



**Universidad
Europea**

Máster en Bioinformática
INTEGRACIÓN DE TRANSCRIPTOMAS DE
SANGRE EN ENFERMEDADES
NEURODEGENERATIVAS

Autor: Carmen Mendoza Moreno

Tutor: Jordi Martorell Marugán

Curso 2022-23

AGRADECIMIENTOS

A Jordi por su ayuda y paciencia en esta experiencia con R. A Nilo y a Arán por ser el rayo de sol de mi vida. A Raúl, por ser mi apoyo incondicional y la suerte de mi vida.

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	9
3. METODOLOGÍA.....	9
3.1 Obtención de los datos.....	9
3.2 Normalización de los conjuntos de datos.....	10
3.3 Modelo de efectos aleatorios.....	11
3.4 Estudio funcional de los genes.....	13
4. RESULTADOS.....	14
4.1 Análisis de expresión génica diferencial de enfermedades neurodegenerativas.....	14
4.2 Análisis de expresión génica diferencial de las enfermedades neurodegenerativas individuales.....	16
4.3 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica con el resto de enfermedades.....	19
4.3.1 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica y el Parkinson.....	20
4.3.2 Análisis inverso de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica y el Parkinson.....	22
4.3.3 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica, el Parkinson y el Huntington.....	25
4.4 Estudio funcional de los genes a partir de los resultados del análisis de expresión génica diferencial del Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica.....	28
5. DISCUSIÓN.....	30
6. CONCLUSIONES.....	32
7. BIBLIOGRAFÍA.....	33
8. ANEXOS.....	35

RESUMEN

Objetivos: Evaluar los transcriptomas de sangre de pacientes con enfermedades neurodegenerativas para permitir su diagnóstico y la diferenciación entre ellas a partir de su patrón de expresión génica.

Material y métodos: Se han seleccionado 8 estudios con un grupo de control y pacientes que presentan una de las siguientes enfermedades: esclerosis lateral amiotrófica, Parkinson, Huntington y Alzheimer. Se ha realizado un análisis de expresión génica diferencial a través del método de efectos aleatorios del paquete DExMA y un estudio funcional génico con los resultados de este.

Resultados: En los análisis de expresión génica diferencial se ha demostrado que existen patrones de expresión génica comunes entre algunas de las enfermedades neurodegenerativas que las diferencian del grupo control. Se han obtenido 6 genes que tienen un papel clave en la aparición del Parkinson y el ELA y que están estrechamente relacionado con el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso. Además, también aparecen genes que presentan patrones inversos de expresión entre el ELA y el Parkinson.

Conclusiones: Los patrones de expresión génica provenientes del transcriptoma se pueden utilizar como biomarcadores para el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: enfermedades neurodegenerativas, Parkinson, Alzheimer, Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, patrones de expresión génica, genes.

ABSTRACT

Objectives: Assess the blood transcriptomes of patients with neurodegenerative diseases to enable their diagnosis and differentiation based on their gene expression patterns.

Methods: Eight studies have been selected with a control group and patients presenting the following diseases: amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's, Huntington's, and Alzheimer's. A differential gene expression analysis was conducted using the random effects method of the DExMA package and a functional gene study was carried out.

Results: In the differential gene expression analyses, it has been shown that there are common gene expression patterns among some of the neurodegenerative diseases that differentiate them from the control group. Six genes have been identified that play a key role in the onset of Parkinson's and ALS and are closely related to the development and functions of the nervous system. In addition, there are also genes with inverse expression patterns between ALS and Parkinson's.

Conclusions: Gene expression patterns from the transcriptome can be used as biomarkers for the diagnosis of neurodegenerative diseases.

Keywords: neurodegenerative diseases, Parkinson's, Alzheimer's, Huntington's, amyotrophic lateral sclerosis, gene expression patterns, genes.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas representan una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en los grupos demográficos de mayor edad. A medida que la esperanza de vida de la población aumenta, se produce un incremento en la incidencia de estas enfermedades relacionadas con el deterioro del sistema nervioso central (Lin et al., 2020).

Esta tendencia creciente de la prevalencia de enfermedades neurodegenerativas, debido al incremento de la esperanza de vida de la población, tiene repercusiones tanto en el ámbito social como en el económico. Desde una perspectiva socioeconómica, estas enfermedades presentan un desafío importante. Los pacientes con este tipo de patología requieren atención y cuidados especializados. Además, la evolución de estas enfermedades supone una disminución en las capacidades cognitivas y motoras del paciente y en consecuencia un incremento de la dependencia del mismo (Stephenson et al., 2018).

Las enfermedades neurodegenerativas son enfermedades que, como su nombre indica, se caracterizan por un deterioro de las neuronas provocando un mal funcionamiento de las mismas e incluso una pérdida de estas en estadios avanzados de la enfermedad (Doroszkiwicz et al., 2022).

Estas enfermedades crónicas se caracterizan por su patología heterogénea y una sintomatología clínica solapada entre las diferentes enfermedades neurodegenerativas. Entre las más comunes destacan el Alzheimer, el Parkinson, el Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica, la esclerosis múltiple y la ataxia espinocerebelosa (Erkinen et al., 2018).

La heterogeneidad y solapamiento de las enfermedades neurodegenerativas dificultan su diagnóstico, que, a menudo, es impreciso y en ocasiones erróneo. Además, el coste de las pruebas de diagnóstico, el uso de métodos invasivos y la complejidad del diagnóstico provocan que los tiempos de diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas sea elevado. Es por ello que se están evaluando nuevas pruebas diagnósticas no invasivas, que disminuyan el coste económico del diagnóstico y que

permitan la detección temprana de enfermedades neurodegenerativas (Huseby et al., 2022).

Uno de los métodos de diagnóstico más utilizado en las enfermedades neurodegenerativas es el uso de biomarcadores, entre los que destacan los biomarcadores de imagen, bioquímicos, y genéticos. Los biomarcadores de imagen se han desarrollado en los últimos años gracias a los avances en la tecnología, teniendo un impacto positivo en el diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas. Entre los biomarcadores de imagen más importantes destacan las técnicas de tomografía computarizada por emisión monofotónica, la tomografía por emisión de positrones o la resonancia magnética con sondas (Jeromin & Bowser, 2017).

Por otro lado, los biomarcadores bioquímicos se caracterizan por la detección de proteínas provenientes de cerebro, como por ejemplo la proteína α -sinucleína, las enzimas lisosomales, la proteína de la cadena ligera de neurofilamentos, o las proteínas t-tau, p-tau y A β 42 entre otras. Se considera que la aparición de estas proteínas en el líquido cefalorraquídeo está estrechamente relacionada con la aparición de determinadas enfermedades neurodegenerativas (Hansson, 2021).

Por último, los biomarcadores genéticos son muy útiles cuando las enfermedades neurodegenerativas están ligadas a una mutación concreta del genoma. Además, están surgiendo nuevos biomarcadores relacionados con los distintos tipos de ARN que podrían ser claves para descubrir las rutas metabólicas o los mecanismos moleculares que están implicados en las enfermedades neurodegenerativas (Jeromin & Bowser, 2017).

Tanto los biomarcadores genéticos como los bioquímicos son evaluados en fluidos biológicos, principalmente en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo. Aunque este último tejido sea el más interesante por su similitud a las células del sistema nervioso central, requiere de una prueba invasiva y los riesgos asociados a ella, ya que la muestra se extrae a través de una punción lumbar. Es por ello, que los biomarcadores en sangre se están posicionando como una herramienta crucial en el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas, a pesar de la complejidad que supone el uso de este tejido. La

muestras de sangre se extraen de manera no invasiva, tienen un bajo coste y se pueden extraer en cualquier clínica (Parnetti et al., 2019).

Teniendo en cuenta el potencial de los biomarcadores sanguíneos, el uso de biomarcadores de expresión génica cobra un papel relevante en el diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas. Dentro de los biomarcadores de expresión aparece el ARN mensajero como el principal exponente de la expresión génica. Además, los ARN no codificantes y la metilación del ARN también tienen un papel importante en la expresión génica, entre los que destacamos los micro ARN (miARN), el ARN circular (cARN) y el ARN largo no codificante (lncARN) (Moreno-García et al., 2020).

En el Parkinson, se ha demostrado que existen dos rutas de regulación de la expresión génica que pueden ser utilizadas para detectar la enfermedad. Esta primera ruta consiste en 7 lncARNs (XIST, PART1, MCF2L2, NOP14-AS1, LINC00328, LINC00302 y FAM215A), 3 miRNA (miR-7, miR-133b y miR-433) y 55 ARNs mensajeros que aparecen sobre todo en las rutas de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK9) de la hormona liberadora de gonadotropina (GnrH) y de la insulina. La segunda ruta consiste en 4 lncARNs (KCNQ1OT1, LINC00467Z, SOX2-OT y NEAT1), 9 miARN (miR-3163, miR-424-5p, miR-215-5p, miR-193-3p, miR-195-5p, miR-1-3p, miR-92b-3p, miR-520g-3p y miR-124-3p) y 6 ARN mensajeros (PTBP1, FBXL7, SRSF1, PTBP2, UBE2Q2 y RBBP6) que participan en diferentes rutas (Moreno-García et al., 2020).

En el Alzheimer, la desregulación de los miARN está provocada por una deslocalización de la proteína de unión TDP-34 en la amígdala y su agregación. Además, también está implicada la represión de las ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas A1 y 2B1 en la desregulación de los miARN. En el ELA, también se ha demostrado que la deslocalización y agregación de la proteína TDP-34 y de la proteína de unión FUS, tienen un papel clave en la desregulación de los miARN. Asimismo, también existe una deslocalización de la enzima Drosha y una deslocalización y agregación de la ribonucleoproteína nuclear heterogénea 1B. El Huntington, al igual que el Parkinson, presenta la deslocalización y agregación de las proteínas TDP-34 y FUS, implicadas en la desregulación de los miARN. Además, en el Huntington existe una represión de las proteínas Dicer, Drosha y Ago2 y una sobreexpresión de la proteína TRAX. Todos estos

cambios tienen un papel importante en la aparición y progreso de las enfermedades mencionadas y por tanto, podrían ser utilizadas para su diagnóstico y la evaluación de la progresión de la enfermedad (Weng et al., 2023).

Tal y como su nombre indica, los biomarcadores de expresión génica se utilizan para evaluar los niveles de expresión de los genes. Concretamente, los biomarcadores de expresión basados en ARN mensajero permiten la detección de perfiles de expresión para diferenciar a pacientes sanos de pacientes que presentan una enfermedad neurodegenerativa. Además, los patrones de expresión génica también permiten diferenciar las enfermedades neurodegenerativas entre ellas. Es por ello, que el uso de estos biomarcadores, obtenidos a partir de muestras sanguíneas, pueden ser útiles para detectar las rutas metabólicas y las funciones celulares que se ven afectadas en las enfermedades neurodegenerativas. Permitiendo mejorar la de detección temprana de la enfermedad y evaluar el progreso de la misma (Huseby et al., 2022).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis del presente Trabajo de Fin de Máster (TFM) es: Es posible diagnosticar y diferenciar enfermedades neurodegenerativas gracias a los transcritos encontrados en sangre.

