de la hiperpermeabilidad endotelial se produce a través de dos eventos: 1) pérdida de VE-Cadherina de las uniones inter-endoteliales, que está mediada por su fosforilación en los dominios citoplasmáticos. 2) Formación de fibras de tensión de actina intraendotelial, que provocan la retracción de la membrana celular. La angiopoyetina-1 (Ang-1), Ang-2 y su receptor de tirosina

¹ mitógeno específico de células endoteliales y un potente factor angiogénico capaz de mejorar la permeabilidad vascular de las proteínas tiene la capacidad (8)

quinasa específico endotelial común, Tie-2, forman juntos un importante sistema de señalización anteriormente mencionado. Las células peri-vasculares, las células del músculo liso y las plaquetas secretan Ang-1 median la activación de Tie-2 y mantienen la etapa inactiva del endotelio, estabilizando las uniones inter-endoteliales y contrarrestando los efectos de los mediadores vaso-activos (Komarova et al., 2010). La activación del receptor Tie-2 por Ang-1 da como resultado la activación de Rac1, que inactiva RhoA. El Rac1 activado promueve la acumulación de VE-Cadherina en las uniones inter-endoteliales, mientras que la inactivación de RhoA previene la formación de fibras de estrés de actina y juntas conducen a la estabilización de la barrera endotelial. Ang-2, un antagonista de Ang-1, compite con Ang-1 por el receptor común Tie-2 y conduce al debilitamiento de la barrera endotelial al inhibir la unión de Ang-1 e interrumpir la cascada de señalización protectora de la barrera (Singh et al., 2018).

La pérdida de VE-Cadherina de las uniones endoteliales puede ocurrir a través de múltiples mecanismos: por su internalización mediante fosforilación directa en residuos de aminoácidos clave, por internalización a través de vesículas recubiertas de clatrina, por fuerzas mecánicas que operan a través del citoesqueleto de actina y Rho GTPasas o por regulación de sus niveles de expresión (Seet et al., 2009).

Varios estudios han reportado que la señalización de la E-selectina, expresada en el endotelio vascular, recluta monocitos y células polimorfonucleares. Por otra parte, la expresión de VE-cadherina está alterada en la infección del dengue, debido a las diferentes alteraciones funcionales en el endotelio (Krishnamurti et al, 2002). También presenta cambios en los niveles de marcadores de activación endotelial, incluidos ICAM-1 y VCAM-1. Este último libera señales intracelulares lo que conlleva a la pérdida de la adhesión de VE-cadherina, produciendo un aumento de la permeabilidad junto con la regulación de la misma, lo que regula la función de barrera de las uniones adherentes. La VE-cadherina participa en el movimiento transmembranal y su regulación a la baja o ausencia del dengue, esto puede ser uno de los

factores de la formación discreta de infiltrado inflamatorio (Cardier et al., 2006; Lin et al., 2013).

En ese mismo contexto, la interleucina-1b (IL-1b) se sintetiza como una proteína precursora que activa los inflamasomas². El inflamasoma contiene una proteína rica en leucina del dominio de unión a nucleótidos³ (NLRP3) y también presenta estructuralmente un dominio de reclutamiento de caspasa y caspasa-1 activada. El inflamasoma responde a la activación por componentes bacterianos y virales, como el virus del dengue (Hottz et al., 2013). Es por esta razón que el reclutamiento de caspasa por NLRP3 conduce a la activación de caspasa-1 y, como consecuencia, los inflamasomas activos inducen IL-1b (Kamaladasa et al., 2016), que a su vez modula la producción de IL-6 y TNF- α y activa las células endoteliales, regulando la expresión de las moléculas de adhesión y alterando la morfología de las células endoteliales. (Hottz et al., 2014; Huang et al., 2000). En efecto, la IL-6 aumenta la permeabilidad de la albúmina de una monocapa de células endoteliales (Huang et al., 2000), también participa en el cambio morfológico en las células, la formación de espacios entre las células adyacentes y el reordenamiento de la F-actina (Talavera et al., 2004).

Debido a esto, la secreción local de IL-6 e IL-8 por las células endoteliales infectadas con DV puede aumentar el reclutamiento de leucocitos y activar o dañar las propias células endoteliales (Chen et al., 2002; Juffrie et al., 2000). Es importante tener en cuenta que el papel de IL-8 y otras citocinas como activadores de las vías de señalización de PTK, que, mediante la fosforilación de dianas específicas, podrían inducir la reorganización estructural de TJ (uniones estrechas, actúa como una barrera selectiva al paso de iones y otras moléculas) y actina (Medin et al., 2005)

² complejos multi-moleculares intracelulares que controlan la actividad de la caspasa-1 en el sistema inmunológico innato.

³ molécula adaptadora conocida como proteína tipo mota asociada a la apoptosis.

En paralelo, las células dendríticas inmaduras sobre-producen MMP-9 dependiendo de la carga viral del virus, lo que mejora la permeabilidad endotelial, pero, son reducidos por inhibidores específicos y un anticuerpo neutralizante anti-MMP9. Esta permeabilidad está dada por la falta de expresión de PECAM-1 y VE cadherina, además de la redistribución de fibras de F-actina. MMP-13 activa a MMP-9 y en menor medida a MMP-2. Infección con DV también va a inducir la producción de TIMP-1 y TIMP-2, inhibidores de metaloproteasas, sin embargo, dependiendo de la carga viral hay sobreexpresión de MMPs sobre TIMPs, impidiendo volver a un equilibrio fisiológico o reducir la permeabilidad vascular inducida (Luplertlop et al., 2006).

