

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ETSIAMN

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA



CARACTERIZACIÓN DE LAS DIFERENCIAS DE SEXO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER DESDE UNA PERSPECTIVA ÓMICA

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA BIOMÉDICA

ALUMNA: MIRIAM FERREIRO PANTÍN

TUTOR EXTERNO: FRANCISCO GARCÍA GARCÍA

TUTOR ACADÉMICO: JAVIER FORMENT MILLET

Curso académico 2019-2020

VALENCIA, JUNIO DE 2020

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo de demencia más común en el mundo. Al igual que otros grupos de enfermedades, como las enfermedades autoinmunes o algunos tipos de cáncer, la EA presenta diferencias epidemiológicas entre hombres y mujeres, con una mayor incidencia en las mujeres. Comprender los mecanismos y factores diferenciales que influyen en ello, podría ayudar a mejorar el diagnóstico y/o el pronóstico de los pacientes.

Por este motivo, se ha realizado una revisión sistemática, en los diferentes repositorios públicos, y una selección final de 9 estudios transcriptómicos de la EA con los que se realizó un metaanálisis con la herramienta web *Metafun*. Los resultados obtenidos indican la existencia de un aumento del tráfico vesicular y un incremento de los procesos relacionados con la activación del reciclaje de proteínas en los hombres, procesos esenciales para evitar la progresión de la enfermedad.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer; sexo; transcriptómica; metaanálisis.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common type of dementia in the world. Like other groups of diseases, such as autoimmune diseases or some types of cancer, AD has epidemiological differences between men and women, with a higher incidence in women. Understanding the mechanisms and differential factors that influence this may help to improve the diagnosis and/or prognosis of patients.

For this reason, a systematic review has been carried out, in the different public repositories, and a final selection of 9 transcriptomic studies of AD with which a meta-analysis was carried out with the *Metafun* web tool. The results obtained indicate the existence of an increase in vesicular traffic and an increase in the processes related to the activation of protein recycling in men, essential processes for preventing the progression of the disease.

Keywords: Alzheimer's Disease; sex; transcriptomic; metaanalysis.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Enfermedad de Alzheimer	1
1.1.1. Diagnóstico	3
1.1.2. Bases moleculares.....	4
1.1.3. Neuroinflamación.....	6
1.1.4. Genética de la enfermedad.....	8
1.1.5. Factores de riesgo	8
1.2. Datos ómicos y tecnologías de alto rendimiento	9
1.2.1. Transcriptómica	11
1.2.2. Estrategias de análisis transcriptómicos.....	11
1.2.3. Caracterización funcional	12
1.2.4. Metaanálisis	13
2. Hipótesis	15
3. Objetivos	16
4. Material y métodos	17
4.1. Revisión sistemática y selección de estudios	17
4.2. Procesamiento de los datos	18
4.3. MetaFun: análisis individual de los estudios y metaanálisis	19
4.3.1. Análisis exploratorio	19
4.3.2. Análisis de expresión diferencial	20
4.3.3. Análisis de enriquecimiento funcional.....	21
4.3.5. Metaanálisis funcional	21
5. Resultados	24
5.1. Revisión sistemática y selección de estudios	24
5.3. MetaFun: análisis individual de los estudios y metaanálisis	25
5.3.1. Análisis exploratorio y procesamiento de los datos.....	25
5.3.2. Análisis de expresión diferencial	32
5.3.3. Análisis de enriquecimiento funcional.....	32
5.3.4. Metaanálisis funcional	33
6. Discusión.....	37
7. Conclusiones	37
Bibliografía	42
A. ANEXO I – Figuras	I
B. ANEXO II – Tablas.....	XIII

Índice de figuras

Figura 1. Riesgo estimado de padecer Alzheimer según el sexo y la edad.....	2
Figura 2. Fases del continuo existente entre la demencia y la EA.	3
Figura 3. Neuroinflamación durante el desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer	7
Figura 4. Dogma central de la biología molecular ampliado.	10
Figura 5. Flujo de información a través de las diferentes fases de una revisión sistemática.	18
Figura 6. Ejemplo de un gráfico de embudo para el término GO:0008021.	23
Figura 7. Ejemplo de un gráfico de bosque para el término GO:0008021	23
Figura 8. Diagrama de flujo de la revisión sistemática siguiendo la declaración PRISMA...	24
Figura 9. Número de pacientes en cada estudio.	31
Figura A. 1. Diagrama de cajas de las muestras del estudio GSE5281.....	I
Figura A. 2. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE5281 mediante distancia de correlación.....	II
Figura A.3. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE5281.....	II
Figura A.4. Diagrama de cajas de las muestras del estudio GSE28146.....	III
Figura A.5. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE28146 mediante distancia de correlación.....	IV
Figura A.6. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE28146... ..	IV
Figura A.7. Diagrama de cajas de las muestras del estudio GSE29378.	V
Figura A.8. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE29378 mediante distancia de correlación.....	VI
Figura A.9. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE29378... ..	VI
Figura A.10. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE36980 mediante distancia de correlación.....	VII

Figura A.11. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE36980..	VII
Figura A.12. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE39420 mediante distancia de correlación.....	VIII
Figura A.13. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE39420.	VIII
Figura A.14. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE48350 mediante distancia de correlación.....	IX
Figura A.15. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE48350..	IX
Figura A.16. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE84422 mediante distancia de correlación.....	X
Figura A.17. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE84422..	X
Figura A.18. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE118553 mediante distancia de correlación.....	XI
Figura A.19. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE118553..	XI
Figura A.20. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE132903 mediante distancia de correlación.....	XII
Figura A.21. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE132903..	XII

Índice de tablas

Tabla 1. Resumen de las diferentes hipótesis etiológicas que existen para el AD.	9
Tabla 2. Descripción de estudios seleccionados..	25
Tabla 3. Individuos incluidos en el estudio GSE1297.....	26
Tabla 4. Individuos incluidos en el estudio GSE5281.....	26
Tabla 5. Individuos incluidos en el estudio GSE28146.....	27
Tabla 6. Individuos incluidos en el estudio GSE29378.....	27
Tabla 7. Individuos incluidos en el estudio GSE36980.....	28
Tabla 8. Individuos incluidos en el estudio GSE37263.....	28
Tabla 9. Individuos incluidos en el estudio GSE39420.....	29
Tabla 10. Individuos incluidos en el estudio GSE39420.....	29
Tabla 11. Individuos incluidos en el estudio GSE84422.....	30
Tabla 12. Individuos incluidos en el estudio GSE93885.....	30
Tabla 13. Individuos incluidos en el estudio GSE118553.....	30
Tabla 14. Individuos incluidos en el estudio GSE132903.....	31
Tabla 15. Resumen del resultado del análisis de expresión diferencial.....	32
Tabla 16. Resumen del resultado del análisis de enriquecimiento funcional..	33
Tabla 17. Resumen de los PB, FM y CC significativos en el metaanálisis..	33
Tabla 18. Selección de términos GO PB significativos en el metaanálisis.	34
Tabla 19. Selección de términos GO FM significativos en el metaanálisis.....	35
Tabla 20. Selección de términos GO CC significativos en el metaanálisis..	36
Tabla B.1. Términos GO PB significativos en el metaanálisis.....	XIII
Tabla B.2. Términos GO FM significativos en el metaanálisis.....	XV
Tabla B.3. Términos GO CC significativos en el metaanálisis..	XVII

Acrónimos

AA	<i>Alzheimer's Association.</i>
ADN	ácido desoxirribonucleico.
APOE	apolipoproteína E.
APP	<i>amyloid precursor protein.</i>
ARN	ácido ribonucleico.
BH	Benjamini y Hochberg.
CC	componente celular.
DCL	deterioro cognitivo leve.
DSM-5	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition.</i>
EA	enfermedad de Alzheimer.
EAIP	enfermedad de Alzheimer de inicio precoz.
EAIT	enfermedad de Alzheimer de inicio tardío.
FAIR	<i>Findable, Accesible, Interoperable, Reusable.</i>
FM	función molecular.
GEO	<i>Gene Expression Omnibus.</i>
GO	<i>Gene Ontology.</i>
GSEA	<i>Gene Set Enrichment Analysis.</i>
IL	interleucina.
IRM	imagen por resonancia magnética.
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.</i>
LCR	líquido cerebroespinal.
logFC	logaritmo de la magnitud del cambio.
LOR	logaritmo del <i>odds ratio</i> .

MHC I/II	<i>Mayor Histocompatibility Complex I/II.</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information.</i>
NFT	<i>neurofibrillary tangles.</i>
NIA	<i>National Institute of Aging.</i>
NMDA	ácido N-metil-D-aspartico.
PB	proceso biológico.
PCA	<i>principal component analysis.</i>
PET	<i>Positron Emission Tomography.</i>
PSEN1	presenilina 1.
PSEN2	presenilina 2.
RNA-seq	secuenciación de ARN.
SNC	sistema nervioso central.
TNF-α	<i>tumor necrosis factor alpha.</i>
TREM2	<i>triggering receptor expressed on myeloid cells 2.</i>
USD	<i>United States Dollars.</i>

1. Introducción

La demencia es una enfermedad crónica que conlleva una disminución anormal en dos o más dominios de la función cognitiva y emocional de un individuo incluyendo, normalmente, la memoria y la capacidad para desarrollar tareas del día a día (Gouras, 2014). Se trata de un desorden progresivo e incurable, cuya prevalencia se incrementa con la edad a pesar de no ser un proceso que forma parte del envejecimiento normal (Guerchet & Prince, 2018). Existen 7 causas principales de demencia identificadas hasta ahora: enfermedad de Alzheimer, enfermedad cerebrovascular, enfermedad de los cuerpos de Lewy, degeneración del lóbulo frontotemporal, enfermedad de Parkinson, esclerosis hipocampal y patologías mixtas (Alzheimer's Association, 2020).

1.1. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo más común de demencia, suponiendo entre el 60% y el 80% de los casos (Alzheimer's Association, 2020). Se trata de una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por un déficit cognitivo progresivo que se traduce en una pérdida de memoria, así como en una disminución de la fluidez semántica y de la función viso espacial. Además, produce cambios en el comportamiento y su progresión conlleva a la muerte del enfermo (Gouras, 2014). Se estima que la padecen más de 50 millones de personas en todo el mundo y, debido al crecimiento de la población mundial y al aumento en la esperanza de vida, se espera que la prevalencia de la EA vaya en aumento en los próximos años hasta llegar a 152 millones de personas en 2050 (Alzheimer's Disease International, 2019). Esto, a parte del problema de salud pública que supone, conlleva unos costes económicos, asociados al cuidado y tratamiento de los pacientes, de 1 trillón de dólares (USD) anuales, los cuales se incrementarán conforme aumente la prevalencia del Alzheimer, pudiendo verse duplicados en 2030 (Alzheimer's Disease International, 2019). Por ello, la investigación sobre los mecanismos biológicos que provocan la EA, la prevención y el tratamiento de los pacientes se han convertido en uno de los mayores retos de la humanidad a escala global.

La EA afecta tanto a hombres como a mujeres, sin embargo, estas presentan un mayor riesgo de padecerla (Figura 1) (Gao, Hendrie, Hall, & Hui, 1998). Esto podría ser explicado por una asimetría sexual en diferentes factores de riesgo de la EA. Las mujeres tienden a tener una

mayor esperanza de vida (Hebert, Scherr, McCann, Beckett, & Evans, 2001); presentan dos veces más riesgo de padecer depresión (S. Kim et al., 2015); y, tras una menopausia temprana pueden producirse alteraciones hormonales que desemboquen en un mayor riesgo de demencia (Rocca, Grossardt, & Shuster, 2011). Todo ello podría contribuir a que las mujeres sean más propensas a padecer la EA que los hombres.

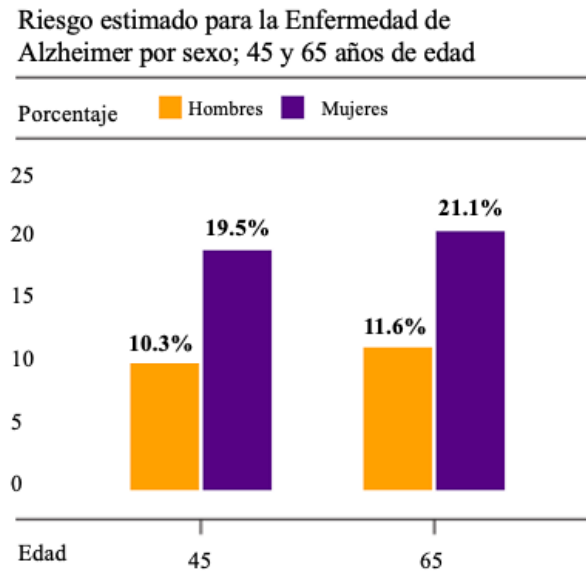


Figura 1. Riesgo estimado de padecer Alzheimer según el sexo y la edad. Se puede observar como se va incrementado en mujeres y a medida que aumenta la edad. [Adaptado a partir de Alzheimer's Association (2020)].

Pero, las diferencias entre sexos en la EA no radican únicamente en la prevalencia. Recientes estudios muestran que existen diferencias conductuales durante el transcurso de la enfermedad (J. Lee, Lee, & Kim, 2017) y un mayor progreso del deterioro cognitivo en mujeres una vez diagnosticada la EA (Agüero-Torres, Fratiglioni, Guo, Viitanen, & Winblad, 1998; Tschanz et al., 2011). Esto podría indicar que existen diferencias en el patrón de neurodegeneración producido por la EA o en la respuesta a este en función del sexo. Esta idea también es apoyada por otros trabajos realizados con neuroimagen (Malpetti et al., 2017) y con muestras de cerebro post-mortem (Filon et al., 2016).

Sin embargo, no existen muchos trabajos que se centren en los mecanismos subyacentes a estas diferencias, pese a que pueden provocar diferentes respuestas a los tratamientos de Alzheimer (Scacchi, Gambina, Broggio, & Corbo, 2014). Una mayor comprensión de las diferencias existentes en el desarrollo de la EA según el sexo es necesaria para poder desarrollar nuevos tratamientos con dianas más específicas e individualizadas. Además, podría conllevar en el

descubrimiento de nuevos biomarcadores específicos para cada sexo que ayudarán a diagnosticar con una mayor antelación la EA. Esto supondría una mejora en la calidad de vida de los enfermos y una mejor gestión de los recursos económicos y humanos asociados a la prevención, el cuidado y el tratamiento de los pacientes.

Al tratarse de una enfermedad progresiva, el avance de los eventos patológicos a nivel cognitivo y físico, desde la demencia hasta que aparece la EA, se puede representar como un proceso continuo (Alzheimer's Association, 2020) que incluye 3 fases principales: EA preclínica, deterioro cognitivo leve (DCL) debido a la EA y demencia debida a la EA (Figura 2). A pesar de que se sabe el orden en el que se suceden estas fases, la duración es algo que depende del individuo y de factores como la edad, sexo, genética y/u otros.

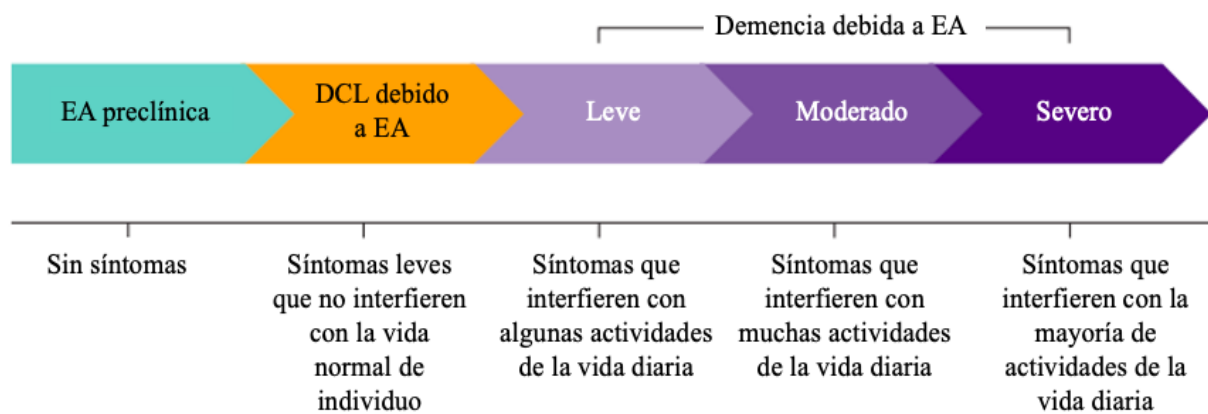


Figura 2. Fases del continuo existente entre la demencia y la EA [Adaptado a partir de Alzheimer's Association (2020)].

En cuanto a la clasificación, existen dos tipos principales de EA: la EA de inicio precoz (EAIP) y la EA de inicio tardío (EAIT) (Tellechea et al., 2018). A pesar de que en las dos variantes la patología cerebral es la misma, los pacientes con EAIT sufren una mayor afectación de la función ejecutiva, visuoespacial y de las praxias, teniendo menos afectada la parte de la memoria. Por otro lado, en pacientes con EAIP se observa una mayor difusión de la atrofia cerebral.

1.1.1. Diagnóstico

Aunque el diagnóstico definitivo de la EA dependa de una autopsia, tanto el Instituto Nacional de Envejecimiento (National Institute of Aging, NIA) como la Asociación de Alzheimer

(Alzheimer's Association, AA) han establecido ciertos métodos para la diagnosis de la EA, abarcando los tres estadios principales de la misma (preclínica, prodromal y demencia manifiesta), mediante la búsqueda de biomarcadores diferenciales, como el residuo amiloide A β 42, proteína Tau fosforilada (P-Tau) y proteína Tau total (Apostolova, 2016). Las pautas para analizar de la manera más correcta posible dichos signos y síntomas se encuentran en la quinta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico para las Enfermedades Mentales o DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013).

En la actualidad, los biomarcadores se detectan mediante el análisis del líquido cerebroespinal (LCR) y la detección de marcadores amiloides por medio de imagen por resonancia magnética (IRM). Otros estudios han intentado establecer diagnósticos fiables a partir de los niveles de citoquinas en la EA, pero los resultados no han sido consistentes debido a la falta sustancial de datos (Brosseron, Krauthausen, Kummer, & Heneka, 2014). Combinando los criterios clínicos y fisiopatológicos se pueden establecer 8 categorías de EA (Mantzavinos & Alexiou, 2017).

Es importante enfocar las investigaciones hacia la mejora de los métodos de diagnóstico de la EA, ya que una diagnosis temprana de la misma se traduciría en una reducción de los daños irreversibles de la enfermedad y en una disminución de los costes económico-sociales.

1.1.2. Bases moleculares

La neuropatología de la EA fue descrita por primera vez en 1907 por el Dr. Alois Alzheimer (Hunting, 2015), psiquiatra y patólogo alemán. Al realizar una exploración cerebral postmortem de un paciente psiquiátrico con afectación del lenguaje y cambios conductuales, observó una serie de cambios en las neurofibrillas que le llevarían a describir esa patología tan característica como “un peculiar y grave proceso de enfermedad en la corteza cerebral” (Toodayan, 2016).

Los cambios que se producen a nivel cerebral durante la EA, y que ya había observado Alois Alzheimer cuando la describió por primera vez, están asociados a las deposiciones de dos tipos de proteínas en las células neuronales: **la proteína β -amiloide y la proteína tau** (Gaugler, James, Johnson, Scholz, & Weuve, 2016). La acumulación de proteína β -amiloide fuera de las neuronas, en lo que se conoce como **placas neuríticas**, bloquea el transporte de nutrientes y otras moléculas esenciales hacia dentro de estas células. Por otro lado, la acumulación

intracitoplasmática de proteína tau hiperfosforilada, en las llamadas **marañas neurofibrilares (NFTs) de tau**, interfiere en la comunicación interneuronal. Esta cadena de fallos conlleva la muerte neuronal debido a la acumulación de desechos y a la reducción de las sinapsis neuronales, produciéndose la neuroinflamación y la disminución del tamaño cerebral características de la EA.