El objetivo principal de este TFM es integrar transcriptomas de sangre de diferentes enfermedades neurodegenerativas para encontrar aquellos genes que se encuentran alterados de manera similar en enfermedades como Parkinson, Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Huntington, y evaluar la significancia biológica de los resultados y las posibles rutas moleculares en las que están implicadas las enfermedades neurodegenerativas

3. METODOLOGÍA

3.1 Obtención de los datos

Para realizar el presente trabajo se han extraído diferentes conjuntos de datos del repositorio de datos público GEO por sus siglas en inglés *Gene Expression Omnibus*. Dentro de este repositorio se ha realizado la siguiente búsqueda: “*RNA blood neurodegenerative disease*” y se han añadido los siguientes filtros: “*Homo sapiens*”,

“*Expression profiling by high throughput sequencing*” y se ha indicado que cada estudio debe contener más de 10 muestras y menos de 1000. El resultado de esta búsqueda es 70 conjuntos de datos a los cuales se ha aplicado los siguientes criterios de inclusión y exclusión para seleccionar los datos a utilizar en el presente trabajo:

A) Criterios de inclusión

1. Los datos de secuenciación proceden de pacientes que tengan alguna de las siguientes enfermedades: Alzheimer, Huntington, Parkinson y/o esclerosis lateral amiotrófica (ELA), además del grupo control.
2. Las muestras utilizadas para secuenciar el transcriptoma provienen de la sangre de los pacientes, ya sea sangre completa, suero extraído a partir de una muestra de sangre o células mononucleares de la sangre periférica.
3. La técnica de análisis es RNA-seq.
4. La secuenciación a través de RNA-seq se ha realizado a partir del ARN mensajero.

B) Criterios de exclusión

1. Las muestras provienen de cualquier tejido diferente a la sangre.
2. Datos provenientes de ARN largo no codificante, micro ARN y cualquier tipo de ARN diferente del ARN mensajero.
3. Los datos de secuenciación provienen de líneas celulares modificadas en el laboratorio.
4. El conjunto de datos es inferior o igual a 10 muestras.
5. Las muestras provienen de estudios en los que se evalúa algún tipo de medicamento.

Tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión se han obtenido 8 conjuntos de datos diferentes con los siguientes números de acceso GEO: GSE168813, GSE153104, GSE161199, GSE165082, GSE51799, GSE61405, GSE183204 y GSE115259.

3.2 Normalización de los conjuntos de datos

Para normalizar los diferentes conjuntos de datos, se descargan los conteos crudos de cada experimento gracias a los números de acceso de GEO y se cargan en R. La matriz con los datos crudos se filtra para eliminar aquellos genes que tienen menos de 5

conteos en al menos el 80% de las muestras y el resultado del filtrado de los genes se normaliza y se le aplica una transformación logarítmica.

Para realizar el filtrado de los genes, se ha utilizado el paquete de R *genefilter*, que permite seleccionar genes que cumplan determinadas condiciones. En el presente trabajo, se han seleccionado aquellos genes que aparecen como mínimo en el 80% de las muestras y que tienen más de 5 conteos en cada una de las muestras (Gentleman R, et al. 2023).

Una vez que las matrices de conteos crudos han sido filtradas y se han seleccionado los genes que han pasado el filtro, se procede a la normalización de las matrices de expresión. Para normalizar las matrices crudas se ha utilizado el método de media truncada de M valores o TMM por sus siglas en inglés *Trimmed mean of M values* del paquete NOIseq de R (Tarazona et al., 2011).

Por último, se realiza una transformación logarítmica de logaritmo 2, a las matrices de expresión normalizadas para facilitar los análisis estadísticos posteriores, ya que los métodos utilizados asumen que los datos siguen una distribución normal (Becker, R. A et al., 1988).

3.3 Modelo de efectos aleatorios

En primer lugar, se descarga la información sobre las muestras de cada uno de los experimentos, gracias a los números de acceso de GEO, se seleccionan los datos relevantes para el estudio y se carga una matriz por cada conjunto de datos. Estas matrices se utilizan para definir qué muestras del estudio pertenecen al grupo control y cuáles a los pacientes que presentan la enfermedad.

Tras haber cargado todas las matrices, tanto las de expresión como las de información, se realiza un análisis estadístico para evaluar si existen patrones de expresión génica diferencial entre el grupo control y los pacientes en los diferentes estudios. Para ello, se aplica el modelo estadístico de efectos aleatorios utilizando el parámetro *REM* en la función *metaAnalysisDE* del paquete DeXMA de R (Villatoro-García et al., 2022).

Para realizar el análisis estadístico con el modelo de efectos aleatorios, se calcula previamente la varianza y el tamaño del efecto de los genes, es decir, la expresión

diferencial entre el grupo control y los pacientes. Para calcular el tamaño del efecto de las muestras se utiliza la g de Hedge, que resulta más pertinente en estudios de expresión génica, siguiendo la fórmula que aparece a continuación: $T_i = c(m) \frac{\bar{y}_E - \bar{y}_C}{S}$. Donde T_i es el efecto de los tamaños de un gen para el i ésimo conjunto de datos, $c(m)$ es un factor que corrige el sesgo positivo, \bar{y}_E es la media de expresión génica de los pacientes que presentan la enfermedad, \bar{y}_C es la media de expresión génica del grupo control y S es la desviación estándar entre los estudios (Toro-Domínguez et al., 2021).

El modelo de efectos aleatorios obtiene, a partir de la varianza y el tamaño del efecto de los genes, el efecto combinado, que se utiliza para distinguir si los genes están diferencialmente expresados o no. El efecto combinado calculado gracias al modelo de efectos aleatorios se caracteriza por representar la media de los tamaños del efecto. Para ello se han calculado los pesos a través de la siguiente ecuación: $\omega_i^* = \frac{1}{V(T_i) + \tau^2}$, donde ω_i^* es el peso de cada gen, $V(T_i)$ es la varianza dentro cada uno de los estudios y τ^2 es la varianza entre los diferentes estudios. Una vez que los pesos se han calculado para cada uno de los genes, se calcula el efecto combinado gracias a la siguiente ecuación: $\bar{T} = \frac{\sum_{i=1}^k \omega_i^* T_i}{\sum_{i=1}^k \omega_i^*}$. Donde \bar{T} es el efecto combinado para cada gen, T_i es el efecto de los tamaños de un gen para el i ésimo conjunto de datos, y ω_i^* es el peso de cada gen (Martorell Marugán, Jordi, 2021).

Como se ha comentado previamente, el modelo de efectos aleatorios se utiliza para realizar un análisis estadístico que evalúe si existen patrones de expresión génica diferencial entre los pacientes y el grupo control en diferentes estudios. Este modelo es muy útil en estudios que presentan heterogeneidad para identificar qué genes se expresan diferencialmente en determinadas condiciones.

En el presente trabajo, el modelo de efectos aleatorios se aplica para evaluar si existe una expresión diferencial génica entre el grupo control y los pacientes que presentan las distintas enfermedades neurodegenerativas. Asimismo, este modelo también se aplica a cada una de las enfermedades neurodegenerativas por separado con sus correspondientes grupos de control, para evaluar si existe una expresión diferencial de los genes. Por último, se integran distintas enfermedades, concretamente el Parkinson

y el ELA o Parkinson, ELA y Huntington para aplicarles el modelo de efectos aleatorios y evaluar si existe una expresión génica diferencial entre los pacientes que presentan dichas enfermedades y el grupo control. En la figura 1 se muestra un esquema resumen de los análisis de expresión génica diferencial realizados en el presente trabajo.

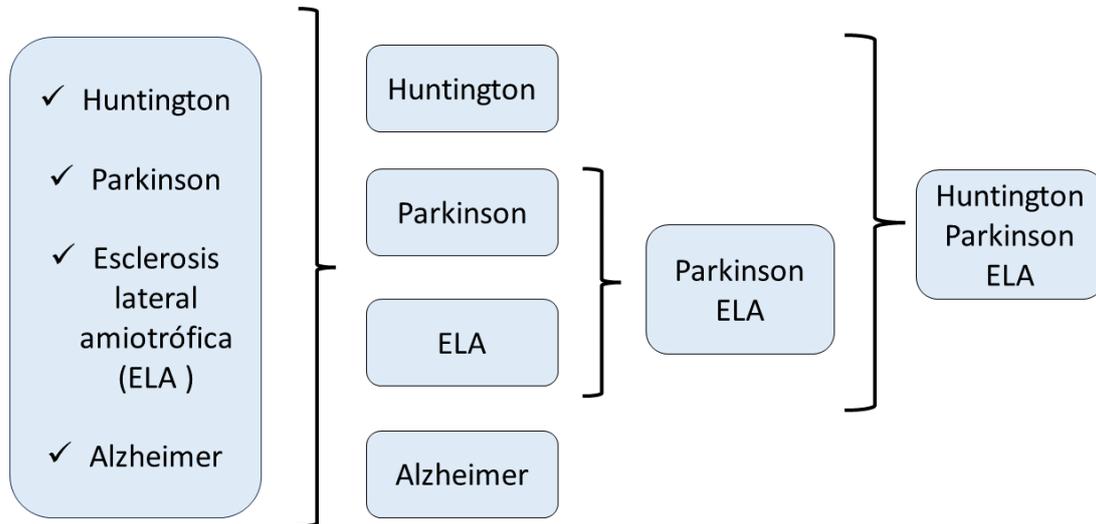


Figura 1: esquema resumen de los diferentes análisis de expresión génica diferencial realizados. Cada uno de los recuadros corresponde a uno de los análisis de expresión diferencial génica. Figura de elaboración propia.

3.4 Estudio funcional de los genes

Tras obtener los resultados del análisis de expresión génica diferencial gracias al modelo de efectos aleatorios, se realiza estudio funcional de los genes para aportar significancia biológica a los resultados obtenidos. Un estudio funcional génico se caracteriza por dotar de significancia estadística a las anotaciones que se realizan de un conjunto de genes seleccionados. Para ello, se utiliza la prueba exacta de Fisher que evalúa la lista de genes seleccionados en comparación con la lista de genes de referencia a través de

la siguiente ecuación: $p(x, M, n, N) = \frac{\binom{n}{x} \binom{M-n}{N-x}}{\binom{M}{N}}$, donde N es el número total de

elementos de la lista de genes seleccionada, M es la lista de genes de referencia, x el número de elementos de la lista de genes seleccionada que aparecen en la anotación que se está realizando y n el número total de elementos evaluados en la anotación. Tras utilizar la prueba exacta de Fisher para evaluar la significancia de las anotaciones, se

calcular el p-valor corregido y la puntuación relativa del estudio funcional génico (García-Moreno et al., 2022).

Para el presente trabajo, se ha utilizado la herramienta GeneCodis4 con las siguientes anotaciones: *BioPlanet*, *GO-Biological Process*, *GO-Cellular Component*, *GO-Molecular Function*, *KEGG Pathways*, *Panther Pathways*, *Reactome*, *WikiPathways*, *DisGeNET*, *HPO* y *OMIM*.

4. RESULTADOS

4.1 Análisis de expresión génica diferencial de enfermedades neurodegenerativas

El análisis de expresión génica diferencial de las enfermedades neurodegenerativas se ha realizado a través del modelo de efectos aleatorios debido a la alta heterogeneidad que presentan los estudios y las enfermedades entre ellas. Para ello se ha evaluado previamente la heterogeneidad de los estudios gracias al gráfico de los cuantiles que se presenta en la figura 2. En este gráfico, que muestra la distribución de los datos, se observa que los datos se separan de la línea recta de la tendencia y que, por consiguiente, no siguen la distribución chi cuadrado. Es por ello que se considera que no hay homogeneidad en los datos de todas las enfermedades neurodegenerativas y que, por tanto, se debe utilizar el modelo de efectos aleatorios.