Asimismo, la citoquina pro-inflamatoria no clásica (HMGB1) actúa como un mediador soluble, que se libera en el medio extracelular por al menos dos vías diferentes: pasivamente por células necróticas y / o activamente por células inmunes activadas, como CD, monocitos y macrófagos (liberan citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12, MIP-1a, MIP-1b, IL-1a, IL-1b e IL -1RA) (Allonso et al., 2012). Una vez fuera de la célula, juega un papel importante como citoquina proinflamatoria, También juega un papel clave en el equilibrio entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, donde participa en la regulación positiva de las citocinas TNF-, IL-6, IL-8 e IFN, además, estimula las células endoteliales para inducir la expresión de moléculas de adhesión y la liberación de citocinas (Ong et al., 2012)

Por último, la actividad de SNAI1, SNAI2 son necesarias para la diferenciación de células mesenquimales, además, es importante tener en cuenta que el factor de transcripción GATA2 está involucrado en la dinámica de la regulación de la identidad de las CE, además la pérdida de esta misma induce en EndMT. La activación de GATA2 en las células endoteliales activa la transcripción de *Vegfr2*, *Nrp1* y el propio *GATA2* (Weinstein et al., 2020).

6. Conclusiones

La revisión sistemática permitió identificar un total de 54 moléculas involucradas en la regulación del fenómeno de la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue. Sin embargo, sigue siendo un tema novedoso y de gran impacto para la comunidad científica en este momento.

Se logró modelar la red con las interacciones moleculares que representaron el comportamiento del fenómeno de la plasticidad celular inducida por el virus del dengue; así, como los nodos con mayor intermediación (puente) importantes en la disfunción endotelial y en la transición endotelial-mesenquimal. Los mismos que son relevantes en la activación o regulación de moléculas y/o rutas de expresión, que pueden orientar el blanco de estudios en futuras investigaciones empíricas; con el objeto de entender el marco regulatorio de los mecanismos de la plasticidad en las células endoteliales cuando el virus del dengue está involucrado.

La dinámica de agrupación de las moléculas en la red, se estableció según las interacciones calculadas por las distancias entre los nodos y su importancia biológica en el fenómeno.

El modelo y fenómeno que se describe en esta investigación, construyen un análisis teórico cualitativo del estado actual de la plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue, que sirve de base para su posterior comprobación experimental.

Bibliografía

- Álvarez Buylla Rocés, M. E.; Martínez García, J. C.; Dávila Velderrain, J.; Domínguez-Hüttinger, E., & Martínez-Sánchez, M. E. (2018). Modeling procedures. In *Advances in Experimental Medicine and Biology*. [Procedimientos de modelado. En Avances en Medicina Experimental y Biología]. *Springer New York LLC, 1069*, p. 35–134. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89354-9_2
- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. y Watson, J. (2003). *Molecular biology of the cell*. [Biología molecular de la célula]. <https://olin.tind.io/record/1511523>
- Allonso D.; Belgrano F. S.; Calzada N.; Guzmán M. G.; Vázquez S.; y Mohana Borges R. (2012). Elevated serum levels of high mobility group box 1 (HMGB1) protein in dengue-infected patients are associated with disease symptoms and secondary infection. [Los niveles séricos elevados de la proteína del cuadro 1 del grupo de alta movilidad (HMGB1) en pacientes infectados con dengue se asocian con síntomas de la enfermedad e infección secundaria]. *Journal of clinical virology*, *55*(3), 214-219.
- Ananiadou, S.; Kell, D. B. y Tsujii, J. ichi. (2006). Text mining and its potential applications in systems biology. [Minería de texto y sus posibles aplicaciones en biología de sistemas. Tendencias en Biotecnología]. *Trends in Biotechnology*, *24*(12), p. 571–579. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.10.002>
- Andres, P. C. (2018). Construcción de Redes de Regulación Génica usando datos de Secuenciación de ARN. Universidad Nacional de Colombia. <http://bdigital.unal.edu.co/69726/1/thesis.pdf>
- Badimón, L. y Matínez González, J. (2002). Endotelio en la protección vascular: nuevos conocimientos. *Revista española de Cardiología*, *55*. <https://www.revespcardiol.org/en-endotelio-proteccion-vascular-nuevos-conocimientos-articulo-13035740>