A lo largo de la historia de la EA, se han propuesto varias hipótesis etiopatogénicas sobre las que se ha ido investigando. La primera en ser formulada fue la **hipótesis colinérgica**. Esta teoría surge a mediados de los años 70 y propone que la degeneración de las neuronas colinérgicas y, por ende, la secreción del neurotransmisor acetilcolina en diferentes zonas cerebrales contribuyen significativamente al deterioro de la función cognitiva en pacientes con EA (Francis, Palmer, Snape, & Wilcock, 1999).

Aunque todavía no se conocen con total claridad los mecanismos subyacentes de la EA, la más apoyada durante las últimas décadas ha sido la **hipótesis de la cascada amiloide** (Šerý, Povová, Míšek, Pešák, & Janout, 2013). La proteína precursora amiloide (APP) es una proteína transmembrana de tipo I que se sintetiza en el retículo endoplasmático y es transportado a la red trans-Golgi por medio del aparato de Golgi, en la cual es almacenada a la máxima concentración posible en su forma estable. La APP puede ser procesada, postranscripcionalmente, por diferentes proteasas debido a la presencia en su conformación de diferentes sitios de escisión. La α -secretasa actúa en la membrana plasmática, escindiendo el APP de manera que genera péptidos β -amiloides soluble; mientras que, tanto la β -secretasa como la γ -secretasa generan componentes APP de 40 o 42 residuos, liberándose al espacio extracelular y produciendo agregados amiloides (Tönnies & Trushina, 2017).

Una de las hipótesis más recientes es la **hipótesis sináptica**, que se basa en la existencia de correlación entre la pérdida de función cognitiva y la pérdida de sinapsis neuronales. Además, enfatiza el papel de los oligómeros de $A\beta$ en la sinaptotoxicidad en lugar del de las fibrillas de $A\beta$ (Tanzi, 2005), al contrario que la hipótesis de la cascada amiloide. Esta sinaptotoxicidad está basada en un aumento de la endocitosis de los receptores de glutamato tipo NMDA en las neuronas corticales, teniendo un efecto negativo en la plasticidad neuronal y pudiendo ser el comienzo de los cambios patológicos en la EA (Snyder et al., 2005).

Por último, **la hipótesis Tau**, que se basa en el acúmulo de las formas 3R y 4R de esta proteína de manera hiperfosforilada en los microtúbulos neuronales, lo que se denomina enredos o marañas neurofibrilares (NFT). La proteína Tau es una de las proteínas asociadas a microtúbulos que promueve el ensamblaje y la estabilización de los conjuntos de tubulina en la célula. Esta proteína tiene seis isoformas que surgen del splicing alternativo de las cuales solamente dos, la de 3 repeticiones (3R tau) y la de 4 repeticiones (4R tau), están presentes en las mismas proporciones en los axones de las neuronas adultas cuando las condiciones fisiológicas son normales.

La modificación postraduccional más relevante para tau es su fosforilación, cambiando su forma y regulando así su actividad biológica. Las marañas de proteínas Tau que se encuentran en las neuronas de pacientes con EA están hiperfosforiladas (Šimić et al., 2016). Se ha observado mediante PET que los patrones de unión al neuromarcador Tau están estrechamente asociados con los patrones de neurodegeneración y presentación clínica de la EA. Además, se cree que la acumulación de proteína Tau ocurre antes que la de proteína β -amiloide (Kametani & Hasegawa, 2018).

1.1.3. Neuroinflamación

A pesar de la evidente participación de las proteínas Tau y β -amiloide en la patogénesis de la EA, en los últimos años se ha profundizado en el papel de la neuroinflamación en la pérdida sináptica, que cada vez parece más relevante (Figura 3). La neuroinflamación se trata de una combinación compleja de respuestas por parte de todos los tipos celulares que se encuentran en el sistema nervioso central (SNC) que incluyen la microglía, la macroglía, las neuronas y los linfocitos infiltrantes. Estas respuestas se basan en la liberación de mediadores inflamatorios citoquinas y quimiocinas, que generan excitotoxicidad cuando se producen de manera crónica (Rao, Kellom, Kim, Rapoport, & Reese, 2012). A parte de estos mediadores celulares, existen también mediadores moleculares: el complemento, las quimiocinas, citoquinas y ciclooxigenasas (Im, 2019).

Las más estudiadas son las citoquinas proinflamatorias, entre las cuales se han observado altas concentraciones de IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-12, e IL-18 en la sangre periférica de pacientes con AD (Swardfager et al., 2010). La secreción de estos componentes está estrechamente relacionada con la producción de proteína β -amiloide. Por otro lado, se ha demostrado también

que la producción de la proteína A β induce la expresión de IL-1 β , TNF- α e IL-6, existiendo por tanto una relación directa entre la neuroinflamación y la neurotoxicidad (K. S. Lee et al., 2009).

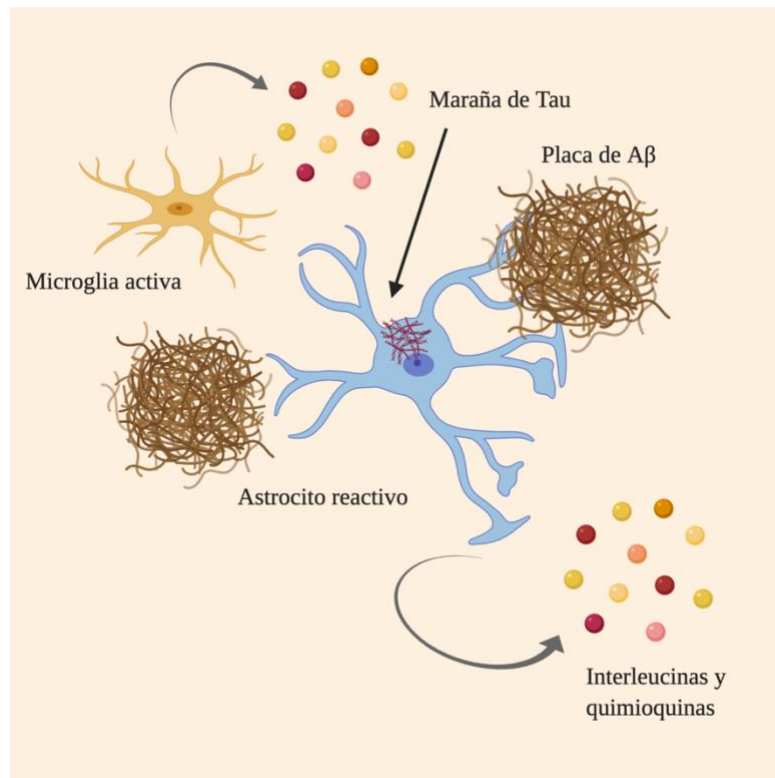


Figura 3. Neuroinflamación durante el desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer. Con la presencia de agregados de β -amiloide y las marañas neurofibrilares de proteína Tau, las células inmunes del cerebro se activan produciendo una gran variedad de moduladores inflamatorios, como las citoquinas y las quimioquinas. (Imagen realizada con Biorender)

Este aumento de las citoquinas proinflamatorias se produce por una activación de la microglía, que presenta autoantígenos contra las proteínas neurotóxicas características de la EA a los linfocitos T infiltrados por medio de los complejos de histocompatibilidad MHC I y MHC II, activando los linfocitos T CD4+. Además, se ha visto que el fenotipo microglial puede variar de M1, que produce neurotoxicidad, a M2, produciendo neuroprotección y remodelación del tejido cerebral (Das & Chinnathambi, 2019).

Sin embargo, los mecanismos moleculares que relacionan la EA con la neuroinflamación no están todavía claros. Algunos estudios sugieren que la inflamación del tejido neural produce y acelera el curso de la EA, mientras que otros argumentan que es un mecanismo de defensa beneficioso contra la neurotoxicidad del tejido cerebral en pacientes con dicha enfermedad (Im, 2019).

1.1.4. Genética de la enfermedad

La evidencia científica, a través de análisis de ligamiento genético en familias, confirma la relación entre la aparición de EA y las mutaciones en los genes que codifican para el precursor transmembrana de la proteína amiloide (APP) o para las proteínas presenilina 1 (PSEN1) y presenilina 2 (PSEN2), ambas directamente involucradas en el procesamiento de APP. Además, el alelo 4 de la apolipoproteína E (APOE ϵ 4) se ha identificado como un gran factor de riesgo genético en la predisposición a la EAIT (Shao, Peng, & Wang, 2017). Por último, el receptor desencadenante expresado en células mieloides 2 (TREM2), se han asociado con una forma autosómica recesiva de demencia de inicio temprano (Guerreiro et al., 2013):

- APP: Primer gen causativo identificado, cuyas mutaciones suelen estar relacionadas con la EAIP y que se relacionan al procesamiento de la APP por los diferentes tipos de secretasas, produciendo una sobreproducción y acumulación de péptidos A β 42.
- PSEN1 y PSEN2: Las proteínas que codifican estos genes son muy importantes en la ruta amiloidogénica del procesamiento de la APP ya que son fundamentales para la función de la γ -secretasa. Las mutaciones en PSEN1 producen un aumento significativo en los niveles de A β 42, causando un 80% de la EAIP. Por otro lado, las mutaciones en PSEN2 son responsables del 5% de casos de esta enfermedad. La identificación de mutaciones AD familiares en los genes *APP*, *PSEN1* y *PSEN2* dio lugar a la hipótesis de la cascada amiloide (Tönnies & Trushina, 2017).
- APOE ϵ 4: De las tres variantes del gen *APOE* (ϵ 2, ϵ 3 y ϵ 4), es APOE ϵ 4 el mayor factor de riesgo genético para la EA, expresándose en más de la mitad de los pacientes (Safieh, Korczyn, & Michaelson, 2019). Aunque todavía no se han dilucidado los mecanismos ni los efectos que realmente son consecuencia de ser portador de este alelo, se ha observado su clara relación con el daño cerebral. No obstante, esta relación es más pronunciada en mujeres que en hombres (Ungar, Altmann, & Greicius, 2014).
- TREM2: Se ha observado que una mutación homocigota en el gen *TREM2*, que codifica para una glucoproteína transmembrana, conduce a una demencia de inicio temprano. Esto se debe a que la proteína TREM2 es necesaria para la correcta eliminación, por parte de la microglía, de las placas amiloides cerebrales (Jonsson et al., 2013).

1.1.5. Factores de riesgo

La EA es una enfermedad multifactorial cuyo factor de riesgo más influyente es la edad. Esto se puede deber al efecto acumulativo de otros factores de riesgo como el de la susceptibilidad

genética, factores psicosociales, biológicos o ambientales (Qiu, Kivipelto, & von Strauss, 2009). Por ello, hay diferentes hipótesis etiológicas que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de las diferentes hipótesis etiológicas que existen para el AD [Adaptada de (Qiu et al., 2009)].

Hipótesis etiológica	Factores de riesgo y protectores	Evidencia epidemiológica
Susceptibilidad genética	Factores de riesgo: alelo APOE e4 y agregación familiar	Fuerte
Hipótesis de la ruta vascular	Factores de riesgo: alta presión arterial, diabetes, enfermedad cerebrovascular y tabaco; Factores protectores: terapia antihipertensiva	Moderada o suficiente
Hipótesis psicosocial	Factores protectores: alto nivel educacional, actividades de estimulación mental y actividad física	Moderada o suficiente
Hipótesis dietaria y de nutrición	Factores de riesgo: deficiencia en folato, vitamina B12 y otros antioxidantes (vitaminas A, E y C); Factores protectores: consumo de vegetales y alimentos ricos en ácidos grasos omega-3	Insuficiente o limitada
Otros (ej. Factores tóxicos o inflamatorios)	Factores de riesgo: traumatismos craneales, profesión con exposición a toxinas y campos electromagnéticos, depresión y terapia de reemplazamiento de hormonas; Factores protectores: medicamentos antiinflamatorios no esteroideos	Insuficiente o limitada

1.2. Datos ómicos y tecnologías de alto rendimiento

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la molécula que porta la información genética celular, y está compuesto por dos cadenas antiparalelas polinucleotídicas. Los nucleótidos que conforman los ácidos nucleicos son la adenina (A), citosina (C), guanina (G), timina (T) y uracilo (U). El ADN, que se compone exclusivamente de A, C, G y T, puede transcribirse a ácido ribonucleico (ARN), en el que la timina se sustituye por el uracilo (Alberts et al., 2015).

El ARN, a parte de sus de funciones reguladoras, sirve también como molde en el proceso de traducción para la síntesis proteica. La molécula que actúa a modo de vínculo entre la información genética que codifica en el ADN y las proteínas recibe el nombre de ARN mensajero (ARNm). Este proceso, que incluye desde el gen que contiene la secuencia del ADN hasta la proteína efectora final, es lo que se conoce como el dogma central de la biología molecular (Crick, 1970). Posteriormente a su postulación se ha revisado y ampliado (Nelson & Cox, 2017, Figura 4).

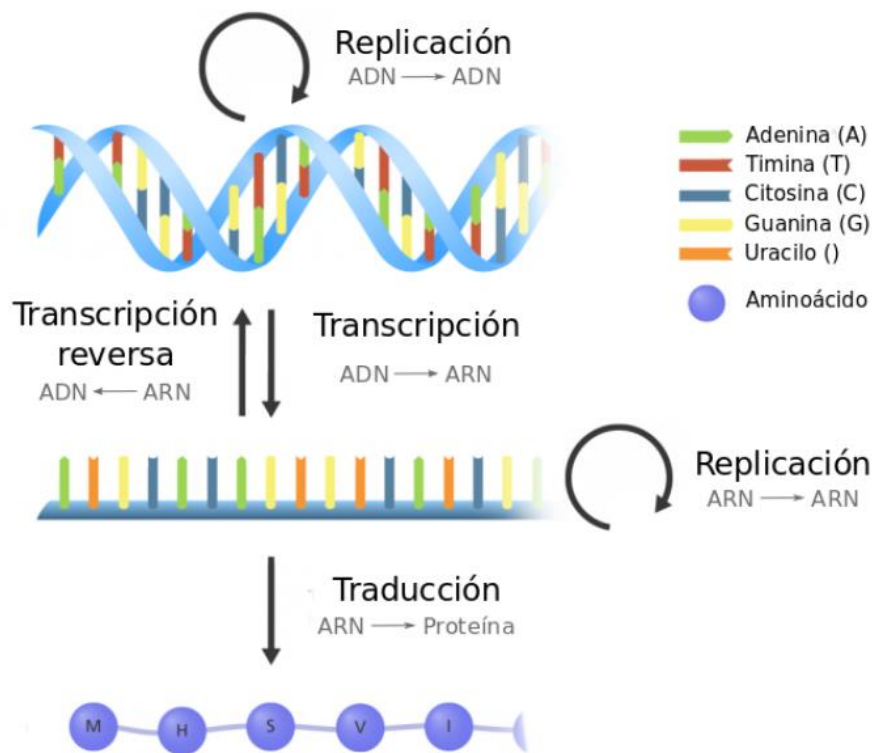


Figura 4. Dogma central de la biología molecular ampliado.

En 1986, Thomas H. Roderick acuñó el término genómica para referirse al estudio del conjunto completo de genes del ser humano, también conocido como genoma. Unos años más tarde, en 1995, Marc Wilkins propuso la palabra proteómica para referirse al estudio del conjunto de proteínas de un organismo (Yaday, 2007). A partir de ahí se conoce a las ómicas como las disciplinas que se encargan del estudio de grandes cantidades de información dentro o fuera del dogma central de la biología molecular, tal y como ocurre con la transcriptómica y la metabolómica (Manzoni et al., 2018).

Estas disciplinas generan una gran cantidad de datos gracias a las técnicas de alto rendimiento. Esto, junto con el abaratamiento continuo y gradual de estas tecnologías, ha llevado a la

necesidad de tener a disposición una gran cantidad de bases de datos y repositorios, en los que poder almacenarlos y procesarlos. Debido a que dichas bases de datos están en continua actualización, las cifras son muy cambiantes de un año a otro. Actualmente, según el último informe anual sobre la colección de repositorios en la investigación de ácidos nucleicos (Rigden & Fernández, 2019), existen 1613 bases de datos.

1.2.1. Transcriptómica

El transcriptoma está constituido por el total de transcritos de ARN existentes en una célula, independientemente de si dan como resultado proteínas codificantes, siendo la transcriptómica la ciencia que se encarga de estudiarlos (Z. Wang, Gerstein, & Snyder, 2009). Mediante el estudio de estos transcritos se pueden conocer las características de la expresión génica en una región específica, lo que aporta información trascendente para entender la dinámica del metabolismo celular y tisular, así como la influencia del transcriptoma en diferentes patologías (Manzoni et al., 2018).

La transcriptómica se ha desarrollado gracias al rápido avance tecnológico del que han surgido tecnologías de alto rendimiento de secuenciación de ARN (RNA-seq). Los primeros en surgir fueron los microarrays, que consisten en un soporte sólido al que se unen, en una disposición concreta, una serie de sondas de ADN. Por otro lado, requieren también de una molécula fluorescente o radioactiva para marcar el ADN o ARN a estudiar, además de su posterior hibridación con las sondas del microarray. Esta fue la primera técnica que permitió detectar la actividad de miles de transcritos con un solo procesamiento (Doménech-Sánchez & Vila, 2004; Schena, 1996).

1.2.2. Estrategias de análisis transcriptómicos

El análisis de datos transcriptómicos requiere un preprocesamiento de estos que dependerá fundamentalmente de la tecnología empleada. Como resultado se obtiene una matriz de expresión que contiene la cuantificación, para cada una de las muestras analizadas, de la unidad biológica de interés (García, 2016). A partir de esta matriz se pueden seguir diferentes estrategias para el análisis de los datos, siendo las más destacables (Grant, Manduchi, & Stoeckert, 2007):

- Análisis de expresión diferencial: Tiene como objetivo identificar qué grupo de elementos biológicos (comúnmente genes) varían su nivel de expresión según las condiciones experimentales. Este abordaje es útil para la detección de biomarcadores o la caracterización de enfermedades.
- Predicción de clases: a partir de un set compuesto por perfiles transcriptómicos que pertenecen a las clases de interés, se realiza una clasificación supervisada de nuevos perfiles.
- Análisis clúster o descubrimiento de clases: Las clases obtenidas surgen de la clasificación de las muestras según sus similitudes de expresión a nivel transcriptómico, obteniendo una clasificación no supervisada.

1.2.3. Caracterización funcional

Como resultado del análisis de expresión diferencial se pueden obtener una lista de diferentes elementos biológicos de interés, es decir, elementos que varían entre las condiciones a comparar. Esto, combinado con la información biológica disponible en las distintas bases de datos, facilita la interpretación de los resultados obtenidos. Cabe destacar la importancia de las anotaciones funcionales, ya que presentan un vocabulario estructurado e informan de las funciones relacionadas con las unidades biológicas (García, 2016). Esta información está contenida en bases de datos como:

- *Gene Ontology* (GO), que contiene información sobre los sistemas biológicos clasificada en tres ontologías: procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares (Ashburner et al., 2000).
- *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), que contiene información sistemática a cerca de la función de los genes y su organización en rutas (Kanehisa, 2000).

Los resultados recopilados a partir de los datos transcriptómicos se combinan con la información procedente de las bases de datos por medio de metodologías de caracterización funcional. Una estrategia que permite caracterizar las funciones de una unidad biológica de

interés, como puede ser un grupo de genes, es el análisis de enriquecimiento o análisis de sobrerepresentación (García, 2016). En este tipo de análisis, se selecciona un conjunto de genes (u otra unidad biológica de interés) y se comparan las funciones anotadas para dicho conjunto con un grupo de genes de referencia. Además, se evalúa estadísticamente la proporción de genes con la anotación correspondiente para cada función, pudiendo detectar así una sobrerepresentación o enriquecimiento de este.

Otra aproximación son los análisis de grupos de genes (García, 2016), como el *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA), que utiliza la lista completa de genes, clasificándolos según su nivel de expresión diferencial. De esta manera, analizando los genes que pertenecen a un mismo grupo funcional, se puede saber si tienden a estar sobre o infraexpresados.