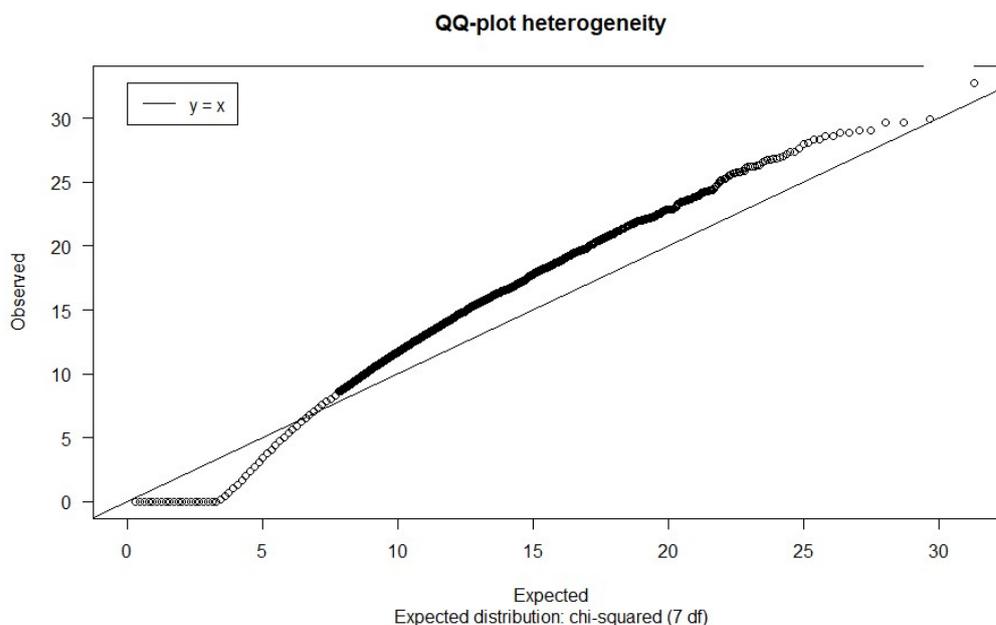


Figura 2: Gráfico Cuantil-Cuantil de la distribución de los datos de todos los estudios de enfermedades neurodegenerativas evaluadas.

El modelo de efectos aleatorios ha comparado la expresión génica del grupo control y los pacientes del Alzheimer, Parkinson, Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Concretamente, se ha evaluado la expresión de los genes que se encuentra en al menos un 75% de las muestras y que no tengan más de un 30% de valores perdidos. Además, se ha proporcionado una tabla resumen con valores como la tasa de descubrimiento falso (FDR por sus siglas en inglés *False Discovery Rate*), el p-valor y el z-valor, entre otros, para cada uno de los genes.

Gracias a esta tabla resumen, se ha comprobado que ninguno de los genes del análisis de expresión diferencial tiene un FDR inferior a 0.05 y que, por lo tanto, no se considera que la expresión génica sea significativamente diferencial en este conjunto de datos. En la tabla suplementaria 1 se han recopilado los primeros 20 genes con un FDR más bajo y se muestra cómo el primer valor de FDR es 0.18, superior a 0.05.

Para facilitar el análisis de los resultados y comprobar que, efectivamente no hay una expresión génica diferencial significativa, se ha creado un mapa de calor con la lista de los primeros 20 genes con un FDR más bajo (Figura 3). En la figura 3 se observa que no existe un patrón de expresión génica diferencial consistente entre los pacientes y el grupo control, ya que no se muestra una diferenciación de expresión entre el grupo control y los pacientes. Este mapa de calor confirma de manera visual los resultados obtenidos de la tabla resumen que indicaba que no había ningún gen significativo en el análisis de expresión génica diferencial.

Según la enfermedad neurodegenerativa a evaluar, el patrón de expresión génica es diferente. Esto se debe a la elevada heterogeneidad de las enfermedades neurodegenerativas y a la heterogeneidad de los conjuntos de datos evaluados (plataforma de secuenciación, extracción de las muestras, operario, etc).

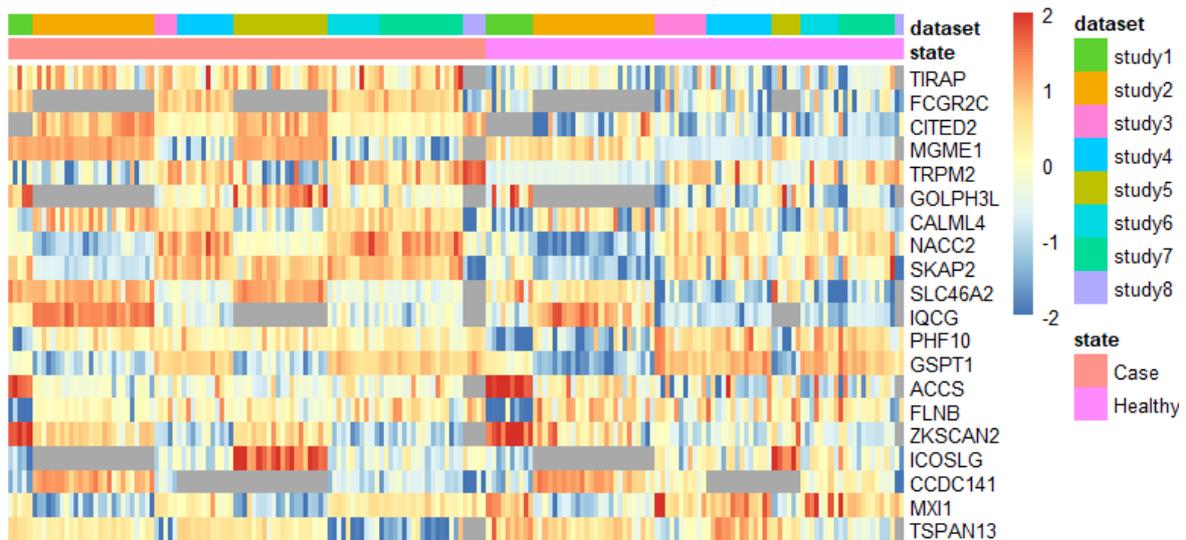


Figura 3: Mapa de calor de los primeros 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión diferencial génica de las enfermedades degenerativas. Coloreado en gris los genes faltantes para cada una de las enfermedades. Donde el estudio 1 y 2 corresponden al Alzheimer, el estudio 3 y 4 al Parkinson, el estudio 5 y 6 al Huntington y el estudio 7 y 8 al ELA.

4.2 Análisis de expresión génica diferencial de las enfermedades neurodegenerativas individuales

El análisis de expresión génica diferencial conjunto de las distintas enfermedades neurodegenerativas seleccionadas no ha generado una lista de genes significativos. Además, el mapa de calor ha demostrado que tampoco existe un patrón de expresión génica diferencial común a todas las enfermedades. Es por ello, que se ha evaluado si existen patrones de expresión génica diferencial en las distintas enfermedades neurodegenerativas por separado.

Para realizar el análisis de expresión génica diferencial de cada una de las enfermedades se ha utilizado el modelo de efectos aleatorios con los mismos parámetros que anteriormente, es decir, que los genes seleccionados se encuentren en al menos un 75% de las muestras y que no tengan más de un 30% de valores perdidos. En particular, se han evaluado dos estudios para cada una de las enfermedades neurodegenerativas seleccionadas.

De cada uno de los análisis de expresión génica diferencial se ha obtenido una tabla resumen con los valores asignados a los genes. Como se ha comentado anteriormente, esta tabla nos proporciona información sobre los diferentes estadísticos utilizados.

En la tabla 1, mostrada a continuación, se ha recopilado el número de genes significativos por enfermedad, es decir, el número de genes para cada enfermedad que tienen un FDR inferior a 0.05. Además, también se incluyen el número de genes con un FDR inferior a 0.4. Asimismo, se han recopilado la cantidad de genes con un p-valor inferior a 0.00001 y a 0.0001 para cada una de las enfermedades neurodegenerativas.

Enfermedades	FDR < 0,05	FDR < 0,4	p-valor < 10e-5	p-valor < 10e-4
Alzheimer	0	0	0	4
Parkinson	0	73	0	28
ELA	6	399	13	70
Huntington	0	4	1	10

Tabla 1: Número de genes significativos por enfermedad para cada uno de los parámetros evaluados extraídos del análisis de expresión diferencial individual de las enfermedades.

Como se puede observar en la tabla 1, sólo el ELA presenta genes con un FDR inferior a 0.05, es decir, es la única enfermedad en la que se considera que hay una expresión diferencial de los genes significativa. Además, el ELA es la enfermedad que presenta un mayor número de genes para todos los valores de corte mostrados en la tabla.

Por el contrario, el Alzheimer es la enfermedad que presenta un menor número de genes para cada una de las condiciones de la tabla, siendo la única enfermedad que no presenta ningún gen con un FDR inferior a 0.4. Además, tan solo presenta 4 genes con un p-valor inferior a 0.0001, por lo que se considera que el Alzheimer apenas tiene genes que se expresen diferencialmente y sean relevantes.

Por otro lado, ni el Parkinson ni el Huntington presenta genes considerados como significativos, es decir, con un FDR inferior a 0.05. Sin embargo, sí presentan genes con un FDR inferior a 0.4, concretamente 4 genes para el Huntington y 73 para el Parkinson. Además, ambas enfermedades tienen genes con un p-valor inferior a 0.0001 y el Huntington presenta un gen con un p-valor inferior a 0.00001.

En los resultados obtenidos del análisis de expresión génica diferencial del Parkinson, Huntington y ELA se ha observado que hay una tendencia de expresión génica diferencial

entre los pacientes y el grupo control para algunos genes. Aunque, también se muestra heterogeneidad entre las muestras, ya que las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por su elevada heterogeneidad.

En la figura 4 se muestra el mapa de calor generado para el Parkinson con los genes con un FDR inferior a 0.4. Se ha seleccionado este criterio porque es el último valor de FDR observado en la lista de los 20 genes con un FDR más bajo que se ha generado para esta enfermedad (tabla suplementaria 3).

En este mapa de calor se observa un patrón de expresión génica diferencial entre el grupo control y los pacientes con Parkinson. Existe una tendencia de sobreexpresión de los genes que van desde el gen LPAR1 hasta el gen NF1 en los pacientes que presentan la enfermedad respecto al grupo control. Sin embargo, hay una tendencia de represión del resto de genes en los pacientes con Parkinson.

Aunque exista esta tendencia de sobreexpresión y represión diferencial de los genes seleccionados, también se observa una heterogeneidad en la expresión génica del Parkinson, ya que algunas muestras no siguen la tendencia observada para algunos de los genes.

Además, en la información suplementaria también se muestra el listado de los 20 genes con un FDR más bajo generados para el Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica en las tablas suplementarias 2 y 4 respectivamente. Asimismo, los mapas de calor de estas enfermedades también se encuentran en las imágenes complementarias 1 y 2 correspondientes a la esclerosis lateral amiotrófica y al Huntington respectivamente.