- Boström KI.; Yao J.; Guihard PJ.; Blazquez AM y Yao Y. (2016). Endothelial-mesenchymal transition in atherosclerotic lesion calcification. [Transición endotelial-mesenquimatosa en la calcificación de lesiones ateroscleróticas]. *Atherosclerosis*, 253, p. 124 –127. doi:10.1016/j.atherosclerosis. 2016.08.046
- Bruder, S. y Fink, D. (1994). Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. [Células madre mesenquimales en el desarrollo óseo, reparación ósea y terapia de regeneración esquelética]. *J. Cell Biochem*, 56, p. 283 – 294.
- Burgel PR.; Paillasseur JL.; Peene B.; Dusser D.; Roche N. y Coolen J. (2012). Two distinct chronic obstructive pulmonary disease (COPD) phenotypes are associated with high risk of mortality. [Dos fenotipos distintos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) están asociados con un alto riesgo de mortalidad]. *PLoS One*, 7.
- Butthep P.; Chunchakan S. y Tangnararatchakit K. (2006). Elevated soluble thrombomodulin in the febrile stage related to patients at risk for dengue shock syndrome. [Trombomodulina soluble elevada en la etapa febril relacionada con pacientes con riesgo de síndrome de choque por dengue]. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 25. p. 894–897.
- Calvo, M. (2017). Text Analytics para Procesado Semántico. Universidad de Vigo, Universidad Santiago de Compostella y Universidad de la Coruña.
- Caplan, A. (1994). The mesengenic process. [El proceso mesengénico]. *Clin. Plast. Surg*, 21, p. 429 – 435.
- Cardier JE.; Rivas B.; Romano E. (2006). Evidence of vascular damage in dengue disease: demonstration of high levels of soluble cell adhesion molecules and circulating endothelial cells. [Evidencia de daño vascular en la enfermedad del dengue: demostración de altos niveles de moléculas de adhesión celular solubles y células endoteliales circulantes]. *Endothelium*, 13, p. 335–340.

- Carvajal, C. (2017). El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Revista medicina Legal de Costa Rica*, 34. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200090&lng=en&nrm=iso
- Chanthick C.; Suttitheptumrong A.; Rawarak N.; y Pattanakitsakul S. N. (2018). Transcytosis involvement in transport system and endothelial permeability of vascular leakage during dengue virus infection. [Compromiso de la transcitosis en el sistema de transporte y permeabilidad endotelial de la fuga vascular durante la infección por el virus del dengue]. *Viruses*, 10(2), p. 69.
- Chen Y. C.; & Wang S. Y. (2002). Activation of terminally differentiated human monocytes/macrophages by dengue virus: productive infection, hierarchical production of innate cytokines and chemokines, and the synergistic effect of lipopolysaccharide. *Journal of virology*, 76(19), p. 9877-9887.
- Da Conceição T. M.; Rust N. M.; Berbel A. C. E. R.; Martins, N. B.; do Nascimento Santos C. A.; Da Poian, A. T. y de Arruda, L. B. (2013). [Essential role of RIG-I in the activation of endothelial cells by dengue virus. Papel esencial de RIG-I en la activación de células endoteliales por el virus del dengue]. *Virology*, 435(2), p. 281-292.
- Desai T. R.; Leeper, N. J. Hynes; K. L. y Gewertz, B. L. (2002). Interleukin-6 causes endothelial barrier dysfunction via the protein kinase C pathway. [La interleucina-6 causa disfunción de la barrera endotelial a través de la vía de la proteína quinasa C]. *Journal of surgical research*, 104(2), p. 118-123.
- Dewi B. E.; Takasaki T.; y Kurane I. (2004). In vitro assessment of human endothelial cell permeability: effects of inflammatory cytokines and dengue virus infection. [Evaluación in vitro de la permeabilidad de las células endoteliales humanas: efectos de las citocinas inflamatorias y la infección por el virus del dengue]. *Journal of virological methods*, 121(2), p. 171-180.

- Dewi B. E.; Takasaki T.; y Kurane, I. (2008). Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin. [Las células mononucleares de sangre periférica aumentan la permeabilidad de las células endoteliales infectadas por el virus del dengue en asociación con la regulación a la baja de la cadherina endotelial vascular]. *Journal of General Virology*, 89(3), p. 642-652.
- Duboscq, C. (2017). Endotelio Vascular. Fisiología de la hemostasia normal. Servicio de Hematología y Hemoterapia Hospital Británico de Bs AS. Buenos Aires. Argentina. *Revista Hematología*, 21.
- Elati M.; Neuvial P.; Bolotin Fukuhara M.; Barillot E.; Radvanyi F.; y Rouveirol, C. (2007). LICORN: Learning cooperative regulation networks from gene expression data. [LICORN: aprendizaje de redes cooperativas de regulación a partir de datos de expresión génica]. *Bioinformatics*, 23(18), p. 2407–2414. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm352>
- Empananza, J. y Urreta, I. (2005) La revisión sistemática y metaanálisis. *An Pediatr Contin*, 3(6), p. 379 - 383.
- Félix, M., y Barkoulas, M. (2015). Pervasive robustness in biological systems. Nature Publishing Group. [Robustez generalizada en los sistemas biológicos. Grupo editorial de la naturaleza], 16(8), p. 483 - 496. <https://doi.org/10.1038/nrg3949>
- Feng J.; Zhang J.; Jackson AO.; Zhu X.; Chen H.; Chen W.; Gui Q. y Yin K. (2017). Apolipoprotein A1 Inhibits the TGF-1-Induced Endothelial-to-Mesenchymal Transition of Human Coronary Artery Endothelial Cells. [La apolipoproteína A1 inhibe la transición endotelial a mesenquimatososa inducida por TGF-1 de las células endoteliales de la arteria coronaria humana]. *Cardiology*, 137, p. 179 - 187. doi:10.1159/000464321.