1.2.4. Metaanálisis

Los metaanálisis, junto con las revisiones sistemáticas, son herramientas necesarias para la construcción de evidencia científica. El metaanálisis puede definirse, en términos generales, como el análisis integrado de los resultados obtenidos de estudios independientes que tienen una temática común (Carlin, 1999; Liberati et al., 2009). Al combinar la información de dichos estudios el poder estadístico del análisis será mayor que si analizamos cada estudio por separado, permitiendo abordar conclusiones conflictivas.

A pesar de que el metaanálisis haya surgido como una herramienta aplicable al campo de las ciencias sociales (Glass, 1976), se ha trasladado con éxito al campo de la expresión génica, lo que ha permitido caracterizar de mejor manera una enfermedad (Xu et al., 2015) o estudiar la eficacia de algunos tratamientos disponibles (Kishi et al., 2017). Aunque la mayoría de estudios transcriptómicos que emplean metaanálisis se centran en un nivel génico, aplicarlo a nivel de función puede minimizar el ruido de la tecnología empleada u otros problemas debidos al diseño experimental o al reducido tamaño muestras, mejorando la detección de funciones realmente enriquecidas (García, 2016).

A pesar de que el metaanálisis es una herramienta capaz de detectar diferencias significativas en conjuntos de datos que, analizando de manera individual, no seríamos capaces de percibir; hay que tener en cuenta que sus resultados dependen, en una gran proporción, a la calidad de

los datos de entrada. Además, un sesgo importante es el de publicación, ya que los resultados negativos no suelen publicarse, por norma general.

2. Hipótesis

En la población general, las mujeres presentan una mayor incidencia de la Enfermedad de Alzheimer (Gao et al., 1998; Hebert et al., 2001; S. Kim et al., 2015). Además de esto, se ha comprobado la existencia de diferencias conductuales durante el transcurso de la enfermedad, que podrían ser indicio de un patrón de neurodegeneración específico de sexo (Filon et al., 2016; J. Lee et al., 2017; Tschanz et al., 2011).

Teniendo en cuenta dichas diferencias a nivel de sexo, es probable que existan también diferencias entre hombres y mujeres a nivel de activación o represión de algunas funciones moleculares relacionadas con la aparición y progresión de la EA. Estudiar el contexto molecular de la enfermedad puede llevarnos al descubrimiento de nuevos biomarcadores específicos de sexo que permitan una individualización del diagnóstico y el desarrollo de terapias; mejorando la calidad de vida de los pacientes, así como la gestión de los recursos humanos y económicos invertidos.

3. Objetivos

El objetivo de este trabajo es identificar, mediante un abordaje in silico, las bases moleculares que afectan de forma diferencial a hombres y mujeres en la enfermedad de Alzheimer. Para lograrlo, se han propuesto tres objetivos específicos a cumplir:

- Revisión sistemática y selección de estudios en enfermedad de Alzheimer con datos de expresión de microarrays o RNA-seq en los repositorios *Gene Expression Omnibus* (GEO) y ArrayExpress.
- Análisis individual de cada estudio seleccionado, incluyendo un análisis de expresión diferencial, un análisis de enriquecimiento funcional.
- Metaanálisis de los resultados funcionales obtenidos a nivel de enriquecimiento funcional.

4. Material y métodos

4.1. Revisión sistemática y selección de estudios

La revisión sistemática es una metodología empleada para responder a preguntas concretas mediante la comparación de la evidencia empírica que cumple ciertos criterios de elegibilidad. Este es un proceso que comienza con el establecimiento de unos objetivos claros y que continúa con la búsqueda de estudios que cumplan estrictamente con los criterios de elegibilidad que se han establecido, seguido por una evaluación de la validez de los estudios y una síntesis de resultados a partir de los mismos. Para el desarrollo de este trabajo se han seguido las directrices y flujo de trabajo propuestos en la declaración PRISMA (Figura 5), que ha surgido de una colaboración internacional y multidisciplinar con el objetivo de estandarizar tanto la revisión sistemática como el metaanálisis (Liberati et al., 2009).

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda de los estudios disponibles en las bases de datos públicas sobre la enfermedad de Alzheimer que contuviesen información a cerca de la expresión génica. En concreto, se exploraron las bases de datos GEO (Barrett et al., 2012) y ArrayExpress (Kolesnikov et al., 2015) con las palabras clave “expression profiling by array”, “expression profiling by high throughput sequencing”, “Alzheimer”, “Alzheimer’s disease”, “AD”, y “*Homo sapiens*”. Se utilizaron como palabras excluyentes “cell line” y “cell lines”.

De los estudios que se obtuvieron, se seleccionaron aquellos que incluían información sobre el sexo y cuyas muestras fueron tomadas post-mortem del cerebro de los individuos. Por otro lado, se excluyeron los estudios que no contenían muestras control y aquellos que abarcaban información sobre pacientes tratados o con un tamaño muestral menor de doce sujetos (cuatro por cada grupo experimental), además de los realizados sobre líneas celulares humanas o en tejido sanguíneo.

Tras la selección final de estudios, fueron descargados sus correspondientes datos normalizados de la base de datos GEO.

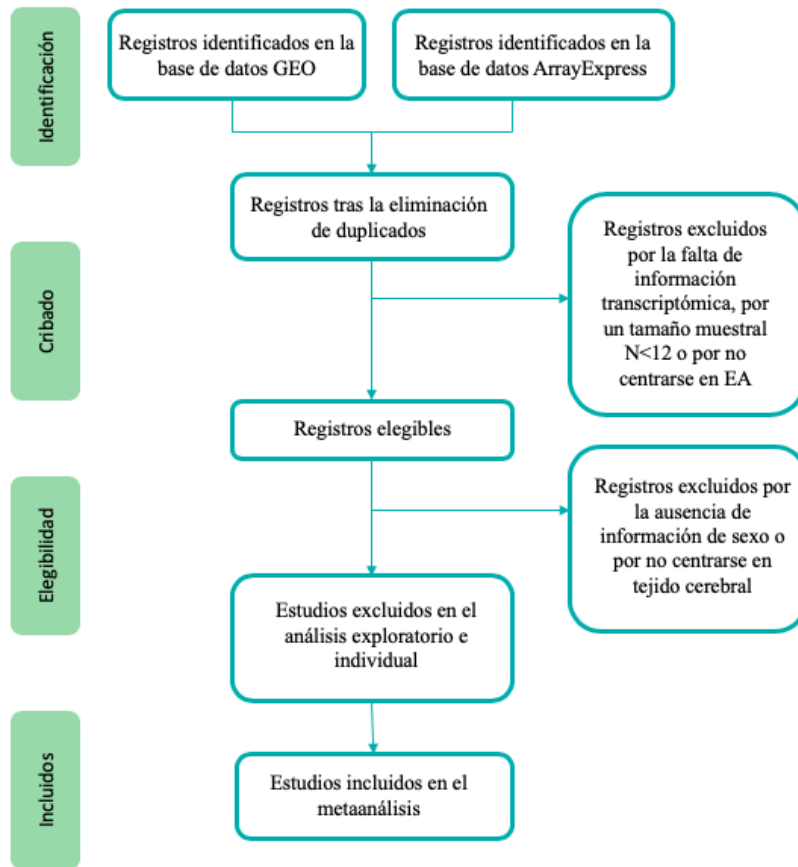


Figura 5. Flujo de información a través de las diferentes fases de una revisión sistemática. (Esquema adaptado de Liberati, A et al.)

4.2. Procesamiento de los datos

Para que la metodología del metaanálisis sea aplicable es necesario analizar los estudios por separado en primer lugar, para después combinar los resultados. Todo el procesamiento de los datos se realizó con el lenguaje de programación *R* (R Core Team, 2019) desde *RStudio*.

Normalización de los datos clínicos

En vista de la variabilidad, tanto en la naturaleza de los estudios como en la metodología empleada en cada uno de ellos, se realizó una normalización de la nomenclatura de los datos clínicos disponibles, con el fin de evitar problemas al integrar los datos en el metaanálisis. Para dicha normalización se siguieron las siguientes directrices:

- Grupo “Control”: Pacientes sanos, divididos en dos grupos según el sexo.
- Grupo “Alzheimer”: Pacientes con EA, divididos en dos grupos según el sexo. Se han excluido las muestras de estadio probable.

Anotación

La anotación de las sondas es un paso esencial en el procesamiento de los microarrays, variando en función de la plataforma comercial y del modelo de esta. Los códigos de las sondas de cada uno de los microarrays se convirtieron en el código Entrez correspondiente, un identificador común mediante el cual se registra cada uno de los genes en la base de datos *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, Estados Unidos) (Maglott, Ostell, Pruitt, & Tatusova, 2011). Para facilitar la automatización del trabajo, los identificadores de gen de los estudios de RNA-seq también se transformaron en el identificador correspondiente en el código Entrez.

En la conversión de identificadores de sonda a identificadores Entrez de gen, se pueden producir duplicaciones porque hay genes que corresponden a varios identificadores de sonda. Para resumir la información de la expresión a nivel de gen, se generó la función `medianReps`, disponible en el repositorio de código *gitlab* (<https://gitlab.com/ubb-cipf/metafunr/-/tree/master/R>). Esta función calcula la mediana de los niveles de expresión de todas las sondas que apuntan a un mismo gen, en cada uno de los pacientes.

4.3. MetaFun: análisis individual de los estudios y metaanálisis

Para llevar a cabo el análisis exploratorio, la caracterización funcional y el metaanálisis se empleó la plataforma web *MetaFun* (Malmierca, 2019). Esta herramienta web está dirigida al análisis de datos ómicos desde un punto de vista funcional, trabajando a partir de una selección de estudios biomédicos.

MetaFunR es un derivado del paquete desarrollado por la Unidad de Bioinformática y Bioestadística del Centro de Investigación Príncipe Felipe para la realización de metaanálisis funcional adaptado a las necesidades de la aplicación web. Está desarrollado en *R* y se puede consultar en <https://gitlab.com/metafundev/metafunr>.

4.3.1. Análisis exploratorio

Para cualquier investigación la recogida de datos es un punto muy importante por lo que su correcto procesado inicial es crucial. El análisis exploratorio engloba todos los procedimientos empleados para analizar los datos e interpretar los resultados que se obtienen a partir de ellos (Tukey, 1962). Así mismo, están incluidas también las formas de planificar la recogida de

dichos datos, de manera que se facilite lo máximo posible un análisis consistente. Por último, incluiría también todos los mecanismos estadísticos aplicados para examinarlos.

Para evaluar la distribución de las muestras en los grupos de interés y detectar comportamientos anómalos se realizó un análisis exploratorio de cada estudio seleccionado y anotado. Para evitar la introducción de nuevos sesgos y más variabilidad, se partió de los datos normalizados de los estudios de microarrays seleccionados.

En MetaFun los resultados del análisis exploratorio son representados mediante diagramas de cajas, Análisis de Componentes Principales (PCA) y *Clustering* de las muestras analizadas:

- En primer lugar, se representaron los niveles de expresión de los genes de cada una de las muestras en un diagrama de cajas, o *Boxplot*, para comprobar que no hubiese anomalías ni en la distribución de los datos.
- Además, a partir de los datos normalizados se realizó un análisis de agrupamiento o *Clustering*, con el objetivo de observar posibles agrupaciones de las muestras en cuanto a los niveles de expresión génica de manera dependiente del sexo o de la presencia o no de la enfermedad.
- Por último, se realizó un PCA con el mismo objetivo.

4.3.2. Análisis de expresión diferencial

El primer paso del análisis realizado por *MetaFun* es un análisis de expresión diferencial, cuyo objetivo es encontrar diferencias significativas de interés a nivel de expresión génica en los diferentes grupos experimentales (sobreexpresión o infraexpresión). Para ello, se compararon las diferencias en mujeres debidas a la enfermedad con las diferencias en hombres debidas a la enfermedad mediante el siguiente contraste, que fue evaluado a través de los modelos lineales implementados en el paquete *limma* de Bioconductor (Ritchie et al., 2015) :

Ecuación 1.

(Alzheimer Mujer – Control Mujer) – (Alzheimer Hombre – Control Hombre)

Por ello, se combinaron las variables factoriales “sexo” (Hombre o Mujer) y “Alzheimer” (Control o Alzheimer), generando los cuatro grupos experimentales posibles. Se calcularon los

coeficientes estimados y los errores estándares a partir de la matriz de contrastes y el modelo lineal, y los estadísticos de la expresión diferencial. Finalmente se ajustó el p-valor mediante el método de Benjamini y Hochberg (BH) (Benjamini & Hochberg, 1995).

4.3.3. Análisis de enriquecimiento funcional

Una vez generados los datos de expresión diferencial a nivel de genes, *MetaFun* realiza un análisis de enriquecimiento funcional a través de *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA) (Montaner & Dopazo, 2010). GSEA indica la función biológica, proceso molecular y/o componente celular que existen detrás de un conjunto de genes que comparten un patrón de expresión común. De esta manera se puede obtener un grupo de genes enriquecidos funcionalmente.

4.3.5. Metaanálisis funcional

La identificación de grupos de genes con funciones comunes suele ser inconsistente entre estudios independientes, bien sea por la existencia de ruido en la tecnología empleada, las características del experimento y/o un tamaño muestral reducido. Por este motivo, combinar los resultados de varios estudios puede mejorar los resultados a la hora de detectar grupos de funciones enriquecidas.

4.3.5.1. Determinación de la medida combinada del efecto

Una vez realizada una elección exhaustiva de los estudios para evitar los sesgos relacionados, como el desbalance en la representación de los grupos de estudio, se lleva a cabo el cálculo de la magnitud del efecto de la variable de interés y de su variabilidad. De esta manera podremos decidir entre aplicar el modelo de efectos aleatorios o el modelo de efectos fijos para llevar a cabo el metaanálisis:

- Efectos fijos. Al emplear este modelo se asume que todas las diferencias entre nuestros datos que se deben únicamente al azar.
- Efectos aleatorios. Se aplica este modelo cuando se cree que cada uno de los estudios tiene un error de muestreo distinto, siendo este el caso más común en los datos biológicos y, por tanto, el que emplea *MetaFun* para realizar el metaanálisis.

Como resultado del metaanálisis se obtienen un conjunto de estimadores de la medida del efecto combinado para cada una de las funciones estudiadas, además de los indicadores de heterogeneidad de este:

- QE y QEp son el estadístico de contraste y p-valor, respectivamente, del método DerSimonian y Laird (DerSimonian & Laird, 1986), utilizados para detectar la heterogeneidad entre estudios. La hipótesis nula se refiere a la no heterogeneidad entre los estudios.
- LOR es la estimación del efecto combinado de todos los estudios. El signo indica la sobrerrepresentación de una determinada función en uno de los dos grupos de la comparación realizada. La magnitud del valor es un indicador cuantitativo de dicha sobrerrepresentación.
- Intervalo de confianza del LOR (al 95%), construido a partir de la variabilidad estimada en el modelo seleccionado. Si el intervalo de confianza no incluye el 0, el LOR se considera significativo.
- El p-valor informa sobre el nivel de significación del efecto combinado. Es necesario hacer una corrección de este, dado que no contempla el escenario de multiplicidad del análisis (múltiples funciones). Esta corrección fue realizada mediante el método BH.
- τ^2 describe la heterogeneidad entre los estudios.
- El estadístico I² indica el porcentaje de variabilidad debida a la heterogeneidad en los estudios. Cuanto menor sea este valor, menos relevante será la heterogeneidad detectada.
- H² es el cociente entre la variabilidad total y la variabilidad en el muestreo.

4.3.5.2. Evaluación de la heterogeneidad

Para confirmar que el procedimiento empleado en la medida de determinación del efecto es el adecuado, se lleva a cabo la evaluación de la heterogeneidad. Para ello, *MetaFun* emplea los gráficos de embudo, además de las representaciones gráficas de los estimadores previamente descritos.

Los gráficos de embudo (Figura 6) evalúan la variabilidad de los distintos estudios y la presencia de sesgos. En *MetaFun* se representa el *Log Odds Ratio* (LOR) del término funcional representado (eje X) frente a la desviación estándar (eje Y), que es una medida de la precisión. De esta manera los estudios que aparecen representados alejados horizontalmente del centro son estudios poco precisos. En cuanto al eje vertical, cuanto más cerca del 0 se encuentren su error estándar será menor.

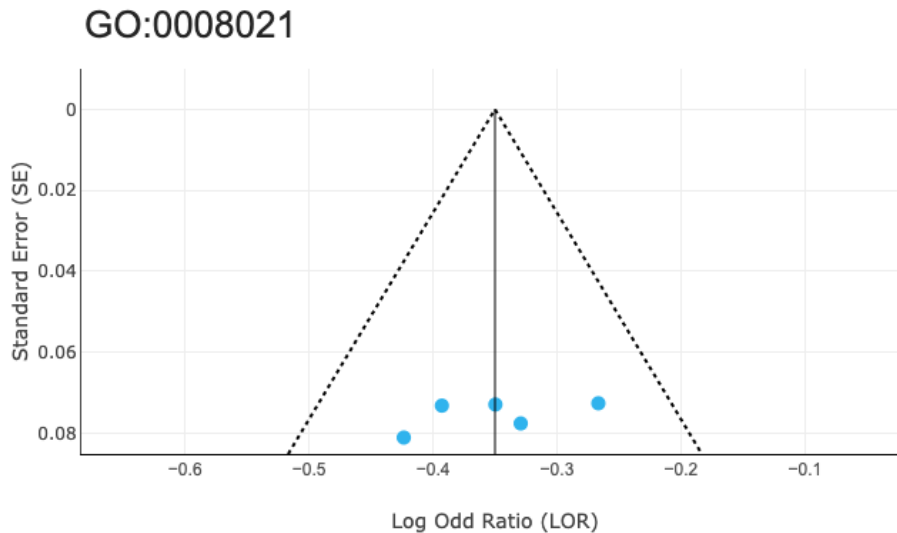


Figura 6. Ejemplo de un gráfico de embudo para el término GO:0008021, obtenido en el metaanálisis que abarca este trabajo.

4.3.5.3. Representación de los resultados

Además de la obtención de las funciones significativas del metaanálisis, se generaron gráficos de bosque (Figura 7), para representar el impacto de cada estudio en una determinada función significativa. Este tipo de gráfico se representan los estudios que han sido parte del metaanálisis (eje Y) frente el valor de la variable de interés junto con su intervalo de confianza (eje X). Además, el tamaño del cuadrado negro que representa dicho valor varía proporcionalmente en función del peso que haya tenido el estudio en el metaanálisis, lo que se denomina la medida del efecto. En *MetaFun*, la variable de interés es el LOR.

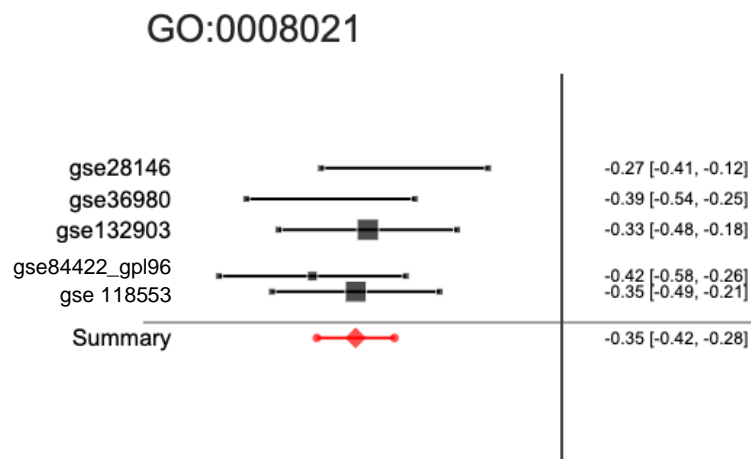


Figura 7. Ejemplo de un gráfico de bosque para el término GO:0008021, obtenido en el metaanálisis que abarca este trabajo.