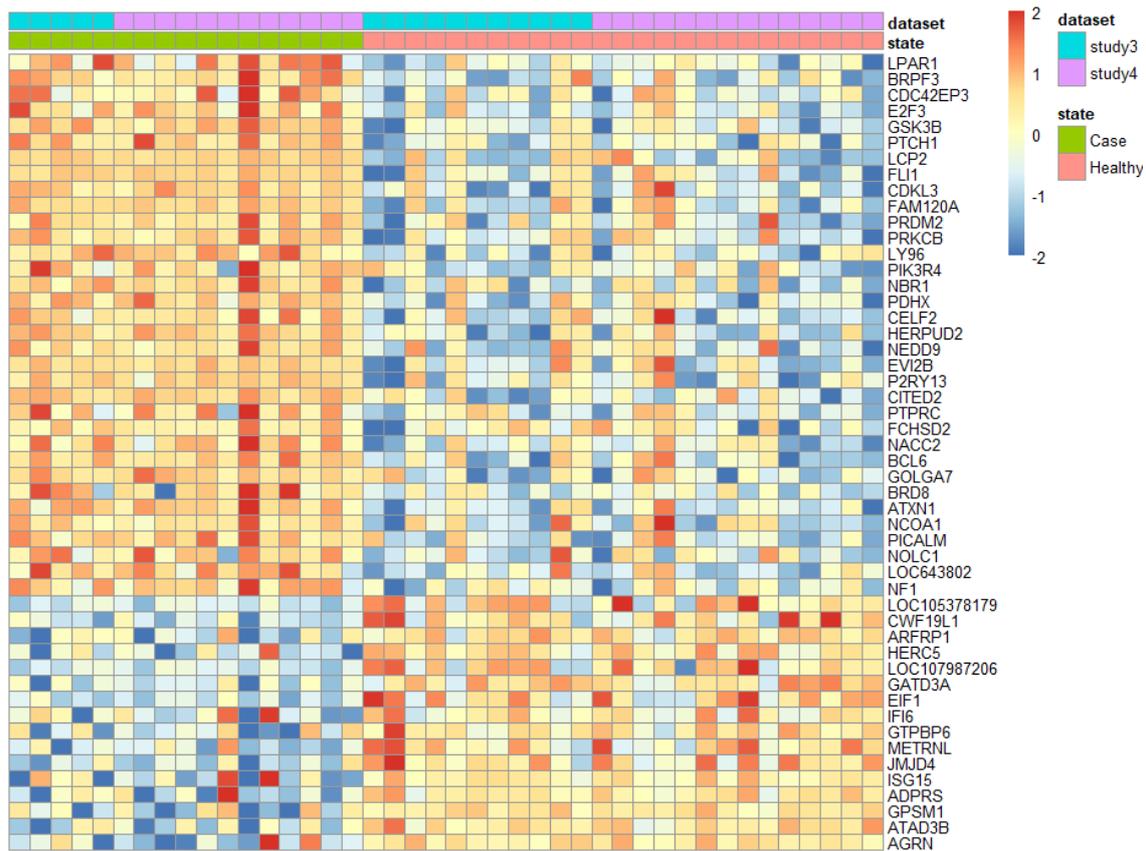


Figura 4: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.4 del análisis de expresión diferencial génico del Parkinson.

4.3 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica con el resto de enfermedades

Teniendo en cuenta el número de genes considerados como significativos o relevantes del análisis de expresión génica diferencial de las enfermedades neurodegenerativas por separado (tabla 1), la esclerosis lateral amiotrófica es la enfermedad con mayor relevancia, seguida del Parkinson y el Huntington. En último lugar, se encuentra el Alzheimer, que no tiene ningún gen considerado como significativo y apenas tiene genes relevantes. Es por ello, que el Alzheimer será descartado para posteriores análisis de expresión diferencial como se había comentado previamente.

Al contrario, el ELA es la enfermedad neurodegenerativa que presenta un mayor número de genes significativo y relevantes, por lo que esta enfermedad será incluida en todos los análisis de expresión génica diferencial que se realicen a continuación. Por otro lado, el Parkinson es la segunda enfermedad con mayor número de genes relevantes,

por lo tanto, esta enfermedad, al igual que el ELA, será también incluida en todos los análisis de expresión génica diferencial.

Por último, el Huntington tiene unos pocos genes considerados como relevantes, siendo la tercera enfermedad con mayor número de genes. Aunque esta enfermedad presente un número de genes relevantes menor, se han encontrado genes comunes con las enfermedades del Parkinson y el ELA. Es por ello que el Huntington se integra en un nuevo análisis de expresión génica diferencial con el ELA y el Parkinson.

4.3.1 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica y el Parkinson

El análisis de expresión génica diferencial se ha realizado utilizando el modelo de efectos aleatorios como se había realizado previamente. En este caso se han seleccionado los estudios 3 y 4 que corresponden a estudios de Parkinson y el estudio 7 de la esclerosis lateral amiotrófica. Se ha excluido el estudio 8 relacionado con el ELA de este análisis, ya que el número de muestras de las que se ha podido obtener los datos crudos es inferior a 10 y en los criterios de exclusión habíamos indicado que tenía que haber más de 10 muestras por estudios.

De este análisis de expresión génica diferencial se ha obtenido una tabla resumen con los valores asignados a los genes para cada uno de los estadísticos obtenidos. Además, se ha seleccionado una lista con los primeros 20 genes con un FDR más bajo que se muestra en la tabla 2.

Como se puede observar en la tabla 2, sólo aparece un gen significativo para este análisis de expresión diferencial, el gen BRD8 que tiene un FDR de 0.014. El resto de genes no son considerados como significativos, pero tiene un FDR inferior a 0.2. Además, todos los genes de la tabla 2 tiene un p-valor inferior a 0.0005 y están representados en todas las muestras que se han evaluado. La mayoría de los genes están sobreexpresados y solamente 4 genes están reprimidos, concretamente EIF1, HERC5, HMCES y U2AF1.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
BRD8	1,32	0,07	1,95	0,38	0	4,94	7,87E-07	0,014	1
BTN2A1	1,38	0,12	3,14	0,21	0,13	3,98	6,75E-05	0,163	1
CARD6	1,05	0,07	1,91	0,38	0	4,05	5,04E-05	0,163	1
DCAF7	1,02	0,07	1,02	0,6	0	3,96	7,41E-05	0,163	1
SEC23IP	1,03	0,07	1,74	0,42	0	4	6,25E-05	0,163	1
NACC2	0,99	0,07	0,5	0,78	0	3,85	1,16E-04	0,18	1
ADCY7	0,96	0,07	0,17	0,92	0	3,78	1,54E-04	0,183	1
AKAP10	0,95	0,06	0,64	0,72	0	3,73	1,91E-04	0,192	1
ARNT	0,9	0,06	1,1	0,58	0	3,54	3,98E-04	0,192	1
CX3CR1	0,95	0,06	0,37	0,83	0	3,74	1,82E-04	0,192	1
EIF1	-0,91	0,06	0,98	0,61	0	-3,59	3,32E-04	0,192	1
FZD1	0,9	0,06	0,08	0,96	0	3,55	3,85E-04	0,192	1
GLE1	0,9	0,06	1,21	0,55	0	3,55	3,82E-04	0,192	1
HERC5	-0,95	0,06	0,86	0,65	0	-3,72	2,00E-04	0,192	1
HMCES	-0,9	0,06	0,14	0,93	0	-3,55	3,92E-04	0,192	1
LOC101928429	0,93	0,07	1,67	0,43	0	3,65	2,63E-04	0,192	1
LPIN2	0,91	0,06	1,53	0,47	0	3,57	3,59E-04	0,192	1
RGL1	0,9	0,06	0,27	0,88	0	3,56	3,65E-04	0,192	1
S1PR3	0,93	0,07	1,55	0,46	0	3,63	2,80E-04	0,192	1
U2AF1	-0,93	0,06	1,51	0,47	0	-3,63	2,79E-04	0,192	1

Tabla 2: Primeros 20 genes con un FDR más bajo para el análisis de expresión diferencial del ELA y el Parkinson.

Además de crear una tabla con los primeros 20 genes con un FDR más bajo, se ha creado un mapa de calor, figura 5, con los genes con un FDR inferior a 0.193. Se ha seleccionado este valor de FDR porque es el último valor de FDR observado en la lista de los 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión génica diferencial del ELA y el Parkinson. Al seleccionar este criterio de FDR, se incluyen los genes YEATS2 y ZNF41, que tienen un FDR de 0.192.

En el mapa de calor correspondiente a la figura 5, se observa un patrón de expresión diferencial de los genes entre los pacientes con ambas enfermedades y el grupo control. Existe una tendencia de sobreexpresión de los genes EIF1, HERC5, HMCES y U2AF1 en el grupo control, mientras que hay una tendencia de represión génica en los pacientes que presentan ambas enfermedades.

Por otro lado, el resto de genes tiene una tendencia de sobreexpresión en los pacientes de Parkinson y ELA y una tendencia a la represión o a una expresión media en el grupo control.

A pesar de que se observan tendencias de sobreexpresión o represión génica diferencial, también se observa heterogeneidad en la expresión diferencial de los genes. No todas las muestras, tanto de pacientes como del grupo control, siguen las tendencias observadas para algunos de los genes debido a la heterogeneidad de las enfermedades neurodegenerativas.

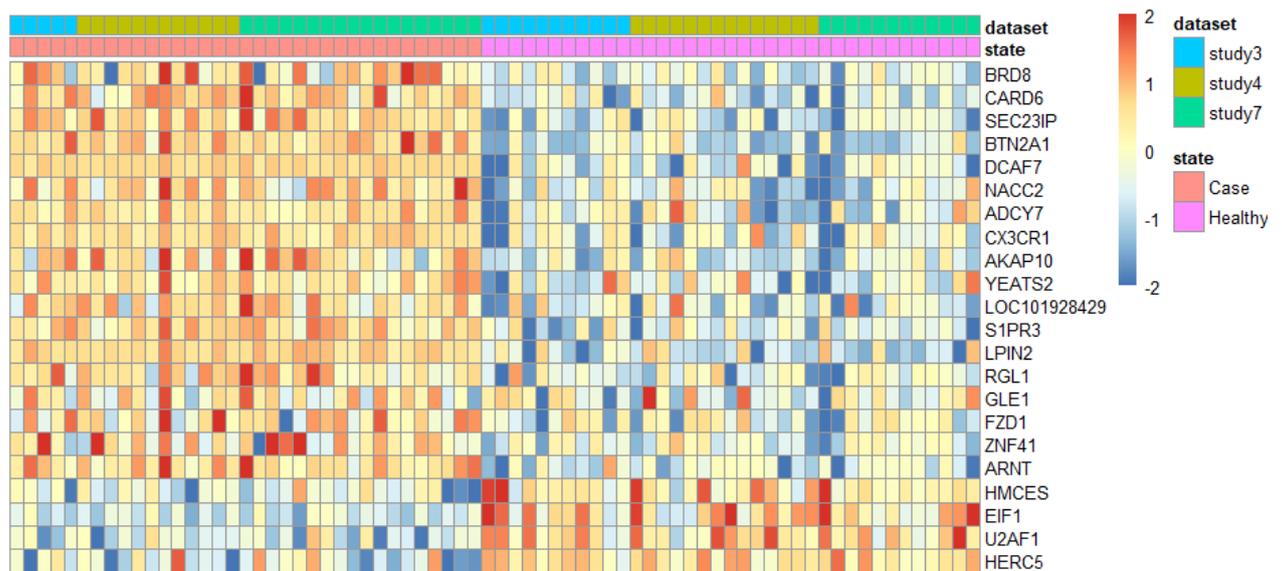


Figura 5: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.193 del análisis de expresión diferencial génico del ELA y el Parkinson. Donde el estudio 3 y 4 corresponden al Parkinson y el estudio 7 corresponde al ELA.