Flammer, A., Anderson, T., Celermajer, D., Creager, M., Deanfield, J., Ganz, P., et al. (2012).

The assessment of endothelial function-from Research into clinical practice. [La evaluación de la función endotelial: de la investigación a la práctica clínica]. *Circulation*, 126(6), p. 753 - 767.

Fourcade, M. (2008). El Endotelio Vascular. *Revista Flebología y Linfología*. Lecturas Vasculares. Servicio de Reumatología Hospital Bernardino Rivadavia. Buenos Aires. Argentina.

Furuta, T., Murao, L. A., Lan, N. T. P., Huy, N. T., Huong, V. T. Q., Thuy, T. T., ... y Watanabe, N. (2012). Association of mast cell-derived VEGF and proteases in Dengue shock syndrome. [Asociación de VEGF derivado de mastocitos y proteasas en el síndrome de shock por dengue]. *PLoS neglected tropical diseases*, 6(2).

Genomics: GTL. (2005). Gene Regulatory Networks. Systems Biology for Energy and Environment U.S. [Biología de sistemas para energía y medio ambiente EE. UU]. *Department of Energy Office of Science*. <https://web.archive.org/web/20081006135534/http://doegenomestolife.org/science/generegulatorynetwork.shtml>

Gershenson, C. (2004). Introduction to Random Boolean Networks. [Introducción a las redes booleanas aleatorias]. <http://arxiv.org/abs/nlin/0408006>

García Aymerich J.; Gómez FP.; Benet M.; Farrero E.; Basagana X.; Gayete A. (2011). PAC-COPD Study Group. Identification and prospective validation of clinically relevant chronic obstructive pulmonary disease (COPD) subtypes. [Identificación y validación prospectiva de subtipos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) clínicamente relevantes]. *Thorax*, 66(15), p. 430 – 7

Hottz E. D.; Lopes J. F.; Freitas C.; Valls-de-Souza R.; Oliveira M. F.; Bozza, M. T.; ... y Bozza P. T. (2013). Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation. *Blood*. [Las plaquetas median en el aumento de la

- permeabilidad del endotelio en el dengue a través de la activación del inflamasoma NLRP3]. *The Journal of the American Society of Hematology*, 122(20), p. 3405-3414.
- Hottz E. D.; Medeiros-de-Moraes I. M.; Vieira-de-Abreu A.; de Assis E. F.; Vals-de-Souza R.; Castro-Faria-Neto, H. C., ... y Bozza, P. T. (2014). Platelet activation and apoptosis modulate monocyte inflammatory responses in dengue. [La activación plaquetaria y la apoptosis modulan las respuestas inflamatorias de los monocitos en el dengue]. *The Journal of Immunology*, 193(4), p. 1864-1872.
- Huang Y. H.; Lei H. Y.; Liu H. S.; Lin Y. S.; Liu, C. C. y Yeh, T. M. (2000). Dengue virus infects human endothelial cells and induces IL-6 and IL-8 production. [El virus del dengue infecta las células endoteliales humanas e induce la producción de IL-6 e IL-8]. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 63(1), p. 71-75.
- Juffrie M.; Meer G. V.; Hack C. E.; Haasnoot K.; Veerman, A. J. y Thijs L. G. (2001). Inflammatory mediators in dengue virus infection in children: interleukin-6 and its relation to C-reactive protein and secretory phospholipase A2. [Mediadores inflamatorios en la infección por el virus del dengue en niños: interleucina-6 y su relación con la proteína C reactiva y la fosfolipasa A2 secretora]. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 65(1), p. 70-75.
- Kamaladasa A.; Gomes L.; Jeewandara C.; Shyamali N. L. A.; Ogg, G. S., & Malavige, G. N. (2016). Lipopolysaccharide acts synergistically with the dengue virus to induce monocyte production of platelet activating factor and other inflammatory mediators. [El lipopolisacárido actúa sinérgicamente con el virus del dengue para inducir la producción de monocitos del factor activador de plaquetas y otros mediadores inflamatorios]. *Antiviral research*, 133, p. 183-190.
- King C. A.; Marshall J. S.; Alshurafa H.; y Anderson R. (2000). Release of vasoactive cytokines by antibody-enhanced dengue virus infection of a human mast cell/basophil