5. Resultados

En este apartado se muestran los resultados obtenidos siguiendo el mismo orden que en el apartado anterior. Las figuras y tablas complementarias se encuentran recogidas en los Anexos A y B, respectivamente.

5.1. Revisión sistemática y selección de estudios

En la revisión sistemática encontramos, tras la eliminación de duplicados, un total de 222 estudios candidatos. Hasta 181 estudios fueron excluidos por no contener datos transcriptómicos, no estar centrados exclusivamente en AD y/o contener un número de muestras < 12 . De los 31 estudios restantes, se descartaron 19 por no disponer de muestras con información acerca del sexo del paciente y por no estar basados en el análisis del tejido cerebral. Finalmente, 9 estudios fueron seleccionados para la realización del metaanálisis (Figura 8, Tabla 2).

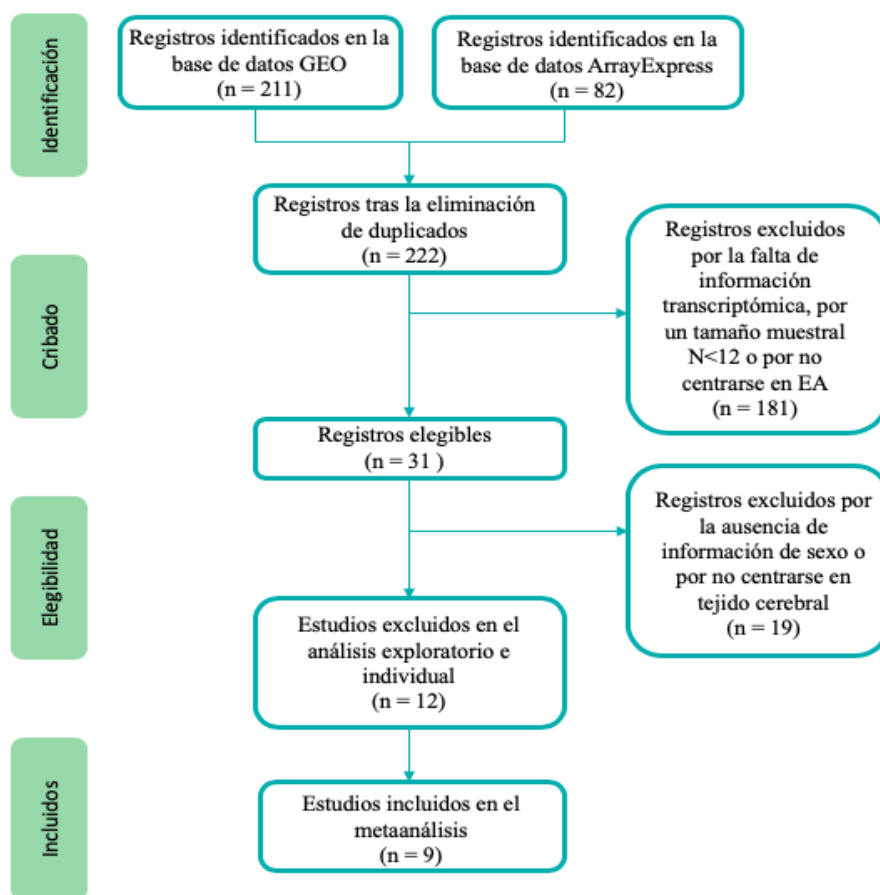


Figura 8. Diagrama de flujo de la revisión sistemática siguiendo la declaración PRISMA.

Tabla 2. Descripción de estudios seleccionados. Se especifica la plataforma empleada por cada estudio y el artículo publicado.

Estudio	Plataforma	Artículo
GSE1297	Affymetrix Human Genome U133A Array	(Blalock et al., 2004)
GSE5281	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	(Liang, Dunckley, et al., 2008; Liang et al., 2007; Liang, Reiman, et al., 2008; Readhead et al., 2018)
GSE28146	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	(Blalock, Buechel, Popovic, Geddes, & Landfield, 2011)
GSE29378	Illumina HumanHT-12 V3.0 expression beadchip	(Miller, Woltjer, Goodenbour, Horvath, & Geschwind, 2013)
GSE36980	Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array	(Hokama et al., 2014)
GSE37263	Affymetrix Human Exon 1.0 ST Array	(Tan et al., 2010)
GSE39420	Affymetrix Human Gene 1.1 ST Array	(Antonell et al., 2013)
GSE48350	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	(Astarita et al., 2010; Berchtold et al., 2013, 2008; Blair et al., 2013; Cribbs et al., 2012; Sárvári et al., 2012)
GSE84422	Affymetrix Human Genome U133A Array (GPL96)	(M. Wang et al., 2016)
GSE93885	Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array	(Lachen-Montes, Zelaya, Segura, Fernández-Irigoyen, & Santamaría, 2017)
GSE118553	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE118553
GSE132903	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip	(M. Wang et al., 2016)

5.3. MetaFun: análisis individual de los estudios y metaanálisis

Tras la descarga de los datos de cada estudio y la estandarización de la nomenclatura de las variables clínicas, se evaluaron los niveles de expresión diferencial y se realizó un análisis de enriquecimiento funcional para procesos biológicos (PB), funciones moleculares (FM) y componentes celulares (CC) para cada uno de ellos. Por último, se llevó a cabo un metaanálisis para estas tres categorías. Los gráficos fueron generados por *MetaFun*.

5.3.1. Análisis exploratorio y procesamiento de los datos

GSE1297

En este estudio (Blalock et al., 2004) se evaluó la respuesta transcripcional diferencial en genes relacionados con marcadores de la EA en muestras de hipocampo cerebral. La Tabla 3 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 3. Individuos incluidos en el estudio GSE1297. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE1297	Mujeres	Hombres	Total
Control	2	6	8
Alzheimer	16	6	22
Total	18	12	30

Finalmente, tras los análisis clúster y de PCA se decidió no incluir este estudio en el metaanálisis final, ya que contenía las mismas muestras que GSE28146.

GSE5281

En este estudio (Liang, Dunckley, et al., 2008; Liang et al., 2007; Liang, Reiman, et al., 2008; Readhead et al., 2018) se analizaron los genes que se expresan de manera diferencial en 7 regiones cerebrales diferentes durante el curso de la EA, para tratar de encontrar marcadores que permitan prevenir y/o tratar la enfermedad. En la Tabla 4 se muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad, tras seleccionar las muestras que pertenecen a tejido cerebral. Además, se eliminaron las muestras GSM119673, GSM119637 y GSM119655 ya que se encontraban desfasadas en la escala de normalización (Anexo I, Figura A.1).

Tabla 4. Individuos incluidos en el estudio GSE5281. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE5281	Mujeres	Hombres	Total
Control	21	53	74
Alzheimer	37	50	87
Total	58	103	161

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.2) como el PCA (Anexo I, Figura A.3) mostraron una ligera agrupación de las muestras en función de si provenían de pacientes “Control” o de pacientes “Alzheimer”.

GSE28146

En este estudio (Blalock et al., 2011) se analizó la correlación entre la expresión génica en muestras de hipocampo cerebral con marcadores conocidos de la EA. Los individuos catalogados en el estudio como “EA incipiente”, “EA moderado” y “EA severo” se agruparon

en la categoría “Alzheimer”. La Tabla 5 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 5. Individuos incluidos en el estudio GSE28146. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE28146	Mujeres	Hombres	Total
Control	2	7	9
Alzheimer	16	6	22
Total	18	13	31

Al analizar la matriz de expresión se observa un gran desfase en la escala de normalización (Anexo I, Figura A.4.A), por lo que se procedió a realizar una conversión a escala logarítmica en base dos de la matriz de expresión (Anexo I, Figura A.4.B). Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.5) como el PCA (Anexo I, Figura A.6) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE29378

En este estudio (Miller et al., 2013) se realizó un análisis transcripcional en muestras de hipocampo cerebral de pacientes con EA avanzada y pacientes control para evaluar el enriquecimiento de diferentes funciones celulares implicadas en la enfermedad. La Tabla 6 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 6. Individuos incluidos en el estudio GSE29378. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE29378	Mujeres	Hombres	Total
Control	10	22	32
Alzheimer	15	16	31
Total	25	38	63

Tras analizar las muestras mediante un boxplot (Anexo I, Figura A.7.A) se decidió realizar el logaritmo en base 2 de la matriz de expresión normalizada debido al desfase de los datos (Anexo I, Figura A.7.B). Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.8) como el PCA (Anexo I, Figura A.9) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE36980

En este estudio (Hokama et al., 2014) se realizó un análisis transcriptómico de diferentes regiones cerebrales para intentar dilucidar marcadores de riesgo genéticos relacionados con la EA. La Tabla 7 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 7. Individuos incluidos en el estudio GSE36980. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE36980	Mujeres	Hombres	Total
Control	25	22	47
Alzheimer	17	15	32
Total	42	37	79

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.10) como el PCA (Anexo I, Figura A.11) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE37263

En este estudio (Tan et al., 2010) se analizaron alteraciones del genoma completo en muestras del córtex temporal en una cohorte de pacientes con una EA bien caracterizada. La Tabla 8 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad. En esta se puede observar que el número de mujeres, tanto para el grupo control como para el grupo Alzheimer, es menor de 4. Por este motivo, se decidió excluir este estudio del metaanálisis.

Tabla 8. Individuos incluidos en el estudio GSE37263. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE37263	Mujeres	Hombres	Total
Control	3	5	8
Alzheimer	3	5	8
Total	6	10	16

GSE39420

En este estudio (Antonell et al., 2013) se trató de describir el perfil de expresión completo del RNA del área posterior cingulada cerebral mediante un análisis *in silico*. La Tabla 9 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 9. Individuos incluidos en el estudio GSE39420. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE39420	Mujeres	Hombres	Total
Control	2	5	7
Alzheimer	3	11	14
Total	5	16	21

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.12) como el PCA (Anexo I, Figura A.13) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE48350

En este estudio (Astarita et al., 2010; Berchtold et al., 2013, 2008; Blair et al., 2013; Cribbs et al., 2012; Sárvári et al., 2012) se intentó establecer una relación entre los cambios de expresión en los genes relacionados con la inmunidad y las sinapsis en muestras de 4 regiones cerebrales diferentes. La Tabla 10 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 10. Individuos incluidos en el estudio GSE39420. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE48350	Mujeres	Hombres	Total
Control	82	91	173
Alzheimer	47	33	80
Total	129	124	253

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.14) como el PCA (Anexo I, Figura A.15) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE84422

En este estudio (M. Wang et al., 2016) se intentaron dilucidar los sistemas moleculares asociados con el cambio de expresión génica producido en el cerebro de personas con EA. Este estudio consta de 3 plataformas: GPL96, GPL97 y GPL720. Debido a que todas las plataformas llevaron a cabo el análisis de las mismas muestras, se escogió GPL96 para incluirla en el metaanálisis. La Tabla 11 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 11. Individuos incluidos en el estudio GSE84422. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE84422	Mujeres	Hombres	Total
Control	124	90	214
Alzheimer	214	114	328
Total	338	204	542

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.16) como el PCA (Anexo I, Figura A.17) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE93885

En este estudio (Lachen-Montes et al., 2017) se caracterizaron los cambios transcripcionales que ocurren en el bulbo olfatorio cerebral durante el curso de la EA. La Tabla 12 muestra la distribución de los individuos por sexo y por enfermedad.

Tabla 12. Individuos incluidos en el estudio GSE93885. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE93885	Mujeres	Hombres	Total
Control	1	3	4
Alzheimer	6	8	14
Total	7	11	18

En la Tabla 12 se puede observar que el número de mujeres para el grupo control es menor de 4. Por este motivo, se decidió excluir este estudio del metaanálisis.

GSE118553

En este estudio (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE118553>) se realizó un análisis diferencial de la expresión génica en diferentes regiones cerebrales de pacientes con EA y pacientes control. La Tabla 13 muestra el número de individuos clasificados según el sexo y la enfermedad una vez excluidas las muestras catalogadas como “Alzheimer asintomático” ya que no se ajusta a los parámetros de selección que aplicamos al metaanálisis.

Tabla 13. Individuos incluidos en el estudio GSE118553. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE118553	Mujeres	Hombres	Total
Control	50	56	106
Alzheimer	93	68	161
Total	143	124	267

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.18) como el PCA (Anexo I, Figura A.19) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

GSE132903

En este estudio (M. Wang et al., 2016) se comparó la expresión de ARN del giro temporal medio del cerebro de pacientes con EA y de pacientes control sin ningún tipo de demencia. La Tabla 14 muestra el número de individuos clasificados según el sexo y la enfermedad.

Tabla 14. Individuos incluidos en el estudio GSE132903. Se muestran distribuidos por sexo y enfermedad.

GSE132903	Mujeres	Hombres	Total
Control	48	50	98
Alzheimer	48	49	97
Total	96	99	195

Tanto el análisis de agrupamiento (Anexo I, Figura A.20) como el PCA (Anexo I, Figura A.21) mostraron la ausencia de agrupación de las muestras en función del grupo experimental.

A partir de las matrices de expresión normalizadas se describió la cantidad de individuos por sexo y enfermedad (Control o Alzheimer) en cada uno de los 9 estudios finalmente incluidos (Figura 9). Cabe destacar que todas las muestras de cada estudio fueron obtenidas y analizadas de manera postmortem.

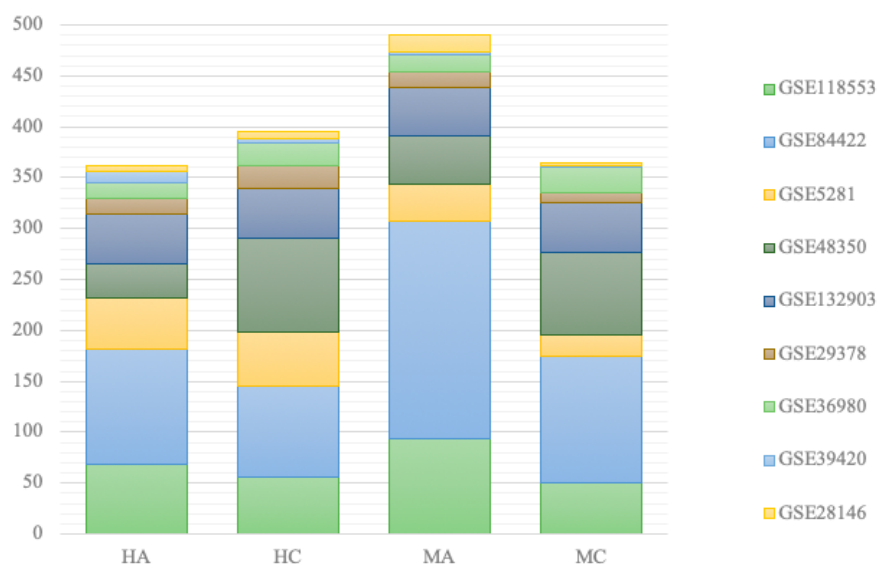


Figura 9. Número de pacientes en cada estudio. Se presentan distribuidos por sexo y por enfermedad en 4 grupos: HA (Hombre Alzheimer), HC (Hombre Control), MA (Mujer Alzheimer), MC (Mujer Control).

5.3.2. Análisis de expresión diferencial

La Tabla 15 muestra el número de genes diferencialmente expresados en cada estudio (p-valor ajustado por BH < 0.05) para la comparación de interés anteriormente descrita (Ecuación 1). Los resultados se muestran agrupados en *UP* si el logaritmo de la magnitud de cambio (logFC) es mayor a 0, o en *DOWN* si el logFC es menor a 0.

Tabla 15. Resumen del resultado del análisis de expresión diferencial. Se realizó el análisis para la comparación de interés, (MA - MC) - (HA - HC) (MA = Mujer Alzheimer, MC = Mujer Control, HA = Hombre Alzheimer, HC = Hombre Control).

Estudio	Genes totales	Genes significativos		
		UP	DOWN	
GSE5281	20962	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE28146	20962	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE29378	17974	UP	1	2
		DOWN	1	
GSE36980	20044	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE39420	20044	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE48350	20962	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE84422	12990	UP	126	294
		DOWN	168	
GSE118553	21201	UP	0	0
		DOWN	0	
GSE132903	17213	UP	0	0
		DOWN	0	

5.3.3. Análisis de enriquecimiento funcional

Los resultados referentes a los términos GO para la comparación de interés (Ecuación 1) se resumen en la Tabla 16, mostrando las funciones significativas (p-valor ajustado por BH < 0.05).

Además, se encuentran agrupadas según su LOR, de forma que están etiquetadas como *UP* si están sobrerrepresentadas en mujeres y como *DOWN* si están sobrerrepresentadas en hombres.

Tabla 16. Resumen del resultado del análisis de enriquecimiento funcional. Se realizó el análisis para la comparación de interés, (MA - MC) - (HA - HC) (MA = Mujer Alzheimer, MC = Mujer Control, HA = Hombre Alzheimer, HC = Hombre Control).

Estudio	Funciones totales	Funciones significativas		
		UP	DOWN	Total
GSE5281	8298	131	1108	1239
GSE28146	8298	0	37	37
GSE29378	8217	301	116	417
GSE36980	8368	259	1014	1273
GSE39420	8368	715	157	872
GSE48350	8298	233	1306	1539
GSE84422	7779	119	1037	1156
GSE118553	8396	39	97	136
GSE132903	8031	301	116	417

5.3.4. Metaanálisis

El metaanálisis funcional se realizó para tres categorías diferentes de términos GO: proceso biológico (PB), función molecular (FM) y componente celular (CC). Los resultados se muestran en la Tabla 17 y se observa como, en general, se encontró una sobrerrepresentación de los diferentes rangos de términos GO en hombres (p-valor ajustado por BH < 0.05).

Tabla 17. Resumen de los PB, FM y CC significativos en el metaanálisis. Se encuentran agrupadas según su LOR, de forma que están etiquetadas como UP si están sobrerrepresentadas en mujeres y como DOWN si están sobrerrepresentadas en hombres.

Términos GO PB significativos			Términos GO FM significativos			Términos GO CC significativos		
UP	DOWN	Total	UP	DOWN	Total	UP	DOWN	Total
6	65	71	4	57	62	4	54	58

Términos GO para procesos biológicos

En la Tabla 17 se resumen los resultados obtenidos para el metaanálisis de los términos GO PB realizado con la aplicación web *MetaFun*. Se mostraron 6 términos GO significativamente sobrerrepresentados en mujeres y 65 en hombres. La Tabla 18 muestra un extracto de estos términos GO significativos. La totalidad de los términos GO PB significativos, junto con sus estimadores de la medida del efecto e indicadores de la heterogeneidad, se pueden encontrar en el Anexo II, Tabla B.1.

Tabla 18. Selección de términos GO PB significativos en el metaanálisis. Se muestran los estimadores de la medida del efecto y los indicadores de la heterogeneidad.

ID	Nombre	LI95%	LOR	LS95%
GO:0002478	<i>antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen</i>	-0.807	-0.728	-0.650
GO:0006457	<i>protein folding</i>	-0.662	-0.555	-0.447
GO:0009615	<i>response to virus</i>	-0.551	-0.467	-0.383
GO:0016579	<i>protein deubiquitination</i>	-0.615	-0.527	-0.438
GO:0045047	<i>protein targeting to ER</i>	-0.958	-0.822	-0.686
GO:0099003	<i>vesicle-mediated transport in synapse</i>	-0.513	-0.358	-0.202
GO:0099504	<i>synaptic vesicle cycle</i>	-0.506	-0.389	-0.272
GO:0061687	<i>detoxification of inorganic compound</i>	0.481	0.456	2.430
GO:0050906	<i>detection of chemical stimulus involved in sensory perception</i>	0.025	0.466	0.906

ID	QE	QEp	SE	τ^2	I2	H2
GO:0002478	0.873	0.832	0.040	0	0	1
GO:0006457	7.001	0.072	0.055	0.007	57.151	2.334
GO:0009615	0.577	0.447	0.043	0	0	1
GO:0016579	0.223	0.637	0.045	0	0	1
GO:0045047	0.158	0.691	0.069	0	0	1
GO:0099003	6.976	0.031	0.079	0.013	71.328	3.488
GO:0099504	3.714	0.156	0.060	0.005	46.155	1.857
GO:0061687	9.137	0.003	0.497	0.441	89.055	9.137
GO:0050906	43.754	3.72E-11	0.225	0.099	97.715	43.754

Dada la gran cantidad de procesos biológicos significativos que se encontraron, se resumieron en REViGO (Supek, Bošnjak, Škunca, & Šmuc, 2011). Se observó que los procesos biológicos significativos en mujeres (LOR >0) tienen relación con la detoxificación de compuestos inorgánicos y con la detección de estímulos químicos envueltos en la percepción sensorial, como el olfato. Además, en hombre se ha encontrado una mayor representación de términos relacionados con el procesamiento de antígenos, señalización de proteínas al retículo

endoplasmático (RE), el plegamiento y la desubiquitinización de proteínas, la respuesta a virus y el transporte mediado por vesículas en la sinapsis, entre otros.