4.3.2 Análisis inverso de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica y el Parkinson

Se ha realizado un análisis inverso de expresión génica diferencial entre el ELA y el Parkinson para evaluar si hay genes que presentan patrones inversos entre dichas enfermedades, es decir, que estén sobreexpresados en pacientes de Parkinson y reprimidos en pacientes de ELA respecto a los controles y viceversa. Para ello, se ha seleccionado como grupo control a los pacientes sanos de los estudios 3 y 4 y a los pacientes que presentan el ELA del estudio 7. Además, para el grupo de los casos se ha seleccionado los pacientes que presentan el Parkinson de los estudios 3 y 4 y el grupo de pacientes sanos del estudio 7. Este cambio permite evaluar si hay genes que se encuentran diferencialmente expresados entre los pacientes de estas enfermedades.

Para realizar este análisis inverso de expresión génica diferencial entre el ELA y el Parkinson se ha utilizado el modelo de efecto aleatorios, al igual que en los análisis previos, que permite evaluar si hay diferencia de expresión en los genes de las diferentes enfermedades. Para realizar este análisis, se han seleccionado nuevamente los genes que están presentes en al menos el 75% de las muestras y que no tengan más de un 30% de valores perdidos.

De estos análisis inverso de expresión génica diferencial se ha obtenido una tabla con los valores estadísticos asignados a cada gen y a partir de la cual se ha creado una nueva tabla con los 20 genes con un FDR más bajo (tabla 3).

Como se observa en la tabla 3, ninguno de los genes del análisis inverso de expresión génica diferencial tiene un valor de FDR considerado como significativo, todos ellos son superiores a 0.05. Todos los genes que aparecen en esta tabla, que corresponde a los primeros 20 genes con el FDR más bajo, están presentes en todas las muestras. En este caso, la mitad de los genes están reprimidos y la otra mitad sobreexpresados.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
HDHD3	-1,105	0,067	0,647	0,723	0	-4,258	2,07E-05	0,173	1
HERPUD2	1,135	0,068	1,053	0,591	0	4,360	1,30E-05	0,173	1
PRDM2	1,059	0,066	0,090	0,956	0	4,114	3,89E-05	0,173	1
TMEM102	-1,065	0,067	0,854	0,653	0	-4,122	3,76E-05	0,173	1
CDKL3	1,011	0,066	0,469	0,791	0	3,945	7,98E-05	0,210	1
ISG15	-0,995	0,066	1,127	0,569	0	-3,874	1,07E-04	0,239	1
ADPRS	-0,955	0,065	1,383	0,501	0	-3,736	1,87E-04	0,257	1
ARHGEF39	-0,957	0,065	0,517	0,772	0	-3,754	1,74E-04	0,257	1
FAM168B	0,955	0,065	0,323	0,851	0	3,748	1,78E-04	0,257	1
GATD3B	-0,966	0,065	1,384	0,500	0	-3,778	1,58E-04	0,257	1
IFI6	-0,941	0,065	1,079	0,583	0	-3,682	2,31E-04	0,295	1
CELF2	0,914	0,065	0,550	0,760	0	3,599	3,20E-04	0,306	1
LY96	0,917	0,065	1,402	0,496	0	3,602	3,16E-04	0,306	1
RCOR3	0,919	0,065	0,438	0,803	0	3,617	2,98E-04	0,306	1
FOXN3	0,894	0,064	1,169	0,557	0	3,524	4,25E-04	0,324	1
RNPC3	0,897	0,065	0,888	0,642	0	3,532	4,13E-04	0,324	1
TXNIP	0,871	0,064	0,024	0,988	0	3,448	5,64E-04	0,366	1
IFT27	-0,861	0,064	0,146	0,930	0	-3,409	6,51E-04	0,387	1
TIGD5	-0,851	0,064	0,454	0,797	0	-3,368	7,57E-04	0,410	1
BST2	-0,845	0,064	1,628	0,443	0	-3,332	8,61E-04	0,427	1

Tabla 3: Primeros 20 genes con un FDR más bajo para el análisis inverso de expresión diferencial del ELA, y el Parkinson.

Tras realizar un primer análisis de la tabla resumen con los 20 genes con un FDR más bajo, se ha realizado un mapa de calor con los genes que tienen un FDR inferior a 0.43 para evaluar si existen patrones de expresión génica diferencial entre los pacientes con Parkinson y aquellos que tiene ELA. Se ha utilizado este criterio, FDR inferior a 0.43, para incluir el gen EFCAB12 que tiene el mismo FDR que el último gen de la lista de los 20 genes con un FDR más bajo.

Como se observa en el mapa de calor (figura 6), aparecen algunos patrones de expresión diferenciales entre los pacientes con Parkinson (los casos de los estudios 3 y 4) y los pacientes con ELA (el grupo sano del estudio 7). Se observa como los pacientes con Parkinson sobreexpresan los genes que van desde HERPUD2 hasta EFCAB12 y que, de manera general, estos genes están reprimidos o poco expresados en la mayoría de las muestras de pacientes con ELA.

Por otro lado, también se observa un patrón de expresión diferencial en la sobreexpresión o la expresión media de los genes que van desde BST2 hasta HDHD3 en los pacientes con ELA y una represión de los mismo en los pacientes de Parkinson.

Aunque existan estos patrones diferenciales de represión o sobreexpresión génica, en la figura 6 también se observa una elevada heterogeneidad en la expresión génica entre los pacientes con ELA y aquellos que tienen Parkinson.

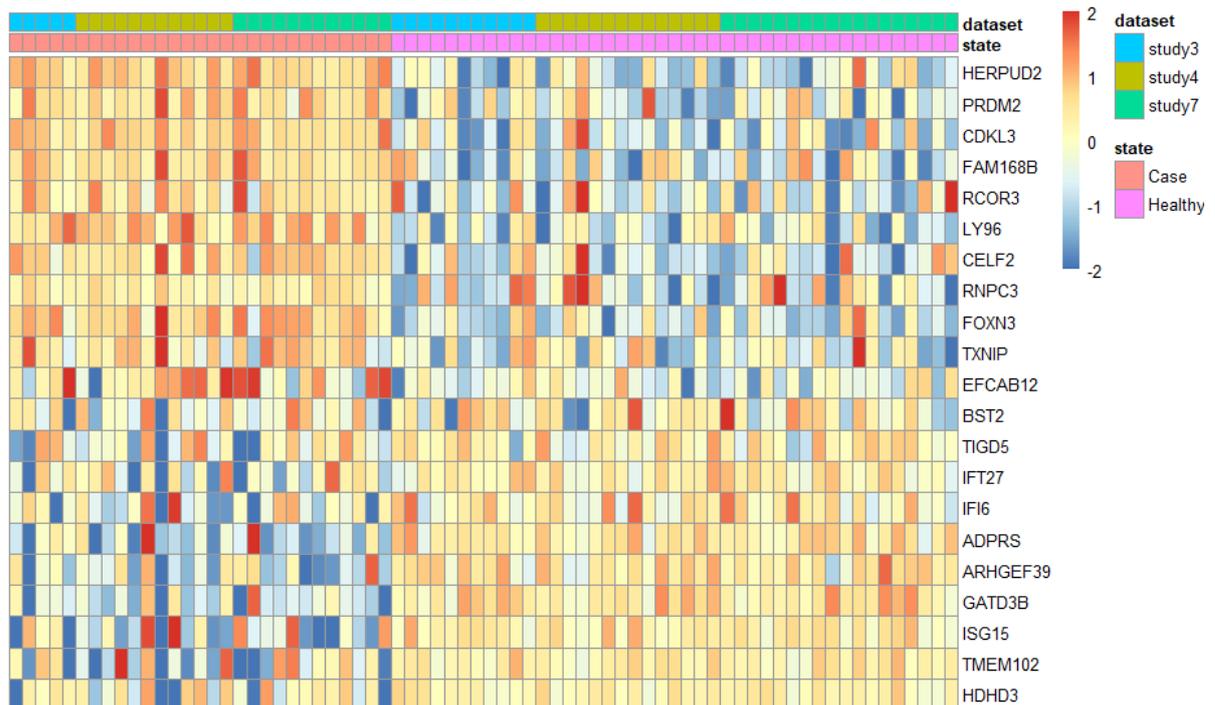


Figura 6: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.43 del análisis inverso de expresión diferencial génico del ELA y el Parkinson. Donde el estudio 3 y 4 corresponden al Parkinson y el estudio 7 corresponde al ELA

4.3.3 Análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica, el Parkinson y el Huntington

Tras realizar el análisis de expresión génica diferencial entre el ELA y el Parkinson, se procede a realizar el análisis de expresión génica diferencial entre el ELA, el Parkinson y el Huntington. Se añade el Huntington al análisis para evaluar si, aunque tengan un número más bajo de genes relevantes, aporta información relevante al análisis. Para este análisis de expresión génica diferencial se han seleccionado aquellos genes que estén presentes en todas las muestras.

De este análisis de expresión génica diferencial se ha obtenido una tabla resumen de los genes y los valores que se les asignan para cada uno de los estadísticos obtenidos. A partir de esta tabla resumen, se ha extraído una tabla con los 20 genes con un FDR más bajo y sus correspondientes estadísticos, mostrados en la tabla 3.

Además, antes de realizar el análisis de los 20 genes con un FDR más bajo, se ha comprobado los genes coincidentes entre los 20 genes con un FDR más bajo del análisis

de expresión génica diferencial del Parkinson y ELA en comparación con el análisis de expresión génica diferencial del Parkinson, ELA y Huntington.

Se han obtenido 6 genes coincidentes entre los que se encuentran BRD8, BTN2A1, NACC2, AKAP10, LPIN2 y S1PR. Por lo tanto, el análisis de expresión génica diferencial del Parkinson, ELA y Huntington nos aporta nueva información sobre otros genes que son considerados como relevantes entre las tres enfermedades y no solamente para el Parkinson y el ELA.

En la tabla 3, se observa que el gen BTN2A1 con un FDR de 0.014 es el único gen considerado como significativo para el análisis de expresión génica diferencial del ELA, Parkinson y Huntington, ya que es el único gen con un FDR inferior a 0.05. El resto de genes de este análisis tienen un FDR inferior a 0.3 y superior a 0.05, por lo que no son considerados como significativos.