- line. [Liberación de citoquinas vasoactivas por infección del virus del dengue potenciada con anticuerpos de una línea de mastocitos/basófilos humanos]. *Journal of virology*, 74(15), p. 7146-7150.
- Komarova Y. y Malik, A.B. (2010). Regulation of endothelial permeability via paracellular and transcellular transport pathways. [Regulación de la permeabilidad endotelial a través de vías de transporte paracelular y transcelular]. *Annu. Rev. Physiol*, 72, p. 463–493
- Krenning, G., Barauna, V., Krieger, J., Hermsen, M. Moonen, JR. (2016). Endothelial Plasticity: Shifting Phenotypes through Force Feedback. [Plasticidad endotelial: cambio de fenotipos a través de Force Feedback]. *Hindawi Publishing Corporation Stem Cells International Volume 2016*. 9762959. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9762959>
- Krishnamurti C.; Peat RA.; Cutting MA.; et al. (2002). Platelet adhesion to dengue-2 virusinfected endothelial cells. [Adhesión plaquetaria a células endoteliales infectadas por el virus del dengue-2]. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66, p. 435–441.
- Kuri, W. y Castro, F. (1987). Diferenciación Celular. Temas Selectos de Biología Celular, Chapter: Unidad III, Capítulo 6.
- Lee, J. Y., Chang, J. W., Yang, W. S., Kim, S. B., Park, S. K., Park, J. S., y Lee, S. K. (2011). Albumin-induced epithelial-mesenchymal transition and ER stress are regulated through a common ROS-c-Src kinase-mTOR pathway: Effect of imatinib mesylate. [La transición epitelial-mesenquimatosa inducida por albúmina y el estrés del RE se regulan a través de una vía común ROS-c-Src quinasa-mTOR: efecto del mesilato de imatinib]. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 300(5), p. 1214–1222. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00710.2010>
- Lin Y. S.; Yeh T. M.; Lin C. F.; Wan S. W.; Chuang Y. C.; Hsu, T. K., ... y Lei H. Y. (2011). Molecular mimicry between virus and host and its implications for dengue disease

pathogenesis. [Mimetismo molecular entre el virus y el huésped y sus implicaciones en la patogénesis de la enfermedad del dengue]. *Experimental Biology and Medicine*, 236(5), p. 515-523.

Luplerdlop N.; Missé D.; Bray D.; Deleuze V.; Gonzalez J. P.; Leardkamolkarn V.; ... y Veas F. (2006). Dengue-virus-infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction. [Las células dendríticas infectadas por el virus del dengue desencadenan una fuga vascular a través de la sobreproducción de metaloproteinasas]. *EMBO reports*, 7(11), p. 1176-1181.

Martínez, M. (2011). *Dinámica de la diferenciación de células Th: modelación con redes booleanas*. Departamento de Matemáticas de la Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México.

Maruo N. A. O. K. O.; Morita I. K. U. O.; Shirao M. I. K. A. y Murota, S. (1992). IL-6 increases endothelial permeability in vitro. [IL-6 aumenta la permeabilidad endotelial in vitro]. *Endocrinology*, 131(2), p. 710-714.

Medici, D. y Kalluri, R. (2012). Endothelial–mesenchymal transition and its contribution to the emergence of stem cell phenotype. [Transición endotelial-mesenquimatosa y su contribución a la aparición del fenotipo de células madre]. *Seminars in Cancer Biology*, 22, p, 379 - 384.

Medin CL.; Fitzgerald KA. y Rothman AL. (2005). Dengue virus nonstructural protein NS5 induces interleukin-8 transcription and secretion. [La proteína no estructural del virus del dengue NS5 induce la transcripción y secreción de interleucina-8]. *Journal of Virology*, 79, p. 11053–11061.

Michels, M., van der Ven, A. J., Djamiatun, K., Fijnheer, R., de Groot, P. G., Griffioen, A. W., ... y de Mast, Q. (2012). Imbalance of angiopoietin-1 and angiopoetin-2 in severe dengue and relationship with thrombocytopenia, endothelial activation, and vascular stability.

- [Desequilibrio de angiopoyetina-1 y angiopoyetina-2 en dengue grave y relación con trombocitopenia, activación endotelial y estabilidad vascular]. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 87(5), p. 943.
- Miguel, S., Caprile, L., y Jorquera-Vidal, I. (2008). Co-term and social networks analysis for the generation of subject maps. *Profesional de La Información*. [Análisis de cotérminos y redes sociales para la generación de mapas temáticos. *Profesional de la Información*], 17(6), p. 637 - 646. <https://doi.org/10.3145/epi.2008.nov.06>
- Mudau, M., Genis, A., Lochner, A. y Strijdom, H. (2012). Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. [Disfunción endotelial: el predictor temprano de atherosclerosis]. *Cardiovasc Journal Afr*, 23(4), p. 222-231.
- Müssel, C., Hopfensitz, M., y Kestler, H. A. (2010). an R package for generation, reconstruction and analysis of Boolean networks. *BoolNetm* 26(10), p. 1378 - 1380. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq124>
- Murakami M.; Sato H.; Miki Y.; Yamamoto K.; y Taketomi, Y. (2015). A new era of secreted phospholipase A2. [Una nueva era de fosfolipasa A2 secretada]. *Journal of lipid research*, 56(7), p. 1248-1261.
- Naldi, A., Hernandez, C., Abou-Jaoudé, W., Monteiro, P. T., Chaouiya, C., y Thieffry, D. (2018). Logical modeling and analysis of cellular regulatory networks with GINsim 3.0. [Modelado lógico y análisis de redes de regulación celular con GINsim 3.0. *Fronteras en fisiología*]. *Frontiers in Physiology*, 9, p. 1-16. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00646>
- Noble D. (2006). *The Music of Life: Biology Beyond the Genome*. Oxford: Oxford University Press. p. 21.
- OMS y OPS. (2020). Actualización Epidemiológica Dengue. <https://www.paho.org/sites/default/files/2020-02/2020-feb-7-phe-actualizacion-epi-dengue.pdf>