Términos GO para funciones moleculares

En la Tabla 17 se resumen los resultados obtenidos para el metaanálisis de los términos GO FM realizado con la aplicación web *MetaFun*. Se mostraron 4 términos GO significativamente sobrerrepresentados en mujeres y 57 en hombres. La Tabla 19 muestra un extracto de estos términos GO significativos. La totalidad de los términos GO PB significativos, junto con sus estimadores de la medida del efecto e indicadores de la heterogeneidad, se pueden encontrar en el Anexo II, Tabla B.2.

Tabla 19. Selección de términos GO FM significativos en el metaanálisis. Se muestran los estimadores de la medida del efecto y los indicadores de la heterogeneidad.

ID	Nombre	LI95%	LOR	LS95%
GO:0003924	<i>GTPase activity</i>	-0.456	-0.372	-0.287
GO:0005516	<i>calmodulin binding</i>	-0.299	-0.198	-0.098
GO:0005525	<i>GTP binding</i>	-0.410	-0.356	-0.301
GO:0044389	<i>ubiquitin-like protein ligase binding</i>	-0.404	-0.315	-0.227
GO:0051082	<i>unfolded protein binding</i>	-0.721	-0.593	-0.465
GO:0051087	<i>chaperone binding</i>	-0.630	-0.502	-0.374
GO:0044389	<i>ubiquitin-like protein ligase binding</i>	-0.404	-0.315	-0.227
GO:0005516	<i>calmodulin binding</i>	-0.299	-0.198	-0.098
GO:0003707	<i>steroid hormone receptor activity</i>	0.410	0.592	0.775
GO:0005201	<i>extracellular matrix structural constituent</i>	0.258	0.351	0.444

ID	QE	QEp	SE	τ^2	I2	H2
GO:0003924	6.269	0.099	0.043	0.004	52.146	2.090
GO:0005516	0.006	0.939	0.051	0	0	1
GO:0005525	1.282	0.733	0.028	0	0	1
GO:0044389	11.876	0.018	0.045	0.007	66.318	2.969
GO:0051082	5.608	0.132	0.065	0.008	1.869	46.507
GO:0051087	2.476	0.290	0.065	0.002	1.238	19.235
GO:0044389	11.876	0.018	0.045	0.007	66.318	2.969
GO:0005516	0.006	0.939	0.051	0	0	1
GO:0003707	0.894	0.344	0.093	0	0	1
GO:0005201	4.143	0.246	0.048	0.003	27.585	1.381

De la misma manera que ocurrió anteriormente, los términos GO FM significativos fueron muy numerosos, por lo que se resumieron en REViGO. Se pudo observar que los procesos biológicos significativos en mujeres (LOR >0) tienen relación con la actividad del receptor de

la hormona esteroidea y con constituyentes estructurales de la matriz extracelular. Además, en hombre se ha encontrado una mayor representación de términos relacionados con la unión a GTP, la actividad GTPasa, el enlace ubiquitín-proteín ligasa, la unión a proteínas mal plegadas o la unión a la calmodulina.

Términos GO para componentes celulares

En la Tabla 17 se resumen los resultados obtenidos para el metaanálisis de los términos GO CC realizado con la aplicación web *MetaFun*. Se mostraron 4 términos GO significativamente sobrerrepresentados en mujeres y 54 en hombres. La Tabla 20 muestra un extracto de estos términos GO significativos. La totalidad de los términos GO CC significativos, junto con sus estimadores de la medida del efecto e indicadores de la heterogeneidad, se pueden encontrar en el Anexo II, Tabla B.3.

Tabla 20. Selección de términos GO CC significativos en el metaanálisis. Se muestran los estimadores de la medida del efecto y los indicadores de la heterogeneidad.

ID	Nombre	LI95%	LOR	LS95%
GO:0000151	<i>ubiquitin ligase complex</i>	-0.415	-0.345	-0.276
GO:0005759	<i>mitochondrial matrix</i>	-0.708	-0.322	0.276
GO:0008021	<i>synaptic vesicle</i>	-0.416	-0.350	-0.284
GO:0042611	<i>MHC protein complex</i>	-1.697	-1.220	-0.744
GO:0042613	<i>MHC class II protein complex</i>	-1.949	-1.300	-0.65
GO:0044455	<i>mitochondrial membrane part</i>	-0.704	-0.604	-0.505
GO:0005882	<i>ciliary part</i>	0.181	0.283	0.386
GO:0044441	<i>intermediate filament</i>	0.224	0.291	0.358

ID	QE	QEp	SE	τ^2	I2	H2
GO:0000151	1.895	0.388	0.035	0	0	1
GO:0005759	327.885	0	0.251	0.25	99.085	109.295
GO:0008021	2.558	0.634	0.034	0	0	1
GO:0042611	8.75	0.013	0.243	0.137	77.142	4.375
GO:0042613	3.223	0.073	0.331	0.152	68.976	3.223
GO:0044445	1.156	0.282	0.051	0.001	13.518	1.156
GO:0005882	0.249	0.618	0.052	0	0	1
GO:0044441	0.515	0.473	0.034	0	0	1

Los términos GO CC significativos fueron muy numerosos, por lo que se resumieron en REViGO. Se vio que los procesos biológicos significativos en mujeres (LOR >0) tienen relación con los filamentos intermedios y la parte ciliar. Además, en hombre se ha encontrado una mayor representación de términos relacionados con las vesículas sinápticas y de transporte celular, con la parte citosólica, con el complejo ubiquitín-ligasa, los complejos proteicos MHC I y MHCII y con la membrana mitocondrial, entre otros.

6. Discusión

La enfermedad de Alzheimer presenta diferencias a nivel de prevalencia, incidencia y conductuales en hombres y mujeres (Gao, Hendrie, Hall, & Hui, 1998; J. Lee, Lee, & Kim, 2017), al igual que otras muchas patologías como las enfermedades autoinmunes o algunos tipos de cáncer. No obstante, los mecanismos moleculares que producen estas diferencias todavía son desconocidos. Con este trabajo hemos caracterizado las diferencias de sexo en Alzheimer, observando diferencias en los procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares que se encuentran sobrerrepresentados en ambos sexos, mostrando diferencias en el patrón de neurodegeneración de una manera dependiente del sexo del paciente.

En el metaanálisis funcional para los términos GO asociados a procesos biológicos hemos detectado un aumento de los procesos relacionados con detoxificación de compuestos orgánicos (Tabla 18). Esta función, representada por el ID GO:0061687, hace referencia a cualquier proceso encargado de reducir la toxicidad producida por diferentes compuestos inorgánicos, como puede ser la proteína beta-amiloide o la proteína tau (Gaugler et al., 2016).

Por otro lado, existe también una sobrerrepresentación de los términos GO:0007606, GO:0007608, GO:0009593, GO:0050911, GO:0050906 y GO: 0050907, que hacen referencia a la detección de estímulos químicos implicados en la percepción sensorial, como puede ser el olfato. Existen numerosos estudios que respaldan la pérdida de olfato progresiva a medida que se produce el avance de la EA, ya que se necesita de la memoria para reconocer olores y el olfato es una vía perfecta para que sustancias neuroinflamatorias accedan al cerebro a través de la barrera hematoencefálica. Sin embargo, se sabe también que los agregados de proteína beta-amiloide se pueden acumular en la mucosa olfativa de los pacientes con EA, produciendo una respuesta de reconstrucción y de proliferación de las células de esta mucosa para intentar paliar los daños, acabando en atrofia (Bathini, Brai, & Auber, 2019).

En cuanto a las funciones moleculares (Tabla 19), en mujeres cabe destacar la sobrerrepresentación de la actividad del receptor de hormonas esteroideas (GO:0003707). Como bien se sabe, la caída repentina de estrógenos durante la menopausia es un factor de riesgo para el desarrollo de la EA. Esto se debe a que las hormonas esteroideas actúan como modulador del estrés oxidativo producido por la proteína beta-amiloide, disminuyendo su producción en las neuronas corticales; además de modular la neuroinflamación (Barron, Fuller,

Verdile, & Martins, 2006). No obstante, existe bibliografía que documenta que la regulación del receptor de este tipo de hormonas sigue estando regulado a pesar de la existencia de neurotóxicos (Marin et al., 2003).

Por otro lado, se ha observado que sus efectos beneficiosos como terapia dependen de la edad de inicio del tratamiento, el tipo y la fase de la menopausia en la que se encuentra la paciente (Rocca et al., 2011).

Además, se ha encontrado una sobrerrepresentación de los constituyentes estructurales de la matriz extracelular (GO:0005201). Esto coincide con numerosos estudios que, mediante análisis inmunohistoquímico, han encontrado una sobreexpresión de los niveles de colágeno IV, fibronectina y perlecano (Lepelletier, Mann, Robinson, Pinteaux, & Boutin, 2017). La matriz extracelular provee a la célula de un scaffold bioquímico esencial para mantener la elasticidad y la estructura, representando un componente necesario para la supervivencia y funcionalidad de las células. Estas alteraciones encontradas en pacientes con EA resultan en un estrechamiento de la microvasculatura y de las membranas basales de las células cerebrales, produciendo a su vez disfunciones en la barrera hematoencefálica.

Por último, haciendo referencia a los términos GO relacionados con componentes celulares (Tabla 20), se ha observado una sobrerrepresentación de los filamentos intermedios (GO:0044441), de los cuales se sabe que, al igual que otros componentes del citoesqueleto, están asociados a algunas patologías cerebrales. En el caso de la EA, esta relación yace en la hiperfosforilación de la proteína Tau, lo que afecta a las cargas de esta. Este cambio produce una interacción entre Tau y los filamentos intermedios de las neuronas promoviendo su co-alineamiento, haciendo que Tau se ensamble entre ellos y formando un agregado que impide la funcionalidad de esta parte estructural de la célula (Kounakis & Tavernarakis, 2019).

En cuanto a los resultados obtenidos en hombres, se observa una mayor actividad que en mujeres en cuanto al tráfico vesicular y al reciclado de proteínas. Esto indica que en mujeres existe una peor funcionalidad de los sistemas de eliminación de proteínas, como el sistema ubiquitín-proteasoma, la autofagia mediada por lisosomas e incluso la interacción de las chaperonas con ellos; los cuales son esenciales para eliminar el exceso de proteínas neurotóxicas que conducen a la progresión de la EA (Boland et al., 2018).

Otra diferencia notable es la menor activación, en mujeres, de los complejos proteicos MHC I y MHC II. Las células de la microglia presentan antígenos, por medio de dichos complejos, contra las proteínas b-amiloide y Tau para conseguir la infiltración de linfocitos en el tejido cerebral. Esta activación puede conllevar efectos neurotóxicos, si el fenotipo de la microglia es M1, o efectos neuroprotectivos si es M2 (Das & Chinnathambi, 2019). Se sabe que este cambio fenotípico depende de la edad y del estadio de la enfermedad, pero no hay estudios a cerca de si existe diferencia entre sexos, lo que podría resultar interesante a la hora de enfocar nuevas terapias.

A pesar de estas diferencias, las mujeres están infrarrepresentadas, como norma general, en la investigación biomédica (Kim, Tingen, & Woodruff, 2010), siendo numerosos los estudios que no incorporan la variable sexo en sus diseños. Es esencial que la investigación biomédica adopte esta perspectiva diferencial, de igual manera que lo es el análisis de resultados dependiente del sexo, ya que existen diferencias que aportan información sobre biomarcadores que varían en función de este o sobre terapias y la respuesta a medicamentos (Kim et al., 2010).

La falta de concienciación en la comunidad científica sobre la relevancia de incluir una muestra representativa de ambos sexos y/o la incorporación de dicha variable únicamente como característica clínica del paciente, conlleva una escasez de estudios en las bases de datos que dispongan de datos de expresión génica que contengan esta información. Además, sumando a la falta de estandarización común de los datos se dificulta la reutilización y el análisis. Por ello, teniendo en cuenta que esta escasez de estandarización es un problema que afecta a la comunidad científica en su totalidad, los expertos han propuesto los principios *Findable, Accesible, Interoperable, Reusable* (FAIR) (Wilkinson et al., 2016). Debido a todo esto, se han tenido que integrar una gran diversidad de estudios con objetivos igual de diversos, realizados en plataformas diferentes y sin una nomenclatura estandarizada en sus metadatos.

Para abordar las diferencias de sexo en la Enfermedad de Alzheimer se realizó un metaanálisis, que permitió realizar un análisis conjunto de los estudios disponibles incrementando el poder estadístico de los resultados, mejorando la precisión y respondiendo preguntas que mediante un análisis individual no serían posibles (García, 2016). Esta metodología nos ha permitido combinar los conjuntos de datos de los diferentes estudios y generar información que no se hubiera podido obtener de otra manera.

7. Conclusiones

1. El metaanálisis en estudios transcriptómicos es un método robusto que nos permite combinar datos procedentes de distintos estudios a partir de una revisión sistemática exhaustiva, generando información relevante en Biomedicina.
2. Se ha detectado, en mujeres, una sobrerrepresentación de procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares relacionados con componentes de la matriz extracelular, previamente asociados con la progresión de la enfermedad.
3. Se ha descrito la sobrerrepresentación, en hombres, de términos relacionados con el transporte vesicular, el reciclado de proteínas y la activación de la microglía cerebral, los cuales se saben que tienen un papel fundamental en la lucha contra la progresión de la enfermedad.
4. El uso de herramientas web como *MetaFun*, confirman la necesidad de disponer de recursos bioinformáticos, accesibles, potentes y de fácil empleo para la realización de metaanálisis de datos ómicos para la caracterización de las diferencias de sexo.
5. La realización de esta estrategia *in silico*, hace posible la detección de diferencias debidas al sexo, abriendo nuevas perspectivas que permitan incrementar la precisión en el diagnóstico y mejorar las opciones de tratamiento en el marco de la Medicina Personalizada y de Precisión.

Bibliografía

- Agüero-Torres, H., Fratiglioni, L., Guo, Z., Viitanen, M., & Winblad, B. (1998). Prognostic Factors in Very Old Demented Adults: A Seven-Year Follow-Up From a Population-Based Survey in Stockholm. *Journal of the American Geriatrics Society*, 46(4), 444–452. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1998.tb02464.x>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015). *Molecular Biology of the Cell* (6th editio). New York: Garland Science.
- Alzheimer's Association. (2020). Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's Dement*, 16(3), 391+.
- Alzheimer's Disease International. (2019). World Alzheimer Report 2019. Attitudes to dementia. In *Alzheimer's Disease International*. London: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10814-4_23
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition*. Washington, DC: American Psychiatric Publishing.
- Antonell, A., Lladó, A., Almirall, J., Botta-Orfila, T., Balasa, M., Fernández, M., ... Molinuevo, J. L. (2013). A preliminary study of the whole-genome expression profile of sporadic and monogenic early-onset Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 34(7), 1772–1778. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.12.026>
- Apostolova, L. G. (2016). Alzheimer Disease. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 22(2, Dementia), 419–434. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000307>
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., ... Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), 25–29. <https://doi.org/10.1038/75556>
- Astarita, G., Jung, K. M., Berchtold, N. C., Nguyen, V. Q., Gillen, D. L., Head, E., ... Piomelli, D. (2010). Deficient liver biosynthesis of docosahexaenoic acid correlates with cognitive impairment in Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 5(9), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012538>
- Barrett, T., Wilhite, S. E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I. F., Tomashevsky, M., ... Soboleva, A. (2012). NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D991–D995. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>
- Barron, A. M., Fuller, S. J., Verdile, G., & Martins, R. N. (2006). Reproductive Hormones Modulate Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*,

- 8(11–12), 2047–2059. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.2047>
- Bathini, P., Brai, E., & Auber, L. A. (2019). Olfactory dysfunction in the pathophysiological continuum of dementia. *Ageing Research Reviews*, 55(July), 100956. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100956>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of The Royal Statistic Society*, 57(1), 289–300.
- Berchtold, N. C., Coleman, P. D., Cribbs, D. H., Rogers, J., Gillen, D. L., & Cotman, C. W. (2013). Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in normal human aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 34(6), 1653–1661. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.11.024>
- Berchtold, N. C., Cribbs, D. H., Coleman, P. D., Rogers, J., Head, E., Kim, R., ... Cotman, C. W. (2008). Gene expression changes in the course of normal brain aging are sexually dimorphic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), 15605–15610. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806883105>
- Blair, L. J., Nordhues, B. A., Hill, S. E., Scaglione, K. M., O'Leary, J. C., Fontaine, S. N., ... Dickey, C. A. (2013). Accelerated neurodegeneration through chaperone-mediated oligomerization of tau. *Journal of Clinical Investigation*, 123(10), 4158–4169. <https://doi.org/10.1172/JCI69003>
- Blalock, E. M., Buechel, H. M., Popovic, J., Geddes, J. W., & Landfield, P. W. (2011). Microarray analyses of laser-captured hippocampus reveal distinct gray and white matter signatures associated with incipient Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 42(2), 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2011.06.007>
- Blalock, E. M., Geddes, J. W., Chen, K. C., Porter, N. M., Markesbery, W. R., & Landfield, P. W. (2004). Incipient Alzheimer's disease: Microarray correlation analyses reveal major transcriptional and tumor suppressor responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(7), 2173–2178. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308512100>
- Boland, B., Yu, W. H., Corti, O., Mollereau, B., Henriques, A., Bezard, E., ... Millan, M. J. (2018). Promoting the clearance of neurotoxic proteins in neurodegenerative disorders of ageing. *Nature Reviews Drug Discovery*, 17(9), 660–688. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.109>
- Brosseron, F., Krauthausen, M., Kummer, M., & Heneka, M. T. (2014). Body Fluid Cytokine Levels in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: a Comparative Overview. *Molecular Neurobiology*, 50(2), 534–544. <https://doi.org/10.1007/s12035->

014-8657-1

- Carlin, J. B. (1999). Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine*, 18, 321–359. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(20000315\)19:5<753::AID-SIM427>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(20000315)19:5<753::AID-SIM427>3.0.CO;2-F)
- Cribbs, D. H., Berchtold, N. C., Perreau, V., Coleman, P. D., Rogers, J., Tenner, A. J., & Cotman, C. W. (2012). Extensive innate immune gene activation accompanies brain aging, increasing vulnerability to cognitive decline and neurodegeneration: A microarray study. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-179>
- Crick, F. (1970). Central Dogma of Molecular Biology. *Nature*, 227(5258), 561–563. <https://doi.org/10.1038/227561a0>
- Das, R., & Chinnathambi, S. (2019). Microglial priming of antigen presentation and adaptive stimulation in Alzheimer's disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(19), 3681–3694. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03132-2>
- DerSimonian, R., & Laird, N. (1986). Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials*, 7(3), 177–188. [https://doi.org/10.1016/0197-2456\(86\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2)
- Doménech-Sánchez, A., & Vila, J. (2004). Fundamento, tipos y aplicaciones de los arrays de ADN en la microbiología médica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(1), 46–54. <https://doi.org/10.1157/13056692>
- Filon, J. R., Intorcchia, A. J., Sue, L. I., Vazquez Arreola, E., Wilson, J., Davis, K. J., ... Serrano, G. E. (2016). Gender differences in Alzheimer disease: Brain atrophy, histopathology burden, and cognition. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 75(8), 748–754. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlw047>
- Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M., & Wilcock, G. K. (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 66(2), 137–147. <https://doi.org/10.1136/jnnp.66.2.137>
- Gao, S., Hendrie, H. C., Hall, K. S., & Hui, S. (1998). The Relationships Between Age, Sex, and the Incidence of Dementia and Alzheimer Disease. *Archives of General Psychiatry*, 55(9), 809. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.55.9.809>
- García, F. (2016). Métodos de análisis de enriquecimiento funcional en estudios genómicos. Retrieved from <http://roderic.uv.es/handle/10550/55208>
- Gaugler, J., James, B., Johnson, T., Scholz, K., & Weuve, J. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 12(4), 459–509. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>
- Glass, G. V. (1976). Primary, Secondary, and Meta-Analysis of Research. *Educational*