Además, cabe destacar que casi la totalidad de los genes de este análisis se encuentran sobre expresados, excepto los genes MXI1, TSPAN13 que se están reprimidos.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
BTN2A1	1,117	0,056	4,977	0,290	0,055	4,72	2,35E-06	0,014	1
RNASEL	0,832	0,041	2,174	0,704	0,000	4,08	4,41E-05	0,132	1
NACC2	0,818	0,041	1,676	0,795	0,000	4,03	5,62E-05	0,144	1
BRD8	0,980	0,066	6,022	0,198	0,111	3,81	1,42E-04	0,154	1
CITED2	0,762	0,041	2,161	0,706	0,000	3,77	1,62E-04	0,154	1
ARHGEF11	0,759	0,041	1,968	0,742	0,000	3,76	1,72E-04	0,155	1
ZNF710	0,779	0,046	4,387	0,356	0,020	3,64	2,71E-04	0,197	1
LPIN2	0,723	0,041	2,980	0,561	0,000	3,58	3,42E-04	0,216	1
MXI1	-0,713	0,041	3,823	0,431	0,000	-3,52	4,27E-04	0,226	1
AKAP10	0,704	0,041	3,384	0,496	0,000	3,49	4,81E-04	0,228	1
FKBP15	0,809	0,055	5,186	0,269	0,063	3,45	5,60E-04	0,231	1
TNFSF14	0,696	0,041	3,382	0,496	0,000	3,45	5,64E-04	0,231	1
TSPAN13	-0,693	0,040	1,117	0,892	0,000	-3,46	5,42E-04	0,231	1
IRF2	0,705	0,042	4,118	0,390	0,006	3,43	6,05E-04	0,236	1
WDR20	0,689	0,040	1,809	0,771	0,000	3,43	5,94E-04	0,236	1
PRR14L	0,684	0,040	3,072	0,546	0,000	3,40	6,81E-04	0,250	1
DUSP6	0,672	0,040	1,345	0,854	0,000	3,36	7,82E-04	0,250	1
GIT2	0,677	0,041	3,464	0,483	0,000	3,36	7,72E-04	0,250	1
S1PR3	0,757	0,051	4,816	0,307	0,043	3,37	7,59E-04	0,250	1
STK35	0,678	0,040	2,364	0,669	0,000	3,37	7,43E-04	0,250	1

Tabla 4: Primeros 20 genes con un FDR más bajo para el análisis de expresión diferencial del ELA, el Parkinson y el Huntington.

Después de haber creado la tabla con los 20 genes con un FDR más bajo y analizar sus resultados, se ha creado un mapa de calor para evaluar si hay patrones de expresión génica diferentes entre el grupo control y los pacientes con Parkinson, ELA y Huntington.

En el mapa de calor correspondiente a la figura 7, se observa un patrón de expresión diferencial de los genes entre los pacientes con Parkinson, ELA y Huntington y el grupo control. Como se ha comentado previamente, hay una tendencia a la sobreexpresión en la mayoría de los genes de los pacientes y una represión o una expresión media en el grupo control. Solo hay dos genes que están reprimidos o poco expresados en los pacientes, que son los genes MXI1 y TSPAN13, y sobreexpresados en el grupo control.

A pesar de observar un patrón de expresión génica diferencial, también se observa una elevada heterogeneidad entre las muestras. Al analizar detenidamente el mapa de calor, se observan grupos de genes en los que la heterogeneidad es más elevada que en otros. Por ejemplo, los genes AKAP10, TNDSF14, WDR20, BRD, DUSP6 y TSPAN13 presentan una elevada heterogeneidad en el grupo control. Mientras que el grupo de genes de CITED2 a LPIN2 y el grupo de IRF2 a DUSP6, apenas presentan heterogeneidad.

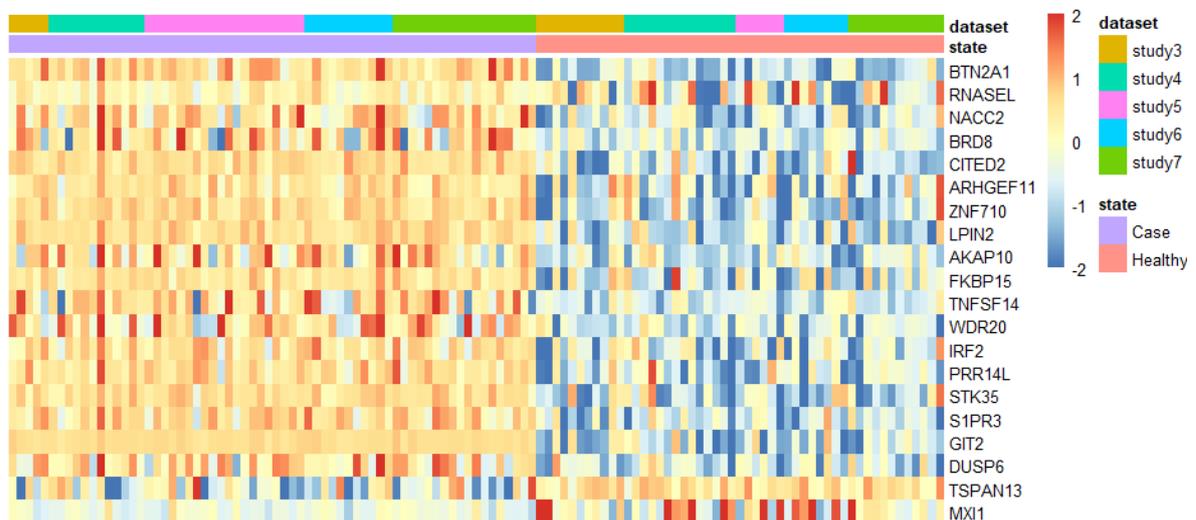


Figura 7: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.25 del análisis de expresión diferencial génica del ELA, el Parkinson y el Huntington. Donde el estudio 3 y 4 corresponden al Parkinson, el estudio 5 y 6 al Huntington y el estudio 7 corresponde al ELA.

4.4 Estudio funcional de los genes a partir de los resultados del análisis de expresión génico diferencial del Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica

Se ha realizado un estudio funcional de los genes a partir de los resultados obtenidos del análisis de expresión génico diferencial del Parkinson y el ELA, para evaluar la significancia biológica de los mismos. Para ello se ha seleccionado una lista con los genes con un FDR inferior a 0.193 y dicha lista se ha introducido en la herramienta *GeneCodis4*, donde se han seleccionado todas las anotaciones funcionales posibles.

De cada una de las anotaciones funcionales se han extraído tres ficheros: una tabla con los genes implicados en cada una de las anotaciones realizadas, un gráfico que representa la relación de los genes con sus anotaciones y, por último, un gráfico de barras con las anotaciones realizadas y el número de genes asociados a dicha anotación.

Se ha realizado una tabla resumen (tabla 4) con las anotaciones relacionadas con las enfermedades neurodegenerativas que son consideradas como pertinentes para el estudio funcional génico del Parkinson y el ELA. En la tabla 4 se muestra que solo 7 de las 12 anotaciones que se han seleccionado para el análisis, han encontrado una relación entre los genes seleccionados y las enfermedades neurodegenerativas.

Como se observa en la tabla 4, hay 7 genes implicados en procesos estrechamente relacionados con el sistema nervioso, entre ellos se encuentran GLE1, CX3CR1, FZD1, ZNF41, S1PR3, ARNT y ADCY7. Estos genes se encontraban sobreexpresados en el análisis de expresión génica diferencial del Parkinson y el ELA. Entre los que destacan ADCY7, S1PR3 y CX3CR1 por la homogeneidad que presentaban en los pacientes de estas enfermedades en el mapa de calor (figura 5). Sin embargo, los genes FZD1, GLE1, ARNT y ZNF41 se caracterizan por una heterogeneidad mayor de su patrón de expresión génica.

Los genes CX3CR1 y FZD1 aparecen en las anotaciones relacionadas con la base de datos GO-BP por sus siglas en inglés Gene Ontology Biological Process. Estos genes aparecen en diversos procesos biológicos relacionados con el sistema nervioso central, la creación, diferenciación y regulación de las neuronas y la apoptosis neuronal. También

aparecen otras anotaciones relacionadas con el sistema nervioso y la degeneración de las neuronas, su desarrollo y plasticidad.

Por otro lado, las anotaciones que corresponde con la base de datos HPO por sus siglas en inglés Human Phenotype Ontology, están relacionadas con el gen GLE1 y ZNF41. Estos genes están relacionados con la escasez de motoneuronas, la pérdida auditiva y con la degeneración neuronal. Concretamente, la escasez de motoneuronas juega un papel fundamental tanto en el Parkinson como en la esclerosis lateral amiotrófica.

Además, el gen S1PR3 de la anotación KEGG, por sus siglas en inglés *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*, y de la anotación Bioplanet está relacionado con la interacción ligando receptor neuroactivo. El gen ADCY7 de la anotación Reactome está relacionada con el sistema nervioso y la señalización neuronal.

Descripción	Anotación	Genes
Neuroprotección mediada por eritropoyetina a través de NF-kB	Bioplanet	ARNT
Interacción ligando-receptor neuroactivo	Bioplanet	S1PR3
Maduración del sistema nervioso central	GO-BP	CX3CR1
Regulación negativa del proceso apoptótico de las neuronas del hipocampo	GO-BP	CX3CR1
Señalización astrocito-neurona dopaminérgica	GO-BP	FZD1
Vía de señalización Wnt implicada en la diferenciación de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo	GO-BP	FZD1
Ruta de polaridad celular planar implicada en el cierre del tubo neural	GO-BP	FZD1
Regulación negativa de la muerte neuronal inducida por estrés oxidativo	GO-BP	FZD1
Regulación positiva de la proliferación de neuroblastos	GO-BP	CX3CR1
Regulación positiva de la neurogénesis	GO-BP	CX3CR1
Regulación de la neurogénesis	GO-BP	CX3CR1

Regulación positiva del desarrollo de la proyección neuronal	GO-BP	FZD1
Diferenciación neuronal	GO-BP	FZD1
Membrana del cuerpo celular neuronal	GO-CC	CX3CR1
Proyección neuronal	GO-CC	CX3CR1
Escasez de motoneuronas del asta anterior	HPO	GLE1
Hipoacusia neurosensorial moderada	HPO	ZNF41
Deficiencia auditiva neurosensorial leve	HPO	ZNF41
Neurodegeneración	HPO	GLE1
Neuropatía axonal periférica	HPO	GLE1
Interacción ligando-receptor neuroactivo	KEGG	S1PR3
Rutas de neurodegeneración - múltiples enfermedades	KEGG	FZD1
Desmontaje del complejo de destrucción y reclutamiento de AXIN a la membrana	Reactome	FZD1
Receptores de neurotransmisores y transmisión postsináptica de señales	Reactome	ADCY7
Sistema nervioso	Reactome	ADCY7
Las fosfodiesterasas en la función neuronal	WikiPathways	ADCY7
El sistema del complemento en el desarrollo y la plasticidad neuronales	WikiPathways	CX3CR1

Tabla 5: resumen de las anotaciones obtenidas en GeneCodis4 para el estudio funcional de los genes realizado con los resultados del análisis de la expresión génica diferencial del Parkinson y el ELA.

5. DISCUSIÓN

Los biomarcadores de expresión sanguíneos podrían suponer un cambio en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Estos biomarcadores permiten evaluar qué genes se están expresando y de qué manera, lo que podría facilitar el diagnóstico temprano de las enfermedades neurodegenerativas, incluso antes de la aparición de los síntomas. Gracias al carácter no invasivo de las muestras de sangre, se podría realizar un testeo de la población en edad de riesgo más sencillo y menos costoso.

Facilitando así, el diagnóstico temprano y el seguimiento de la progresión de estas enfermedades (Huseby et al., 2022).

Es por ello, que se ha analizado los ARN mensajeros de muestras de sangre de pacientes sanos y enfermos para el Parkinson, Huntington, Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). De estos análisis, se han extraído patrones o tendencias de expresión génica entre algunas de las enfermedades neurodegenerativas, sobre todo entre el Parkinson y el ELA. A pesar de que surgen patrones diferenciales de expresión génica entre los pacientes y el grupo control, también se observa heterogeneidad entre las muestras. Aparecen genes cuya expresión es diferente al patrón observado en las muestras que corresponden a un mismo grupo (ya sea el grupo control o el grupo que presenta la enfermedad).