- Ong S. P.; Ng M. L.; y Chu J. J. H. (2013). Differential regulation of angiopoietin 1 and angiopoietin 2 during dengue virus infection of human umbilical vein endothelial cells: implications for endothelial hyperpermeability. [Regulación diferencial de la angiopoyetina 1 y la angiopoyetina 2 durante la infección por el virus del dengue de las células endoteliales de la vena umbilical humana: implicaciones para la hiperpermeabilidad endotelial]. *Medical microbiology and immunology*, 202(6), p. 437-452.
- Ong S. P.; Lee L. M.; Leong Y. F. I.; Ng M. L. y Chu, J. J. H. (2012). Dengue virus infection mediates HMGB1 release from monocytes involving PCAF acetylase complex and induces vascular leakage in endothelial cells. [La infección por el virus del dengue media en la liberación de HMGB1 de los monocitos que implican el complejo PCAF acetilasa e induce la fuga vascular en las células endoteliales].
- Palma, E. (2015). Esquemas parciales de actualización en redes Booleanas. (Tesis de Maestría). Universidad de Concepción, Chile.
- Piedra, D.; Ferrer, A. y Gea, J. (2014). Minería de textos y medicina: utilidad en las enfermedades respiratorias. *Archivos de Bronconeumología*, 50(3), p. 113 - 119. doi:10.1016/j.arbres.2013.04.009
- Piera Velázquez, S. y Jiménez, S. (2019). Endothelial to Mesenchymal Transition: Role in Physiology and in the Pathogenesis of Human Diseases. [Transición endotelial a mesenquimatososa: papel en la fisiología y en la patogénesis de las enfermedades humanas]. *Physiological Reviews*, 99(2), p. 1281-1324. doi:10.1152/physrev.00021. 2018
- Pierrou S.; Broberg P.; O'Donnell RA.; Pawłowski K.; Virtala R.; Lindqvist E. (2007). Expression of genes involved in oxidative stress responses in airway epithelial cells of

smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 175, p. 577 - 86.

Prince V.; Anderson R.; y Dalgin G. (2017). Zebrafish Pancreas Development and Regeneration. [Desarrollo y regeneración del páncreas de pez cebra]. *Zebrafish at the Interface of Development and Disease Research*, p. 235 - 276. doi:10.1016/bs.ctdb.2016.10.005

Przybyla P.; Shardlow M.; Aubin S.; Bossy R.; De Castilho R. E.; Piperidis S.; Ananiadou S. (2016). Text mining resources for the life sciences. [Recursos de minería de textos para las ciencias de la vida], *Database*, p. 1 - 30. <https://doi.org/10.1093/database/baw145>

Rivera, R. (2013). Redes Booleanas. (Tesis de Especialización). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis de Potosí.

Sahaphong S.; Riengrojpitak S.; Bhamarapavati N. (1980). Electron microscopic study of the vascular endothelial cell in dengue hemorrhagic fever. [Estudio al microscopio electrónico de la célula endotelial vascular en el dengue hemorrágico]. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*; 11, p. 194 - 204.

Seet RC.; Chow AW.; Quek AM.; et al. (2009). Relationship between circulating vascular endothelial growth factor and its soluble receptors in adults with dengue virus infection: a case-control study. [Relación entre el factor de crecimiento endotelial vascular circulante y sus receptores solubles en adultos con infección por el virus del dengue: un estudio de casos y controles]. *International Journal of Infectious Diseases*; 13, p. 248-253.

Shake, J. y Gruber, P. (2002). Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: Engraftment and functional effects. [Implantación de células madre mesenquimales en un modelo de infarto de miocardio porcino: injerto y efectos funcionales]. *Ann. Thorac. Surg.* 73, p. 1919 - 1925.

SIGDA, C. (1 de Diciembre de 2006). *SIGDA - The Resource for EDA Professionals*.

https://web.archive.org/web/20070708233347/http://www.sigda.org/newsletter/2006/emails_061201.html

Singh, S., Anupriya, M. G., Modak, A., & Sreekumar, E. (2018). Dengue virus or NS1 protein induces trans-endothelial cell permeability associated with VE-Cadherin and RhoA phosphorylation in HMEC-1 cells preventable by Angiopoietin-1. [El virus del dengue o la proteína NS1 induce la permeabilidad de las células transendoteliales asociada con la fosforilación de VE-cadherina y RhoA en células HMEC-1 prevenibles por angiopoyetina-1]. *Journal of General Virology*, 99(12), p. 1658 - 1670.

Sobradillo P.; Pozo F.; Agustí A. (2011). P4 medicine: The future around the corner. [Medicina P4: El futuro a la vuelta de la esquina]. *Arch Bronconeumol*, 47, p. 35 - 40.

Socarrás, B.; Del Valle, L.; Cuétara, K.; Marsán, V.; Sánchez, M. y Macías C. (2013). Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 29(1).

Solchaga, L. y Yoo, J. (2000). Hyaluronan-based polymers in the treatment of osteochondral defects. [Polímeros a base de hialuronano en el tratamiento de defectos osteocondrales]. *J. Orthop. Res.* 18, p. 773 - 780.