- Researcher*, 5(10), 3. <https://doi.org/10.2307/1174772>
- Gouras, G. K. (2014). Dementia. In *Reference Module in Biomedical Sciences* (pp. 1–6). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00159-8>
- Grant, G. R., Manduchi, E., & Stoeckert, C. J. (2007). Analysis and Management of Microarray Gene Expression Data. *Current Protocols in Molecular Biology*, 77(1), 1–30. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1906s77>
- Guerchet, M., & Prince, M. (2018). Dementia. In *Neuroepidemiology in Tropical Health* (pp. 155–165). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804607-4.00012-5>
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeve, E., Majounie, E., ... Hardy, J. (2013). TREM2 variants in Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 368(2), 117–127. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211851.TREM2>
- Hebert, L. E., Scherr, P. A., McCann, J. J., Beckett, L. A., & Evans, D. A. (2001). Is the Risk of Developing Alzheimer's Disease Greater for Women than for Men? *American Journal of Epidemiology*, 153(2), 132–136. <https://doi.org/10.1093/aje/153.2.132>
- Hokama, M., Oka, S., Leon, J., Ninomiya, T., Honda, H., Sasaki, K., ... Nakabeppu, Y. (2014). Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: The Hisayama study. *Cerebral Cortex*, 24(9), 2476–2488. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht101>
- Hunting, P. (2015). Alois Alzheimer (1864–1915). *Journal of Medical Biography*, 23(4), 238–239. <https://doi.org/10.1177/0967772015589881>
- Im, H.-I. (2019). Molecular and Cellular Substrates of Neuroinflammation in Alzheimer Disease and Depression. *International Neuropsychology Journal*, 23(Suppl 2), S51-52. <https://doi.org/10.5213/inj.1920edi.008>
- Jonsson, T., Hreinn, S., Steinberg, S., Jonsdottir, I., Jonsson, P. V., Snaedal, J., ... Lah, J. J. (2013). Variant of TREM2 associated with the risk of AD. *New England Journal of Medicine*, 368(2), 107–116. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211103.Variant>
- Kametani, F., & Hasegawa, M. (2018). Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 12(JAN). <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00025>
- Kanehisa, M. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
- Kim, A. M., Tinggen, C. M., & Woodruff, T. K. (2010). Sex bias in trials and treatment must end. *Nature*, 465(7299), 688–689. <https://doi.org/10.1038/465688a>
- Kim, S., Kim, M. J., Kim, S., Kang, H. S., Lim, S. W., Myung, W., ... Kim, D. K. (2015).

- Gender differences in risk factors for transition from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: A CREDOS study. *Comprehensive Psychiatry*, 62, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2015.07.002>
- Kishi, T., Matsunaga, S., Oya, K., Nomura, I., Ikuta, T., & Iwata, N. (2017). Memantine for Alzheimer's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 60(2), 401–425. <https://doi.org/10.3233/JAD-170424>
- Kolesnikov, N., Hastings, E., Keays, M., Melnichuk, O., Tang, Y. A., Williams, E., ... Brazma, A. (2015). ArrayExpress update—simplifying data submissions. *Nucleic Acids Research*, 43(D1), D1113–D1116. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1057>
- Kounakis, K., & Tavernarakis, N. (2019). The Cytoskeleton as a Modulator of Aging and Neurodegeneration. In P. . Guest (Ed.), *Reviews on Biomarker Studies in Aging and Anti-Aging Research* (pp. 227–245). Springer Nature Switzerland AG.
- Lachen-Montes, M., Zelaya, M. V., Segura, V., Fernández-Irigoyen, J., & Santamaría, E. (2017). Progressive modulation of the human olfactory bulb transcriptome during Alzheimer's disease evolution: Novel insights into the olfactory signaling across proteinopathies. *Oncotarget*, 8(41), 69663–69679. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18193>
- Lee, J., Lee, K. J., & Kim, H. (2017). Gender differences in behavioral and psychological symptoms of patients with Alzheimer's disease. *Asian Journal of Psychiatry*, 26, 124–128. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.027>
- Lee, K. S., Chung, J. H., Choi, T. K., Suh, S. Y., Oh, B. H., & Hong, C. H. (2009). Peripheral Cytokines and Chemokines in Alzheimer's Disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 28(4), 281–287. <https://doi.org/10.1159/000245156>
- Lepelletier, F.-X., Mann, D. M. A., Robinson, A. C., Pinteaux, E., & Boutin, H. (2017). Early changes in extracellular matrix in Alzheimer's disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 43(2), 167–182. <https://doi.org/10.1111/nan.12295>
- Liang, W. S., Dunckley, T., Beach, T. G., Grover, A., Mastroeni, D., Ramsey, K., ... Stephan, D. A. (2008). Altered neuronal gene expression in brain regions differentially affected by Alzheimer's disease: a reference data set. *Physiological Genomics*, 33(2), 240–256. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00242.2007>
- Liang, W. S., Dunckley, T., Beach, T. G., Grover, A., Mastroeni, D., Walker, D. G., ... Stephan, D. A. (2007). Gene expression profiles in anatomically and functionally distinct regions of the normal aged human brain. *Physiological Genomics*, 28(3), 311–322. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00208.2006>

- Liang, W. S., Reiman, E. M., Valla, J., Dunckley, T., Beach, T. G., Grover, A., ... Stephan, D. A. (2008). Alzheimer's disease is associated with reduced expression of energy metabolism genes in posterior cingulate neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(11), 4441–4446.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0709259105>
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P. A., ... Moher, D. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Medicine*, *6*(7), e1000100.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000100>
- Maglott, D., Ostell, J., Pruitt, K. D., & Tatusova, T. (2011). Entrez Gene: gene-centered information at NCBI. *Nucleic Acids Research*, *39*(Database), D52–D57.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkq1237>
- Malmierca, P. (2019). *MetaFun: Herramienta web para la integración y caracterización de estudios ómicos con técnicas de metaanálisis*.
- Malpetti, M., Ballarini, T., Presotto, L., Garibotto, V., Tettamanti, M., & Perani, D. (2017). Gender differences in healthy aging and Alzheimer's Dementia: A 18 F-FDG-PET study of brain and cognitive reserve. *Human Brain Mapping*, *38*(8), 4212–4227.
<https://doi.org/10.1002/hbm.23659>
- Mantzavinos, V., & Alexiou, A. (2017). Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Current Alzheimer Research*, *14*(11), 1149–1154.
<https://doi.org/10.2174/1567205014666170203125942>
- Manzoni, C., Kia, D. A., Vandrovцова, J., Hardy, J., Wood, N. W., Lewis, P. A., & Ferrari, R. (2018). Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences. *Briefings in Bioinformatics*, *19*(2), 286–302.
<https://doi.org/10.1093/bib/bbw114>
- Marin, R., Guerra, B., Hernández-Jiménez, J.-G., Kang, X.-L., Fraser, J. ., López, F. ., & Alonso, R. (2003). Estradiol prevents amyloid- β peptide-induced cell death in a cholinergic cell line via modulation of a classical estrogen receptor. *Neuroscience*, *121*(4), 917–926. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00464-0](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00464-0)
- Miller, J. A., Woltjer, R. L., Goodenbour, J. M., Horvath, S., & Geschwind, D. H. (2013). Genes and pathways underlying regional and cell type changes in Alzheimer's disease. *Genome Medicine*, *5*(5), 48. <https://doi.org/10.1186/gm452>
- Montaner, D., & Dopazo, J. (2010). Multidimensional Gene Set Analysis of Genomic Data.

- PLoS ONE*, 5(4), e10348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010348>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger. Principles of Biochemistry*. (W.H. Freeman, Ed.) (7th edn). New Yoek.
- Piras, I. S., Krate, J., Delvaux, E., Nolz, J., Mastroeni, D. F., Persico, A. M., ... Combs, C. (2019). Transcriptome Changes in the Alzheimer's Disease Middle Temporal Gyrus: Importance of RNA Metabolism and Mitochondria-Associated Membrane Genes. *Journal of Alzheimer's Disease*, 70(3), 691–713. <https://doi.org/10.3233/JAD-181113>
- Qiu, C., Kivipelto, M., & von Strauss, E. (2009). Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(2), 111–128. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19585947>
- R Core Team. (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rao, J. S., Kellom, M., Kim, H.-W., Rapoport, S. I., & Reese, E. A. (2012). Neuroinflammation and Synaptic Loss. *Neurochemical Research*, 37(5), 903–910. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0708-2>
- Readhead, B., Haure-Mirande, J.-V., Funk, C. C., Richards, M. A., Shannon, P., Haroutunian, V., ... Dudley, J. T. (2018). Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular, Genetic, and Clinical Networks by Human Herpesvirus. *Neuron*, 99(1), 64-82.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.023>
- Rigden, D. J., & Fernández, X. M. (2019). The 26th annual Nucleic Acids Research database issue and Molecular Biology Database Collection. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D1–D7. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1267>
- Ritchie, M. E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C. W., Shi, W., & Smyth, G. K. (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, 43(7), e47–e47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- Rocca, W. A., Grossardt, B. R., & Shuster, L. T. (2011). Oophorectomy, menopause, estrogen treatment, and cognitive aging: Clinical evidence for a window of opportunity. *Brain Research*, 1379, 188–198. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.031>
- Safieh, M., Korczyn, A. D., & Michaelson, D. M. (2019). ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. *BMC Medicine*, 17(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1299-4>
- Sárvári, M., Hrabovszky, E., Kalló, I., Solymosi, N., Likó, I., Berchtold, N., ... Liposits, Z. (2012). Menopause leads to elevated expression of macrophage-associated genes in the

- aging frontal cortex: Rat and human studies identify strikingly similar changes. *Journal of Neuroinflammation*, 9, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-264>
- Scacchi, R., Gambina, G., Broggio, E., & Corbo, R. M. (2014). Sex and ESR1 genotype may influence the response to treatment with donepezil and rivastigmine in patients with Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 29(6), 610–615. <https://doi.org/10.1002/gps.4043>
- Schena, M. (1996). Genome analysis with gene expression microarrays. *BioEssays*, 18(5), 427–431. <https://doi.org/10.1002/bies.950180513>
- Šerý, O., Povová, J., Míšek, I., Pešák, L., & Janout, V. (2013). Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia Neuropathologica*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.5114/fn.2013.34190>
- Shao, W., Peng, D., & Wang, X. (2017). Genetics of Alzheimer's disease: From pathogenesis to clinical usage. *Journal of Clinical Neuroscience*, 45, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.06.074>
- Šimić, G., Babić Leko, M., Wray, S., Harrington, C., Delalle, I., Jovanov-Milošević, N., ... Hof, P. R. (2016). Tau protein hyperphosphorylation and aggregation in alzheimer's disease and other tauopathies, and possible neuroprotective strategies. *Biomolecules*, 6(1), 2–28. <https://doi.org/10.3390/biom6010006>
- Snyder, E. M., Nong, Y., Almeida, C. G., Paul, S., Moran, T., Choi, E. Y., ... Greengard, P. (2005). Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- β . *Nature Neuroscience*, 8(8), 1051–1058. <https://doi.org/10.1038/nn1503>
- Supek, F., Bošnjak, M., Škunca, N., & Šmuc, T. (2011). REVIGO Summarizes and Visualizes Long Lists of Gene Ontology Terms. *PLoS ONE*, 6(7), e21800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021800>
- Swardfager, W., Lanctôt, K., Rothenburg, L., Wong, A., Cappell, J., & Herrmann, N. (2010). A Meta-Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*, 68(10), 930–941. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.012>
- Tan, M. G., Chua, W. T., Esiri, M. M., Smith, A. D., Vinters, H. V., & Lai, M. K. (2010). Genome wide profiling of altered gene expression in the neocortex of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience Research*, 88(6), 1157–1169. <https://doi.org/10.1002/jnr.22290>
- Tanzi, R. E. (2005). The synaptic A β hypothesis of Alzheimer disease. *Nature Neuroscience*, 8(8), 977–979. <https://doi.org/10.1038/nn0805-977>
- Tellechea, P., Pujol, N., Esteve-Belloc, P., Echeveste, B., García-Eulate, M. R., Arbizu, J.,

- & Riverol, M. (2018). Enfermedad de Alzheimer de inicio precoz y de inicio tardío: ¿son la misma entidad? *Neurología*, *33*(4), 244–253.
<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.08.002>
- Tönnies, E., & Trushina, E. (2017). Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *57*(4), 1105–1121.
<https://doi.org/10.3233/JAD-161088>
- Toodayan, N. (2016). Professor Alois Alzheimer (1864–1915): Lest we forget. *Journal of Clinical Neuroscience*, *31*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.12.032>
- Tschanz, J. T., Corcoran, C. D., Schwartz, S., Treiber, K., Green, R. C., Norton, M. C., ... Lyketsos, C. G. (2011). Progression of Cognitive, Functional, and Neuropsychiatric Symptom Domains in a Population Cohort With Alzheimer Dementia: The Cache County Dementia Progression Study. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, *19*(6), 532–542. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e3181faec23>
- Tukey, J. W. (1962). The Future of Data Analysis. *The Annals of Mathematical Statistics*, *33*(1), 1–67.
- Ungar, L., Altmann, A., & Greicius, M. D. (2014). Apolipoprotein E, gender, and Alzheimer's disease: an overlooked, but potent and promising interaction. *Brain Imaging and Behavior*, *8*(2), 262–273. <https://doi.org/10.1007/s11682-013-9272-x>
- Wang, M., Roussos, P., McKenzie, A., Zhou, X., Kajiwara, Y., Brennand, K. J., ... Zhang, B. (2016). Integrative network analysis of nineteen brain regions identifies molecular signatures and networks underlying selective regional vulnerability to Alzheimer's disease. *Genome Medicine*, *8*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0355-3>
- Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, *10*(1), 57–63.
<https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Wilkinson, M. D., Dumontier, M., Aalbersberg, Ij. J., Appleton, G., Axton, M., Baak, A., ... Mons, B. (2016). The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Scientific Data*, *3*(1), 160018. <https://doi.org/10.1038/sdata.2016.18>
- Xu, W., Tan, L., Wang, H.-F., Jiang, T., Tan, M.-S., Tan, L., ... Yu, J.-T. (2015). Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *86*(12). <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-310548>
- Yadav, S. P. (2007). The wholeness in suffix -omics, -omes, and the word om. *Journal of Biomolecular Techniques*, *18*(5), 277.

A. ANEXO I – Figuras

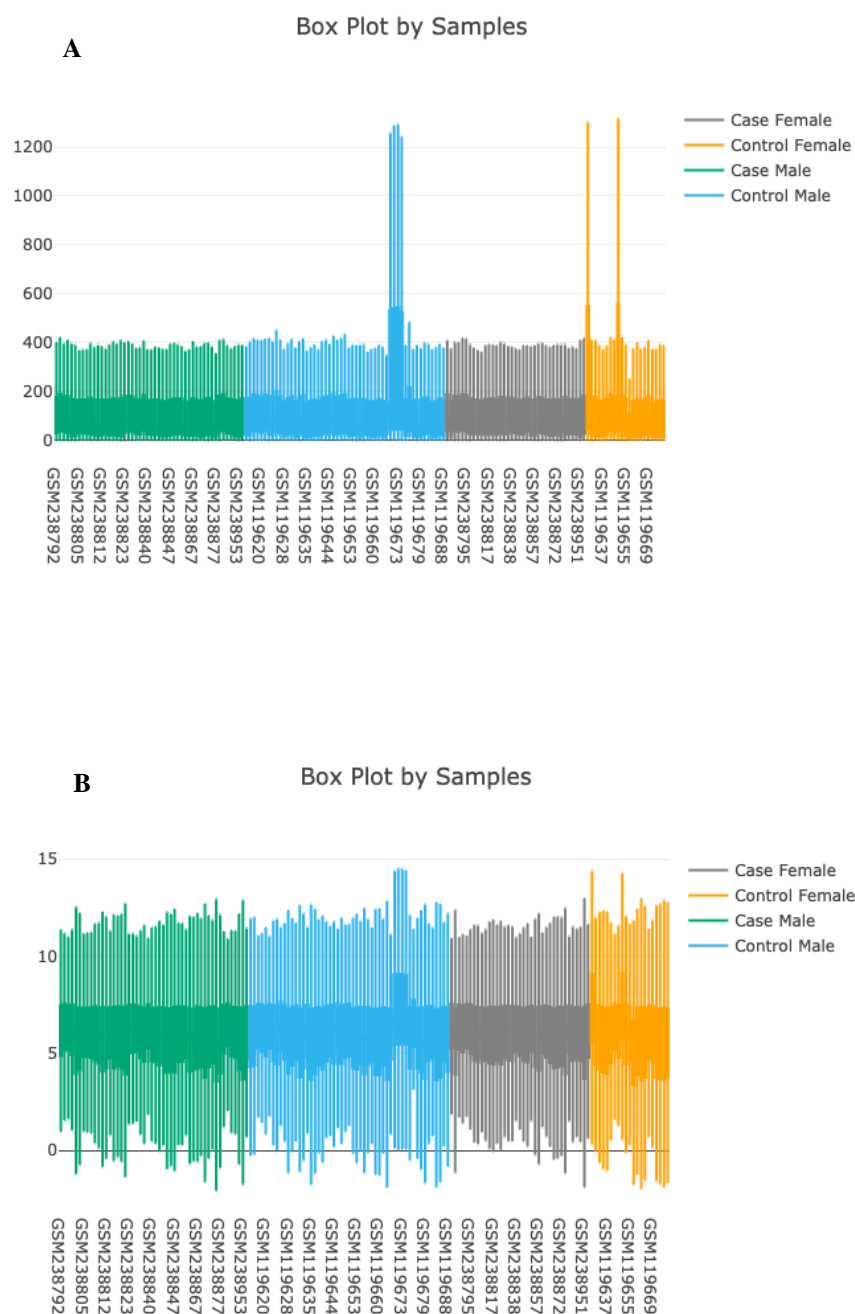


Figura A. 1. Diagrama de cajas de las muestras del estudio GSE5281. Las muestras están normalizadas antes (A) y después (B) de la eliminación de los outliers GSM119673, GSM119637 y GSM11655.