Al examinar detenidamente el análisis del ELA y el Parkinson, aparecen 5 genes estrechamente relacionados con el sistema nervioso central, su estructura y funcionamiento. El gen CX3CR1 parece tener un papel fundamental en las enfermedades neurodegenerativas debido a su papel en la respuesta inflamatoria en dichas enfermedades. Además, este gen parece ser clave en la comunicación intercelular de la microglía y las neuronas motoras, siendo relevante en la progresión de las enfermedades neurodegenerativas. Aunque el papel del gen CX3CR1 es relevante en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas, aún no está clara su implicación en la aparición y desarrollo de estas enfermedades (Pawelec et al., 2020).

También se ha demostrado que los genes ADCY están estrechamente relacionados con el sistema nervioso central y la aparición de enfermedades neurodegenerativas. Aunque la expresión del gen ADCY7 parece estar más bien relacionada con problemas de comportamiento, existen otros genes pertenecientes al grupo de ADCY que están vinculados con las enfermedades neurodegenerativas. Por ejemplo, los genes ADCY1, ADCY3, ADCY5, ADCY8, ADCY9 y ADCY10 están relacionados con la pérdida de memoria y el gen ADCY-5 puede provocar una pérdida de la función motora. La pérdida de estas funciones está claramente relacionadas con las enfermedades neurodegenerativas y más concretamente con el Parkinson y el ELA (Devasani & Yao, 2022).

Por último, destacar la influencia del gen GLE1 en las enfermedades neurodegenerativas que afectan al sistema motor. Concretamente, se ha demostrado que variaciones en la expresión de este gen están estrechamente relacionadas con la aparición de la esclerosis lateral amiotrófica. Aunque existe una relación entre la desregulación del gen GLE1 y el funcionamiento de las neuronas motoras, todavía no está definida su implicación en la aparición y progresión de las enfermedades neurodegenerativas (Kaneb et al., 2015).

El uso de datos públicos obtenidos del repositorio público GEO ha dificultado la obtención de genes considerados como significativos o relevantes en los diferentes análisis de expresión génica diferencial realizados. La escasez de conjuntos de datos que cumplieran los criterios establecidos ha impedido que los análisis de expresión génica diferencial tuvieran una mayor significancia. A esto se suma la elevada heterogeneidad de los conjuntos de datos debido al uso de diferentes plataformas y modelos de secuenciación. Además, como los conjuntos de datos provienen de diferentes laboratorios, aumenta la variabilidad del manejo de las muestras y se evalúan poblaciones diferentes, lo que aumenta aún más la heterogeneidad de los conjuntos de datos evaluados.

Para investigaciones posteriores, siempre y cuando existan una mayor cantidad de datos públicos, se recomienda el uso de conjuntos de datos que pertenezcan a una misma población, para evitar así la influencia de la variabilidad genética. Además, se recomienda la selección de conjuntos de datos que provengan de la misma plataforma de secuenciación. Así como, realizar estudios longitudinales en la población para evaluar cómo varía la expresión génica a lo largo de los años tanto en pacientes como en el grupo control.

6. CONCLUSIONES

En el presente trabajo, se ha evaluado la expresión génica diferencial de pacientes que presentan enfermedades neurodegenerativas y su grupo control. Estos análisis de expresión génica diferencial han demostrado la posibilidad de integrar transcriptomas procedentes de muestras de sangre de diferentes enfermedades neurodegenerativas para obtener patrones de expresión génica que nos permitan diferenciar a los pacientes del grupo control.

Concretamente, en el análisis de expresión génica diferencial del Parkinson y el ELA aparecen genes que son considerados como significativos o relevantes y que está implicados en la aparición o desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas. Se ha comprobado que genes procedentes de este análisis del transcriptoma participan en rutas moleculares relacionadas con el funcionamiento del sistema nervioso y que la desregulación de los mismos está estrechamente relacionada con las enfermedades neurodegenerativas.

Por otro lado, también se han detectado patrones de expresión génica diferencial entre el Parkinson y el ELA, es decir, genes que se encuentran sobreexpresados en el Parkinson y reprimidos en el ELA y viceversa. Por lo tanto, el análisis del transcriptoma puede ser útil para el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas y para la distinción entre ellas.

El uso de patrones de expresión génica podría resultar clave para un diagnóstico temprano y preciso de enfermedades neurodegenerativas. Así mismo, el uso de métodos no invasivos (muestras de sangre) para la obtención del ARN mensajero utilizado en los análisis, puede permitir un seguimiento más preciso de este tipo de enfermedades.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Becker, R. A, Chambers, J. M., & Wilks, A. R. (1988). *The New S Language*. Wadsworth & Brooks/Cole. (For log, log10 and exp.) [Software].
- Devasani, K., & Yao, Y. (2022). Expression and functions of adenylyl cyclases in the CNS. *Fluids and Barriers of the CNS*, 19(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12987-022-00322-2>
- Doroszkiwicz, J., Groblewska, M., & Mroczko, B. (2022). Molecular Biomarkers and Their Implications for the Early Diagnosis of Selected Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4610. <https://doi.org/10.3390/ijms23094610>
- Erkkinen, M. G., Kim, M.-O., & Geschwind, M. D. (2018). Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(4), a033118. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033118>
- Garcia-Moreno, A., López-Domínguez, R., Villatoro-García, J. A., Ramirez-Mena, A., Aparicio-Puerta, E., Hackenberg, M., Pascual-Montano, A., & Carmona-Saez, P. (2022). Functional

- Enrichment Analysis of Regulatory Elements. *Biomedicines*, 10(3), 590. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030590>
- Gentleman R, Carey V, Huber W, Hahne F. (2023). *Genefilter: Methods for filtering genes from high-throughput experiments. R package version 1.82.1.* [Software].
- Hansson, O. (2021). Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Nature Medicine*, 27(6), 954-963. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01382-x>
- Huseby, C. J., Delvaux, E., Brokaw, D. L., & Coleman, P. D. (2022). Blood Transcript Biomarkers Selected by Machine Learning Algorithm Classify Neurodegenerative Diseases including Alzheimer's Disease. *Biomolecules*, 12(11), 1592. <https://doi.org/10.3390/biom12111592>
- Jeromin, A., & Bowser, R. (2017). Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. En P. Beart, M. Robinson, M. Rattray, & N. J. Maragakis (Eds.), *Neurodegenerative Diseases* (Vol. 15, pp. 491-528). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57193-5_20
- Kaneb, H. M., Folkmann, A. W., Belzil, V. V., Jao, L.-E., Leblond, C. S., Girard, S. L., Daoud, H., Noreau, A., Rochefort, D., Hince, P., Szuto, A., Levert, A., Vidal, S., André-Guimont, C., Camu, W., Bouchard, J.-P., Dupré, N., Rouleau, G. A., Wentz, S. R., & Dion, P. A. (2015). Deleterious mutations in the essential mRNA metabolism factor, hGle1, in amyotrophic lateral sclerosis. *Human Molecular Genetics*, 24(5), 1363-1373. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu545>
- Lin, C.-H., Chiu, S.-I., Chen, T.-F., Jang, J.-S. R., & Chiu, M.-J. (2020). Classifications of Neurodegenerative Disorders Using a Multiplex Blood Biomarkers-Based Machine Learning Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6914. <https://doi.org/10.3390/ijms21186914>
- Martorell Marugán, Jordi. (2021). *Computational and statistical methods for integrated analysis of biomedical data.* Universidad de Granada.
- Moreno-García, L., López-Royo, T., Calvo, A. C., Toivonen, J. M., De La Torre, M., Moreno-Martínez, L., Molina, N., Aparicio, P., Zaragoza, P., Manzano, R., & Osta, R. (2020). Competing Endogenous RNA Networks as Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 9582. <https://doi.org/10.3390/ijms21249582>
- Parnetti, L., Gaetani, L., Eusebi, P., Paciotti, S., Hansson, O., El-Agnaf, O., Mollenhauer, B., Blennow, K., & Calabresi, P. (2019). CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*, 18(6), 573-586. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30024-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30024-9)
- Pawelec, P., Ziemka-Nalecz, M., Sypecka, J., & Zalewska, T. (2020). The Impact of the CX3CL1/CX3CR1 Axis in Neurological Disorders. *Cells*, 9(10), 2277. <https://doi.org/10.3390/cells9102277>

- Stephenson, J., Nutma, E., Van Der Valk, P., & Amor, S. (2018). Inflammation in CNS neurodegenerative diseases. *Immunology*, *154*(2), 204-219. <https://doi.org/10.1111/imm.12922>
- Tarazona, S., García-Alcalde, F., Dopazo, J., Ferrer, A., & Conesa, A. (2011). Differential expression in RNA-seq: A matter of depth. *Genome Research*, *21*(12), 2213-2223. <https://doi.org/10.1101/gr.124321.111>
- Toro-Domínguez, D., Villatoro-García, J. A., Martorell-Marugán, J., Román-Montoya, Y., Alarcón-Riquelme, M. E., & Carmona-Sáez, P. (2021). A survey of gene expression meta-analysis: Methods and applications. *Briefings in Bioinformatics*, *22*(2), 1694-1705. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa019>
- Villatoro-García, J. A., Martorell-Marugán, J., Toro-Domínguez, D., Román-Montoya, Y., Femia, P., & Carmona-Sáez, P. (2022). DExMA: An R Package for Performing Gene Expression Meta-Analysis with Missing Genes. *Mathematics*, *10*(18), 3376. <https://doi.org/10.3390/math10183376>
- Weng, Y.-T., Chang, Y.-M., & Chern, Y. (2023). The Impact of Dysregulated microRNA Biogenesis Machinery and microRNA Sorting on Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3443. <https://doi.org/10.3390/ijms24043443>

8. ANEXOS

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
FCGR2C	0,839	0,046	7,404	0,388	0,021	3,892	9,93E-05	0,177	0,75
TIRAP	0,618	0,025	3,981	0,782	0,000	3,936	8,30E-05	0,177	0,875
CITED2	0,598	0,026	4,689	0,698	0,000	3,718	2,01E-04	0,216	0,875
TSPAN13	-0,572	0,025	6,146	0,523	0,000	-3,640	2,73E-04	0,239	0,875
MXI1	-0,558	0,024	5,479	0,602	0,000	-3,614	3,02E-04	0,252	1
CCDC141	-0,812	0,052	8,830	0,265	0,082	-3,550	3,86E-04	0,253	0,75
FLNB	-0,578	0,028	7,813	0,349	0,024	-3,458	5,45E-04	0,258	1
ICOSLG	-0,731	0,043	8,169	0,318	0,049	-3,518	4,36E-04	0,258	0,875
MGME1	0,542	0,025	5,751	0,569	0,000	3,456	5,47E-04	0,258	0,875
ZKSCAN2	-0,548	0,025	4,552	0,714	0,000	-3,496	4,72E-04	0,258	0,875
TRPM2	0,527	0,024	1,975	0,961	0,000	3,436	5,91E-04	0,271	1
ACCS	-0,530	0,025	7,152	0,413	0,005	-3,324	8,88E-04	0,351	0,875
GOLPH3L	0,625	0,036	2,618	0,918	0,000	3,315	9,18E-04	0,351	0,75
GSPT1	-0,510	0,024	4,247	0,751	0,000	-3,320	9,01E-04	0,351	1
CALML4	0,501	0,023	2,109	0,954	0,000	3,275	1,06E-03	0,356	1
NACC2	0,543	0,028	7,784	0,352	0,023	3,263	1,10E-03	0,356	1
SKAP2	0,502	0,024	6,213	0,515	0,000	3,258	1,12E-03	0,356	1
PHF10	-0,496	0,024	4,225	0,753	0,000	-3,227	1,25E-03	0,359	1
SLC46A2	0,527	0,026	7,301	0,398	0,009	3,247	1,17E-03	0,359	0,875
IQCG	0,590	0,034	7,753	0,355	0,027	3,221	1,28E-03	0,361	0,75