Spillmann F.; Miteva K.; Pieske B.; Tschöpe C.; Van Linthout S. (2015). High-density lipoproteins reduce endothelial-to-mesenchymal transition. [Las lipoproteínas de alta densidad reducen la transición del endotelio al mesénquima]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 35, p. 1774 - 1777. doi:10.1161/ATVBAHA.115.305887.

Steiling K.; van den Berge M.; Hijazi K.; Florido R.; Campbell J.; Liu G. (2013). A dynamic bronchial airway gene expression signature of COPD and lung function impairment. [Una firma de expresión génica dinámica de las vías respiratorias bronquiales de la EPOC y el deterioro de la función pulmonar]. *Am J Respir Crit Care Med*, 187(17), p. 933-42.

- Syenina A.; Jagaraj C. J.; Aman S. A.; Sridharan A.; y St John, A. L. (2015). Dengue vascular leakage is augmented by mast cell degranulation mediated by immunoglobulin Fc γ receptors. [La fuga vascular del dengue se ve aumentada por la desgranulación de los mastocitos mediada por los receptores Fc γ de inmunoglobulina]. *elife*, 4.
- SysTutorials. (28 de Marzo de 2020). *Linux Man Pages Copyright, Manual de Linux*.
<https://www.systutorials.com/docs/linux/man/1-picosat/#lbAI>
- Talavera D.; Castillo A. M.; Dominguez M. C.; Gutierrez A. E. y Meza, I. (2004). IL8 release, tight junction and cytoskeleton dynamic reorganization conducive to permeability increase are induced by dengue virus infection of microvascular endothelial monolayers. [La infección por el virus del dengue de las monocapas endoteliales microvasculares induce la liberación de IL8, la unión estrecha y la reorganización dinámica del citoesqueleto conducente al aumento de la permeabilidad]. *Journal of General Virology*, 85(7), p. 1801-1813.
- Tata, P. y Rajagopal, J. (2016). Cellular plasticity: 1712 to the present day. [Plasticidad celular: 1712 hasta la actualidad]. *Current Opinion in Cell Biology*, 43, p. 46 - 54.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ceb.2016.07.005>
- Thosar S.; Johnson B.; Johnston J.; y Wallace J. (2012). Sitting and endothelial dysfunction: the role of shear stress. [Sentada y disfunción endotelial: el papel del estrés cortante]. *Medicine Science Monitoring*, 18(12), p. 173-180.
- Valcárcel, V. (2004). Data Mining y el Descubrimiento Del Conocimiento. *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial*, 7(2), p. 83-86. UNMSM ISSN: 1560-9146 (impreso) / ISSN: 1810-9993 (electrónico).
- Vallejos, S. (2006). Minería de Datos. Trabajo de Adscripción, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura. Corrientes, Argentina.

- Van de Weg C. A.; Pannuti C. S.; van den Ham H. J.; de Araújo E. S.; Boas L. S.; Felix A. C.; ... y Martina, B. E. (2014). Serum angiopoietin-2 and soluble VEGF receptor 2 are surrogate markers for plasma leakage in patients with acute dengue virus infection. [La angiopoyetina-2 sérica y el receptor 2 de VEGF soluble son marcadores sustitutos de la fuga de plasma en pacientes con infección aguda por el virus del dengue]. *Journal of Clinical Virology*, 60(4), p. 328-335.
- Van Eck N. J.; y Waltman L. (2010). Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. [Software de encuesta: VOSviewer, un programa informático para el mapeo bibliométrico]. *Scientometrics*, 84(2), p. 523-538. <https://doi.org/10.1007/s11192-009-0146-3>
- Vervaeke P.; Vermeire K. y Liekens S. (2014). Endothelial dysfunction in dengue virus pathology. [Disfunción endotelial en la patología del virus del dengue]. *Rev. Med. Virol*, 25, p. 50-67.
- Vitoria W. O.; Thomé L. S.; Kanashiro-Galo L.; Carvalho L. V. D.; Penny R.; Santos W. L. C.; y Pagliari, C. (2019). Upregulation of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in renal tissue in severe dengue in humans: Effects on endothelial activation/dysfunction. [Regulación positiva de la molécula de adhesión intercelular-1 y la molécula de adhesión de células vasculares-1 en el tejido renal en el dengue grave en humanos: Efectos sobre la activación/disfunción endotelial]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 52.
- Wang, Z.; Schuch, G.; Williams, J. K.; y Soker, S. (2013). Peripheral Blood Stem Cells. [Células madre de sangre periférica]. *Handbook of Stem Cells*, p. 573 - 586. doi:10.1016/b978-0-12-385942-6.00050-0.
- Weinstein N.; Mendoza L.; y Álvarez Buylla E. R. (2020). A Computational Model of the Endothelial to Mesenchymal Transition. [Un modelo computacional de la transición

endotelial a mesenquimatoso]. *Frontiers in Genetics*, 11, p. 40. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00040>

Yen, Y. T., Chen, H. C., Lin, Y. D., Shieh, C. C., & Wu-Hsieh, B. A. (2008). Enhancement by tumor necrosis factor alpha of dengue virus-induced endothelial cell production of reactive nitrogen and oxygen species is key to hemorrhage development. [La mejora por el factor de necrosis tumoral alfa de la producción de especies reactivas de nitrógeno y oxígeno en las células endoteliales inducida por el virus del dengue es clave para el desarrollo de la hemorragia]. *Journal of virology*, 82(24), p. 12312-12324.