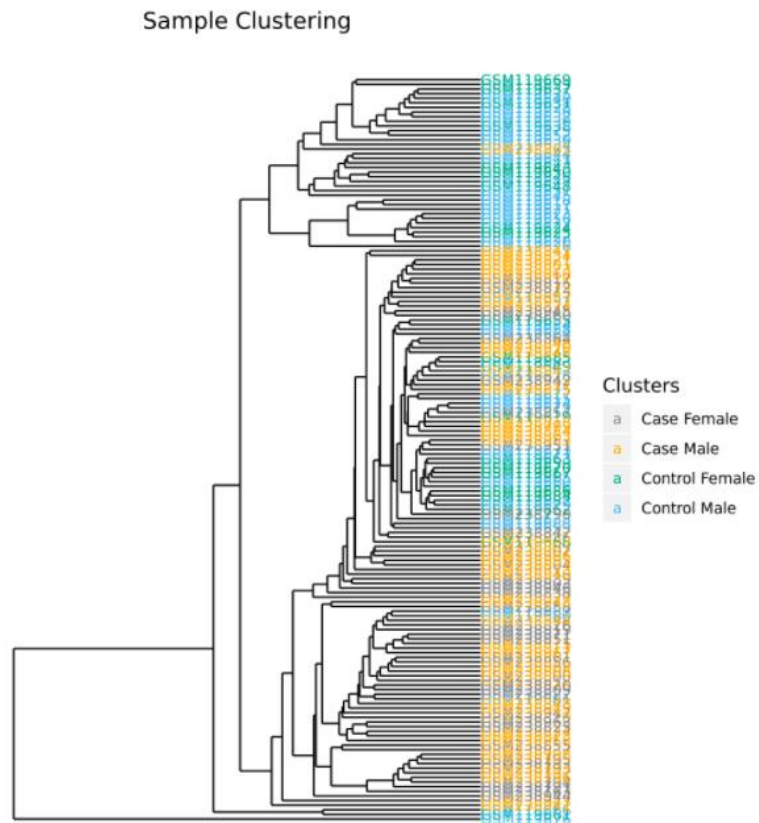


Figura A. 2. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE5281 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

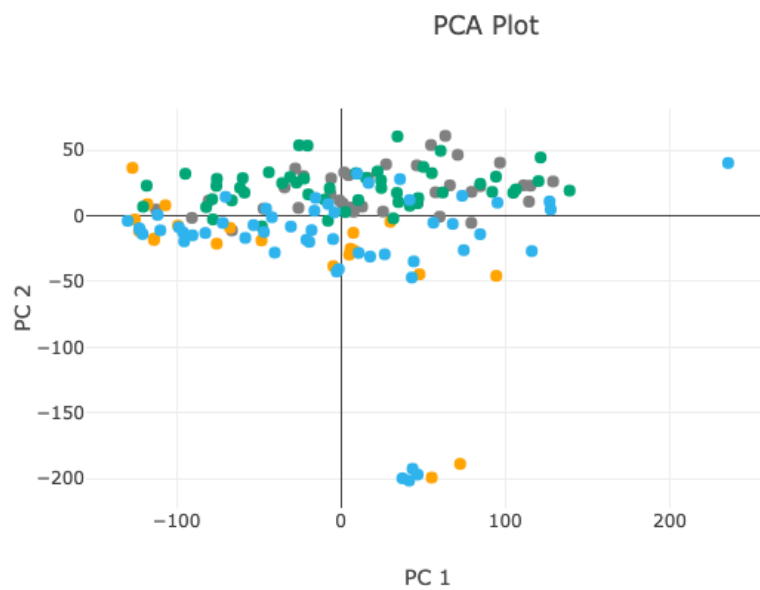


Figura A.3. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE5281. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

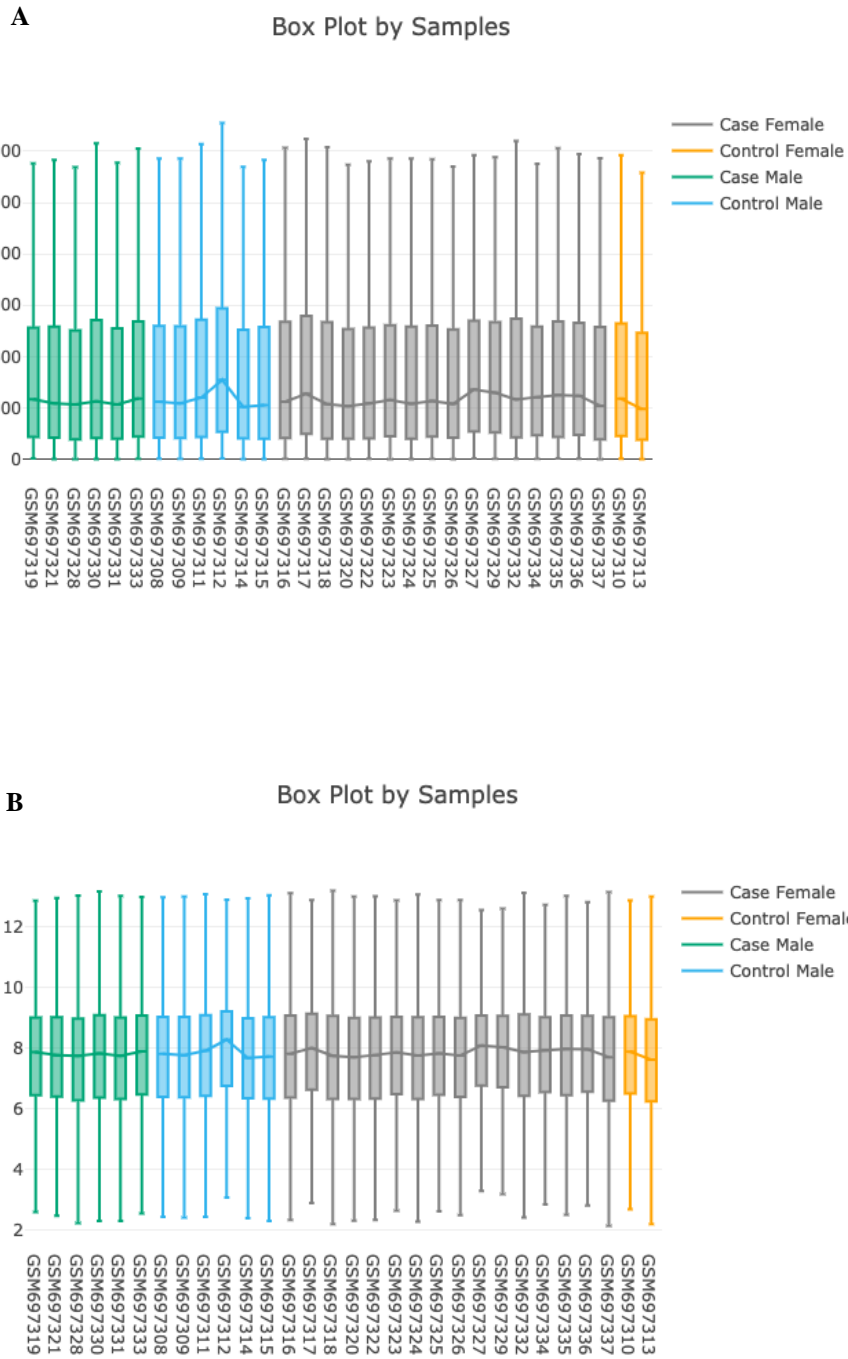


Figura A.4. Diagrama de cajas de las muestras del estudio GSE28146. Las muestras están normalizadas antes (A) y después (B) de hacer el logaritmo en base 2 de la matriz de expresión

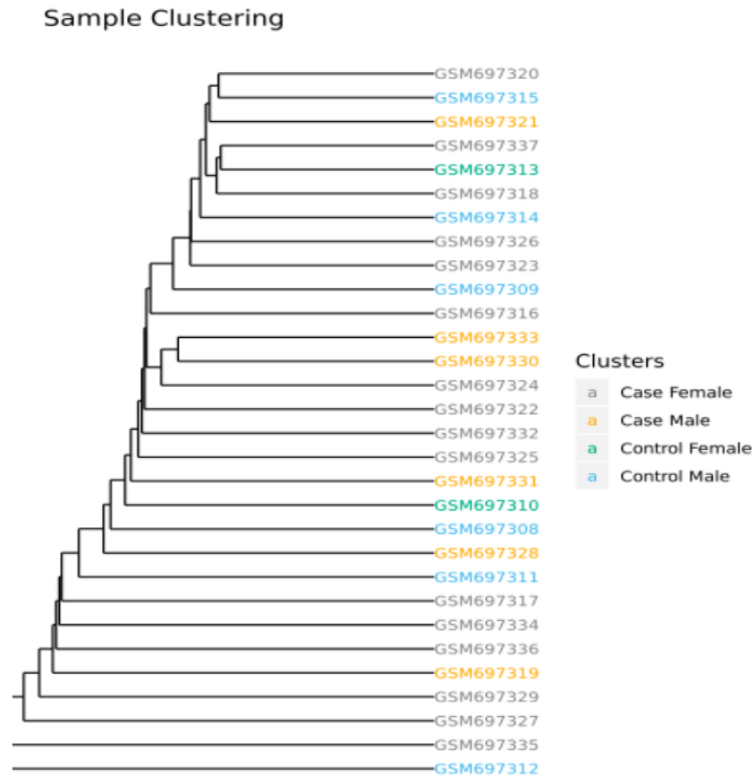


Figura A.5. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE28146 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

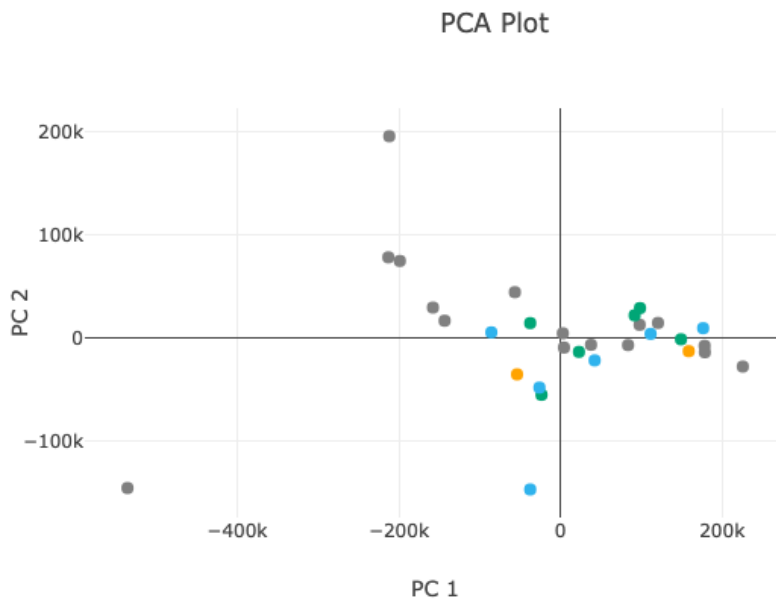


Figura A.6. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE28146. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

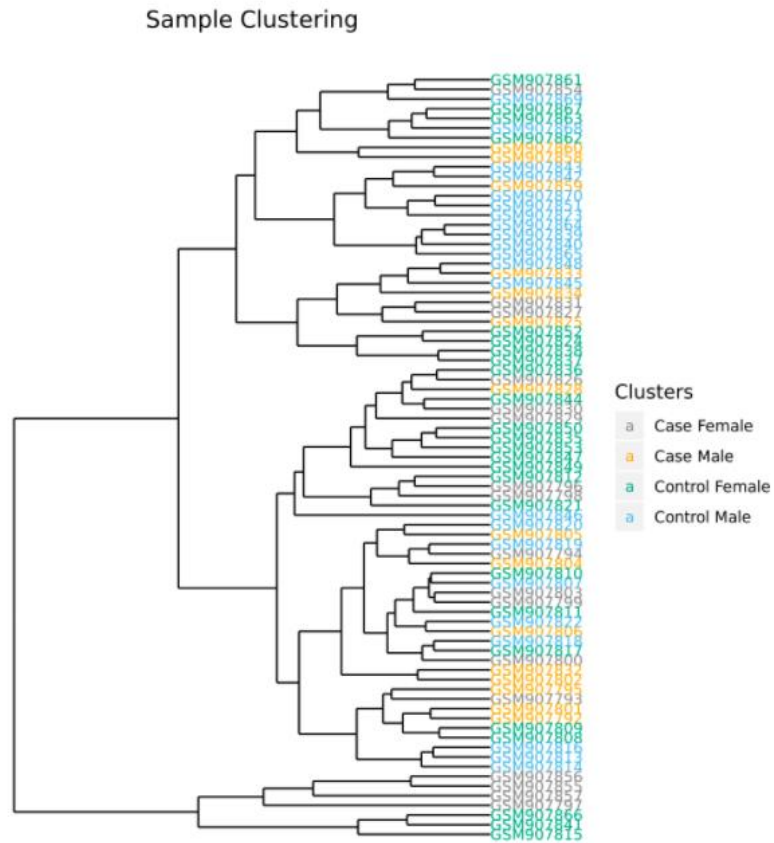


Figura A.8. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE29378 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

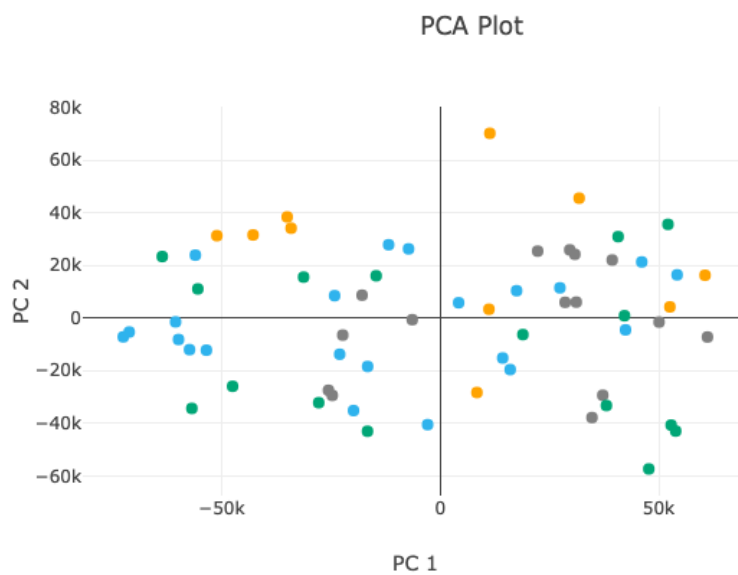


Figura A.9. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE29378. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

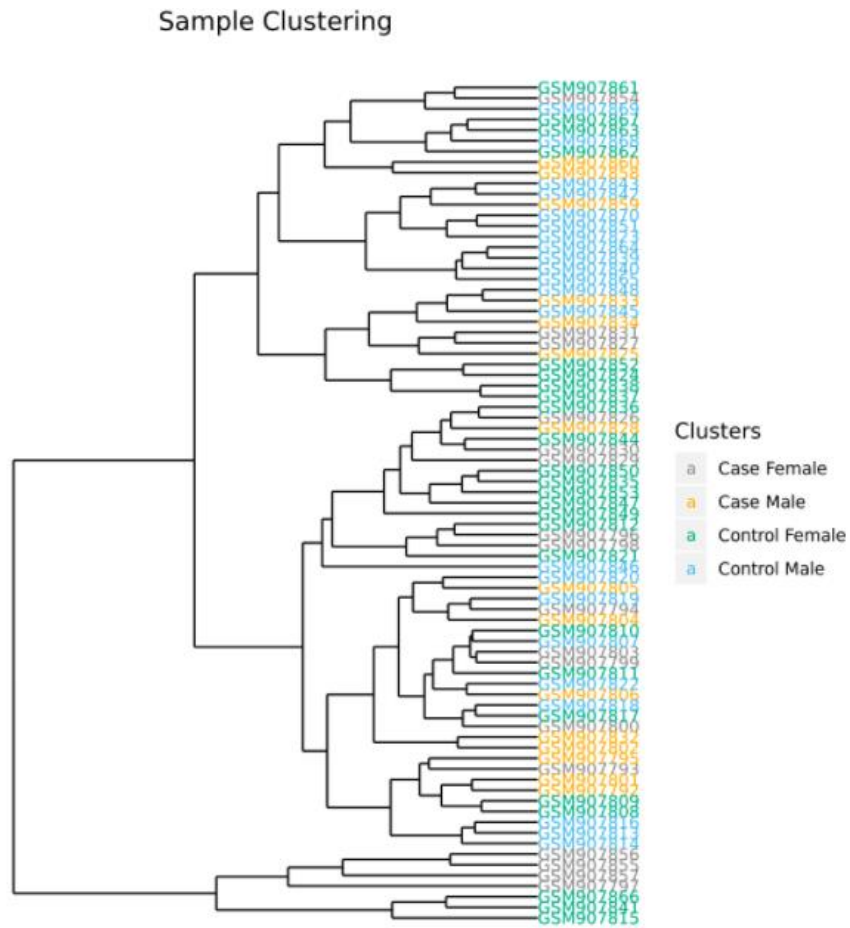


Figura A.10. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE36980 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

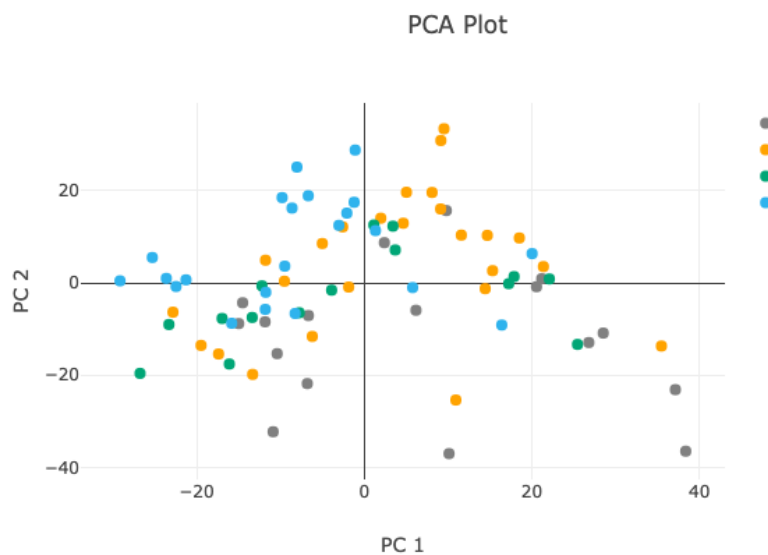


Figura A.11. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE36980. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

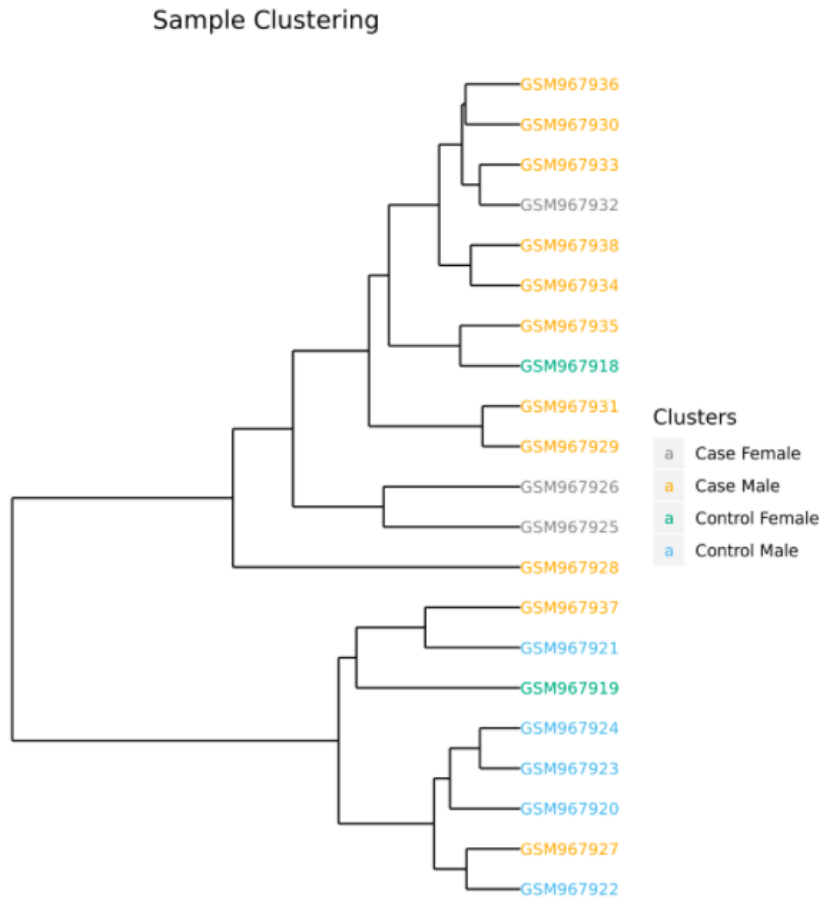


Figura A.12. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE39420 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

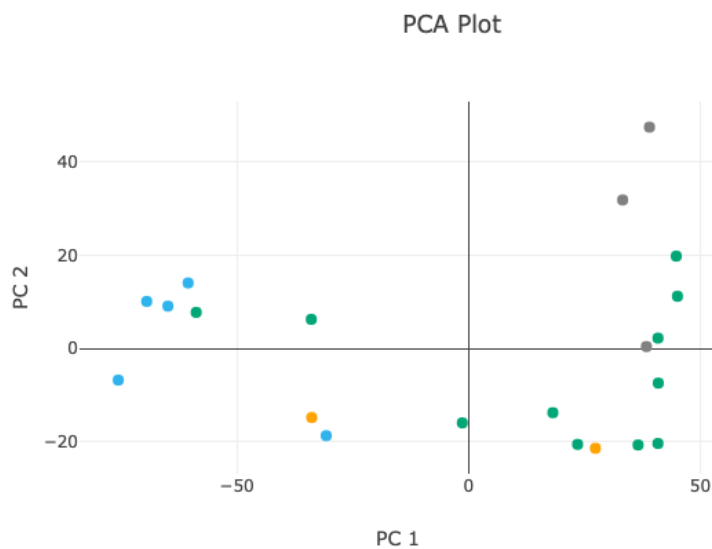


Figura A.13. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE39420. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde) Hombre control (azul).