Tabla suplementaria 1: Primeros 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión génica diferencial de todas las enfermedades.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
BRD8	1,83	0,16	0,05	0,82	0,00	4,55	5,32E-06	0,03	1
GIMAP8	1,91	0,17	0,00	0,97	0,00	4,70	2,58E-06	0,03	1
GMCL1	-1,86	0,16	0,80	0,37	0,00	-4,60	4,24E-06	0,03	1
PDE12	-1,70	0,16	0,06	0,80	0,00	-4,31	1,62E-05	0,05	1
TMEM214	1,73	0,16	0,12	0,73	0,00	4,37	1,24E-05	0,05	1
ZNF8	-1,69	0,16	0,23	0,63	0,00	-4,28	1,88E-05	0,05	1
CDK17	-1,55	0,15	0,18	0,67	0,00	-4,03	5,69E-05	0,08	1
DBF4	-1,49	0,15	0,49	0,48	0,00	-3,89	9,95E-05	0,08	1
KAT7	-1,56	0,15	0,09	0,77	0,00	-4,05	5,04E-05	0,08	1
LOC105378723	-1,52	0,15	0,20	0,66	0,00	-3,95	7,88E-05	0,08	1
NMT1	1,50	0,15	0,00	0,95	0,00	3,91	9,11E-05	0,08	1
RNF103	-1,53	0,15	0,11	0,74	0,00	-3,99	6,70E-05	0,08	1
SKP1	-1,55	0,15	0,17	0,68	0,00	-4,01	6,20E-05	0,08	1
DHPS	1,46	0,15	0,73	0,39	0,00	3,82	1,35E-04	0,09	1
MATR3	-1,45	0,14	0,23	0,63	0,00	-3,82	1,33E-04	0,09	1
CDKN1B	-1,44	0,14	0,49	0,48	0,00	-3,78	1,56E-04	0,09	1
HAUS3	-1,42	0,14	0,02	0,89	0,00	-3,76	1,71E-04	0,10	1
GALNT6	1,42	0,14	0,89	0,34	0,00	3,75	1,79E-04	0,10	1
OSER1	-1,40	0,14	0,19	0,66	0,00	-3,70	2,15E-04	0,10	1
POLH	1,40	0,14	0,35	0,56	0,00	3,71	2,05E-04	0,10	1

Tabla suplementaria 2: Primeros 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión génica diferencial de la esclerosis lateral amiotrófica.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
ADPRS	-1,22	0,12	0,05	0,82	0,00	-3,54	3,93E-04	0,38	1
AGRN	-1,32	0,12	0,07	0,79	0,00	-3,78	1,56E-04	0,38	1
ARFRP1	-1,04	0,11	0,67	0,41	0,00	-3,07	2,15E-03	0,38	1
ATAD3B	-1,29	0,12	0,53	0,47	0,00	-3,70	2,14E-04	0,38	1
ATXN1	1,10	0,13	1,07	0,30	0,02	3,09	1,99E-03	0,38	1
BCL6	1,05	0,11	0,38	0,54	0,00	3,11	1,85E-03	0,38	1
BRD8	1,05	0,11	0,17	0,68	0,00	3,09	1,97E-03	0,38	1
BRPF3	1,19	0,12	0,52	0,47	0,00	3,46	5,45E-04	0,38	1
CDC42EP3	1,18	0,12	0,04	0,83	0,00	3,44	5,78E-04	0,38	1
CDKL3	1,13	0,12	0,18	0,67	0,00	3,32	9,04E-04	0,38	1
CELF2	1,08	0,11	0,00	0,95	0,00	3,19	1,45E-03	0,38	1
CITED2	1,07	0,12	0,87	0,35	0,00	3,14	1,68E-03	0,38	1
CWF19L1	-1,03	0,11	0,44	0,51	0,00	-3,05	2,32E-03	0,38	1
E2F3	1,16	0,12	0,93	0,33	0,00	3,39	7,11E-04	0,38	1
EIF1	-1,09	0,12	0,36	0,55	0,00	-3,21	1,34E-03	0,38	1
EVI2B	1,07	0,11	0,10	0,76	0,00	3,16	1,59E-03	0,38	1
FAM120A	1,12	0,12	0,26	0,61	0,00	3,30	9,68E-04	0,38	1

FCHSD2	1,06	0,12	0,66	0,42	0,00	3,12	1,82E-03	0,38	1
FLI1	1,14	0,12	0,19	0,67	0,00	3,33	8,72E-04	0,38	1
GATD3A	-1,09	0,12	0,97	0,32	0,00	-3,20	1,35E-03	0,38	1

Tabla suplementaria 3: Primeros 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión génica diferencial del Parkinson.

Genes	Com.ES	ES.var	Qval	Qpval	tau2	Zval	Pval	FDR	propDataset
TESMIN	1,66	0,14	0,04	0,85	0,00	4,45	8,74E-06	0,13	1
SLC2A9	1,41	0,13	0,02	0,90	0,00	3,89	1,02E-04	0,25	1
CKAP4	1,38	0,13	0,46	0,50	0,00	3,81	1,38E-04	0,29	1
ZNRF1	1,35	0,13	0,04	0,83	0,00	3,77	1,62E-04	0,30	1
PAWR	-1,26	0,13	0,26	0,61	0,00	-3,56	3,69E-04	0,54	1
ABCG1	1,25	0,13	0,54	0,46	0,00	3,52	4,37E-04	0,57	1
ARHGAP32	-1,23	0,13	0,78	0,38	0,00	-3,44	5,78E-04	0,57	1
TRPC4AP	1,25	0,13	0,73	0,39	0,00	3,50	4,71E-04	0,57	1
ZNF709	-1,22	0,13	0,07	0,79	0,00	-3,44	5,81E-04	0,57	1
GUCY1A1	-1,17	0,12	0,08	0,77	0,00	-3,33	8,63E-04	0,69	1
AASDHPPT	-0,59	0,11	0,07	0,79	0,00	-1,76	7,89E-02	0,82	1
ABCA7	0,65	0,11	0,03	0,85	0,00	1,93	5,36E-02	0,82	1
ABCC6	0,84	0,12	0,18	0,67	0,00	2,45	1,41E-02	0,82	1
ABCD1	0,83	0,12	0,49	0,48	0,00	2,43	1,53E-02	0,82	1
ABCE1	-0,81	0,12	0,22	0,64	0,00	-2,38	1,74E-02	0,82	1
ACCS	-1,07	0,12	0,14	0,70	0,00	-3,08	2,08E-03	0,82	1
ACOX1	0,65	0,11	0,21	0,65	0,00	1,92	5,47E-02	0,82	1
ADAM19	0,74	0,11	0,12	0,73	0,00	2,18	2,95E-02	0,82	1
ADCY9	-0,67	0,11	0,02	0,88	0,00	-1,99	4,70E-02	0,82	1
ADD2	-0,84	0,12	0,16	0,69	0,00	-2,45	1,44E-02	0,82	1

Tabla suplementaria 4: Primeros 20 genes con un FDR más bajo del análisis de expresión génica diferencial del Huntington.

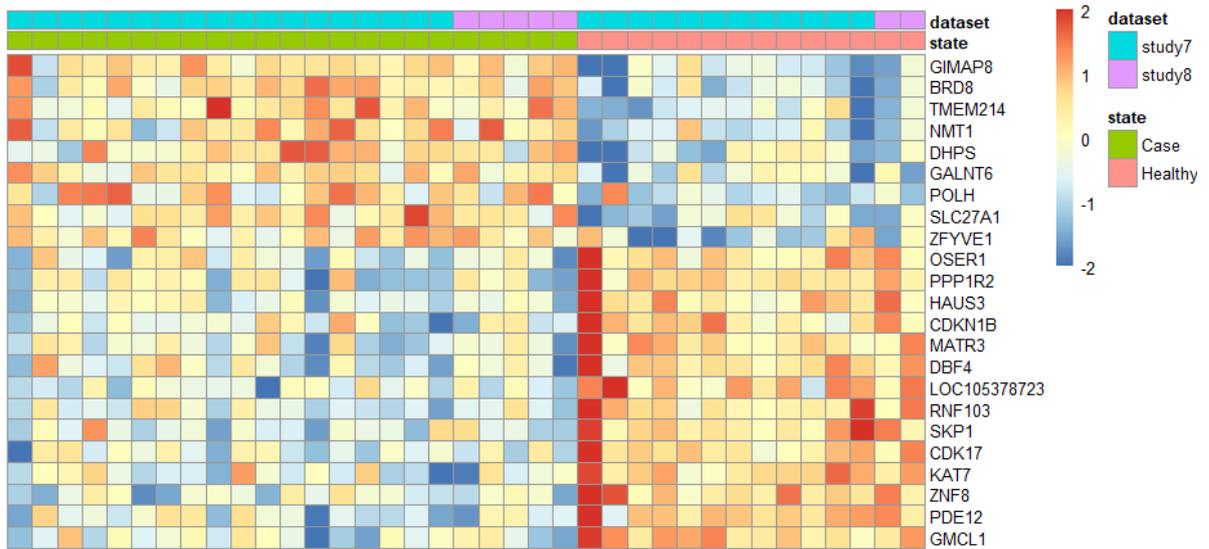


Figura suplementaria 1: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.101 del análisis de expresión diferencial génico de la esclerosis lateral amiotrófica.

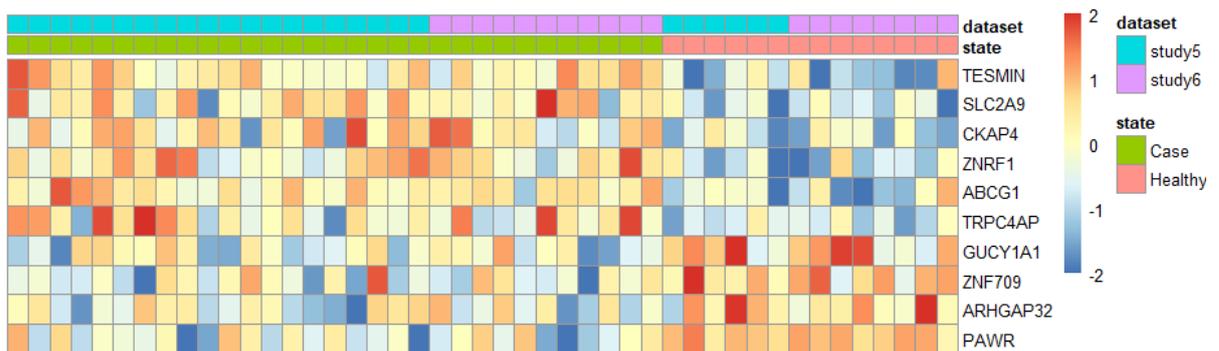


Figura suplementaria 2: Mapa de calor de los genes con un FDR inferior a 0.7 del análisis de expresión diferencial génico del Huntington.