Zeisberg EM.; Tarnavski O.; Zeisberg, M.; Dorfman AL.; McMullen JR.; Gustafsson E.; Chandraker A.; Yuan X.; Pu WT.; Roberts AB.; Neilson EG.; Sayegh MH.; Izumo S. y Kalluri R. (2007). Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. [La transición endotelial a mesenquimatoso contribuye a la fibrosis cardíaca]. *Nat Med*, 13, p. 952 - 961. doi:10.1038/nm1613.

Zhou, B., Wang, B., & Zhe, H. (2018). *Degree-layer theory of network topology*.

Anexos

Tabla 2

Distancias entre los nodos de la red de plasticidad de las células endoteliales inducida por el virus del dengue

| Ang-2 | Cox-2 | NfjB-MAPK | Tie-2 | Nos2 | Rac-1 | Ang-1 | iNos | | |
|-----------|-------|-----------|-------|------|-------|-------|------|---|---|
| Ang-2 | | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 | 2 | 4 |
| Cox-2 | | 1 | 0 | 1 | 2 | 4 | 4 | 3 | 5 |
| NfjB-MAPK | | 1 | 1 | 0 | 2 | 4 | 4 | 3 | 5 |
| Tie-2 | | 1 | 2 | 2 | 0 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| Nos2 | | 3 | 4 | 4 | 2 | 0 | 2 | 1 | 3 |
| Rac-1 | | 3 | 4 | 4 | 2 | 2 | 0 | 1 | 3 |
| Ang-1 | | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| iNos | | 4 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 2 | 0 |
| IFN | | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 |
| Mmp-9 | | 4 | 5 | 5 | 4 | 4 | 2 | 3 | 3 |
| TLR3 | | 5 | 6 | 6 | 5 | 5 | 3 | 4 | 4 |
| IL-17 | | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 5 |
| Hmgb1 | | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| IL-1B | | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| IL-6 | | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| IL-8 | | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 |
| Mmp-13 | | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 |
| Rantes | | 4 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |

| | IFN | Mmp-9 | TLR3 | IL-17 | Hmgb1 | IL-1B | IL-6 | IL-8 | Mmp-13 |
|-----------|-----|-------|------|-------|-------|-------|------|------|--------|
| Ang-2 | 3 | 4 | 5 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| Cox-2 | 4 | 5 | 6 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| NfjB-MAPK | 4 | 5 | 6 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| Tie-2 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| Nos2 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| Rac-1 | 4 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| Ang-1 | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| iNos | 4 | 3 | 4 | 5 | 3 | 2 | 3 | 3 | 4 |
| IFN | 0 | 5 | 6 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 5 |
| Mmp-9 | 5 | 0 | 1 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 1 |
| TLR3 | 6 | 1 | 0 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 2 |
| IL-17 | 4 | 4 | 5 | 0 | 3 | 3 | 2 | 2 | 5 |
| Hmgb1 | 1 | 4 | 5 | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| IL-1B | 2 | 3 | 4 | 3 | 1 | 0 | 1 | 2 | 4 |
| IL-6 | 2 | 4 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 3 |
| IL-8 | 2 | 4 | 5 | 2 | 1 | 2 | 2 | 0 | 5 |
| Mmp-13 | 5 | 1 | 2 | 5 | 4 | 4 | 3 | 5 | 0 |
| Rantes | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 4 |

| | Rantes | TNF-a | VEGF | Vegfr2 | VE-Cadherin | RhoA |
|-----------|--------|-------|------|--------|-------------|------|
| Ang-2 | 4 | 3 | 2 | 1 | 3 | 3 |
| Cox-2 | 5 | 4 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| NfjB-MAPK | 5 | 4 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| Tie-2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| Nos2 | 3 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 |
| Rac-1 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 |
| Ang-1 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 |
| iNos | 2 | 1 | 3 | 4 | 2 | 3 |
| IFN | 3 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 |

| | | | | | | | | | |
|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IL-6 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| IL-8 | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 |
| Mmp-13 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 |
| Rantes | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 |

| | P-C14 | PTK | RAS-Map | RAS-fosC | Vegf_VE-C |
|-----------|-------|-----|---------|----------|-----------|
| Ang-2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 |
| Cox-2 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 |
| NfjB-MAPK | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 |
| Tie-2 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 |
| Nos2 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 |
| Rac-1 | 4 | 5 | 3 | 2 | 2 |
| Ang-1 | 3 | 4 | 3 | 3 | 2 |
| iNos | 3 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| IFN | 3 | 3 | 5 | 5 | 4 |
| Mmp-9 | 4 | 5 | 2 | 2 | 2 |
| TLR3 | 5 | 6 | 3 | 3 | 3 |
| IL-17 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 |
| Hmgb1 | 2 | 2 | 4 | 4 | 3 |
| IL-1B | 1 | 3 | 4 | 3 | 2 |
| IL-6 | 2 | 3 | 4 | 4 | 3 |
| IL-8 | 3 | 1 | 4 | 4 | 3 |
| Mmp-13 | 5 | 6 | 3 | 3 | 2 |
| Rantes | 3 | 2 | 4 | 3 | 2 |