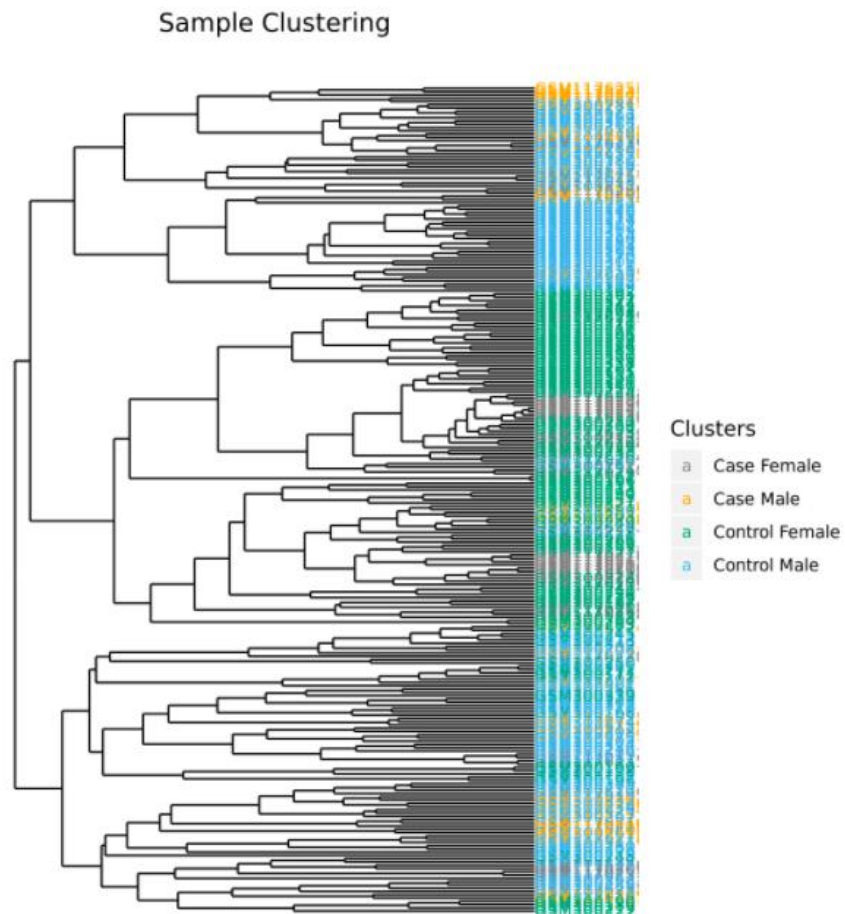


Figura A.14. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE48350 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

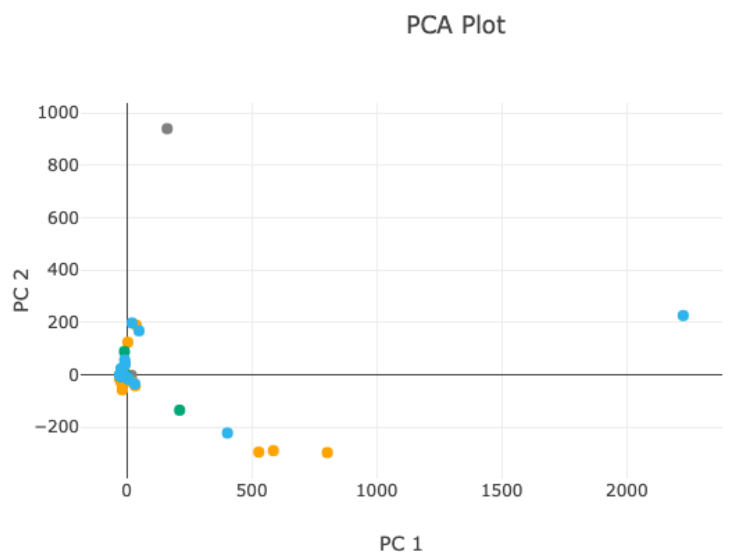


Figura A.15. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE48350. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

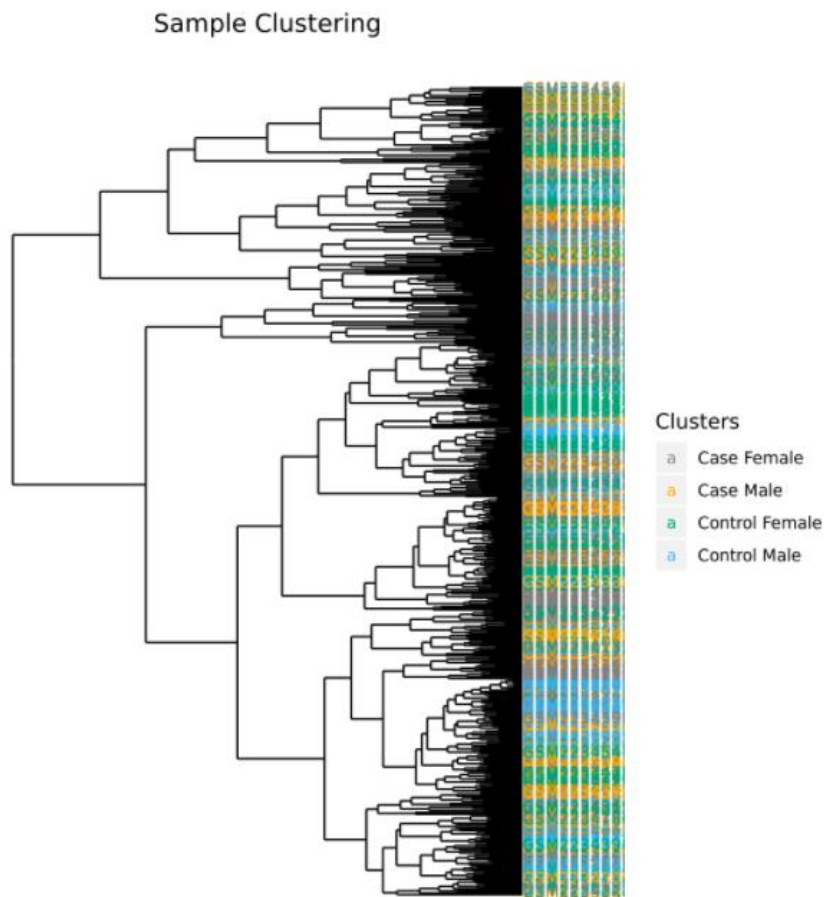


Figura A.16. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE84422 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

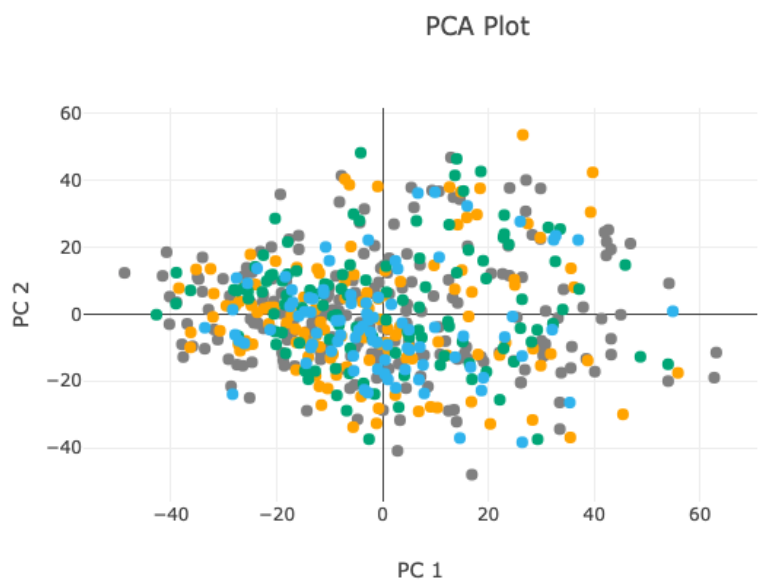


Figura A.17. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE84422. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

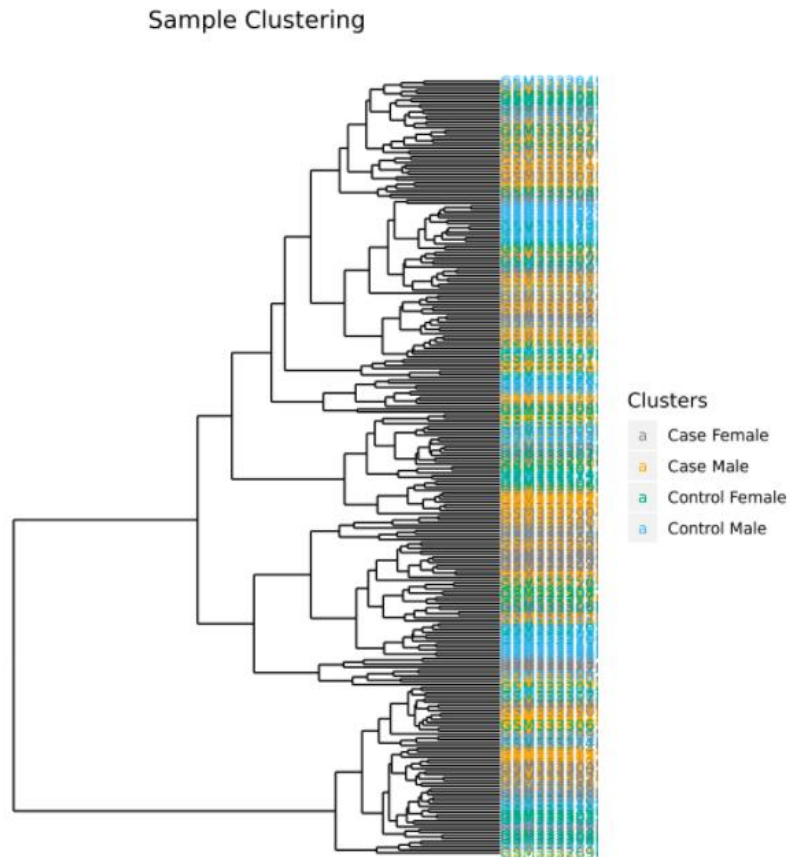


Figura A.18. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE118553 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

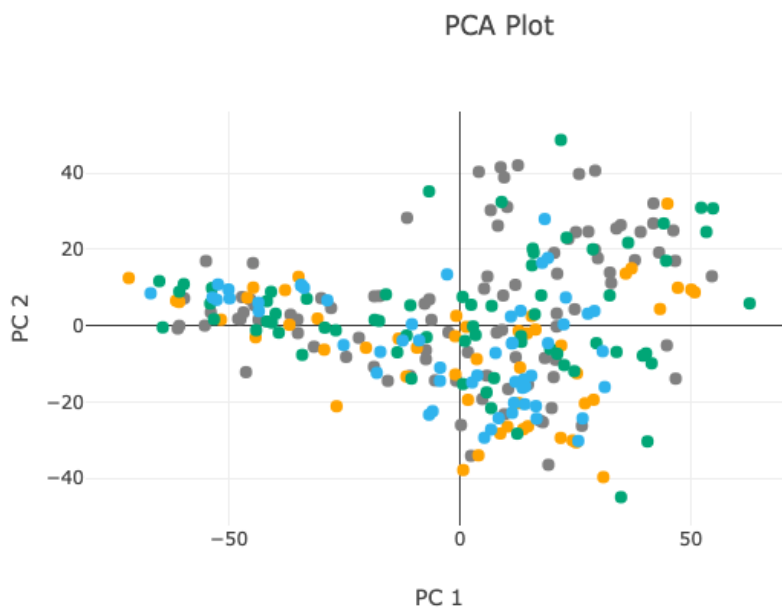


Figura A.19. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE118553. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

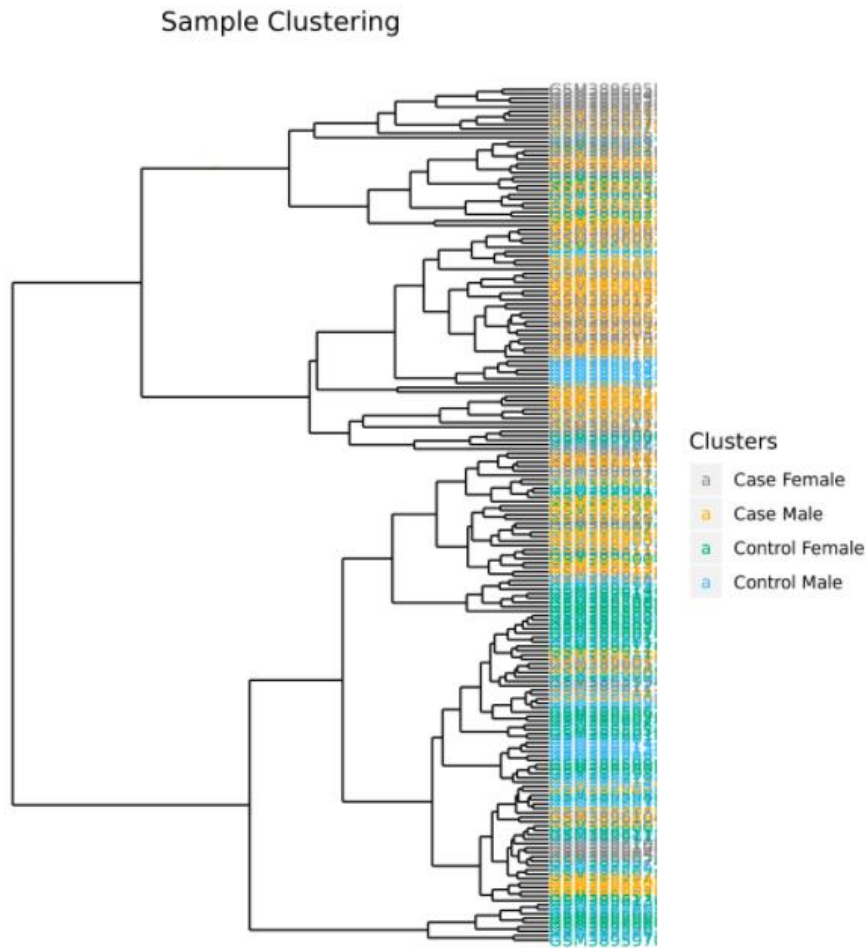


Figura A.20. Clustering exploratorio de las muestras del estudio GSE132903 mediante distancia de correlación. Las muestras se encuentran coloreadas según el grupo experimental al que pertenecen.

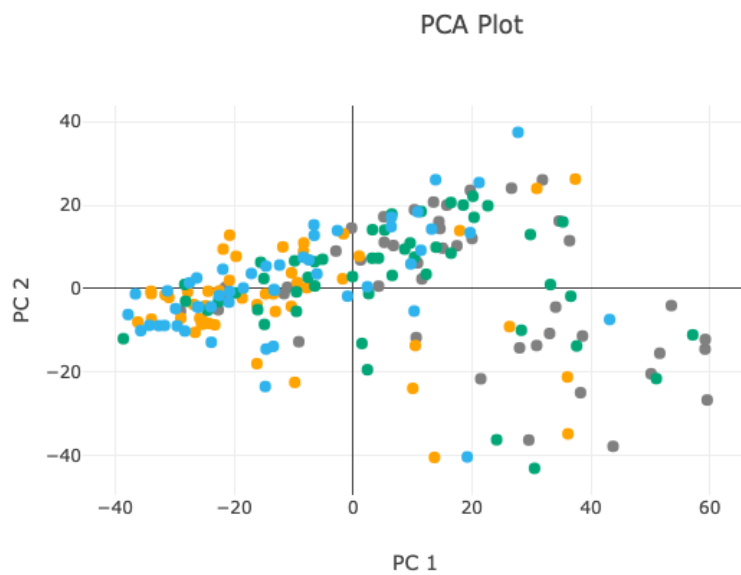


Figura A.21. Análisis de componentes principales de las muestras del estudio GSE132903. El color indica el grupo experimental al que pertenecen: Mujer caso (gris), Mujer control (amarillo), Hombre caso (verde), Hombre control (azul).

B. ANEXO II – Tablas

Tabla B.1. Términos GO PB significativos en el metaanálisis. Se muestra el p-valor ajustado por BH, el LOR y su intervalo de confianza al 95%.

ID	Nombre	p-valor	LOR	LI95%	LS95%
GO:0000209	<i>protein polyubiquitination</i>	0.020	-0.383	-0.705	-0.060
GO:0000375	<i>RNA splicing, via transesterification reactions</i>	3.91E-06	-0.326	-0.465	-0.188
GO:0000377	<i>RNA splicing, via transesterification reactions with bulged adenosine as nucleophile</i>	4.45E-10	-0.342	-0.449	-0.234
GO:0000398	<i>RNA exon ligation</i>	7.86E-06	-0.322	-0.464	-0.181
GO:0002218	<i>activation of innate immune response</i>	1.80E-23	-0.427	-0.511	-0.343
GO:0002283	<i>neutrophil activation involved in immune response</i>	1.39E-33	-0.411	-0.478	-0.344
GO:0002446	<i>neutrophil mediated immunity</i>	1.23E-33	-0.407	-0.473	-0.341
GO:0002474	<i>antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I</i>	7.33E-21	-0.905	-1.095	-0.716
GO:0002478	<i>antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen</i>	4.88E-74	-0.728	-0.807	-0.650
GO:0002479	<i>antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, TAP-dependent</i>	8.29E-10	-0.838	-1.106	-0.571
GO:0006364	<i>rRNA processing</i>	3.26E-05	-0.551	-0.810	-0.291
GO:0006397	<i>mRNA processing</i>	1.07E-04	-0.325	-0.489	-0.160
GO:0006399	<i>tRNA metabolic process</i>	2.47E-06	-0.398	-0.563	-0.232
GO:0006401	<i>RNA catabolic process</i>	2.35E-40	-0.490	-0.562	-0.418
GO:0006402	<i>mRNA catabolic process</i>	1.18E-37	-0.495	-0.570	-0.419
GO:0006413	<i>translational initiation</i>	9.17E-35	-0.661	-0.767	-0.556
GO:0006414	<i>translational elongation</i>	6.81E-32	-0.719	-0.839	-0.599
GO:0006415	<i>translational termination</i>	2.55E-30	-0.784	-0.918	-0.650
GO:0006457	<i>protein folding</i>	4.04E-24	-0.555	-0.662	-0.447
GO:0006605	<i>protein targeting</i>	1.21E-18	-0.489	-0.597	-0.380
GO:0006613	<i>cotranslational protein targeting to membrane</i>	4.78E-29	-0.812	-0.954	-0.670
GO:0006614	<i>SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane</i>	1.40E-27	-0.811	-0.958	-0.665
GO:0006986	<i>response to unfolded protein</i>	3.73E-05	-0.468	-0.690	-0.245
GO:0007606	<i>sensory perception of chemical stimulus</i>	0.049	0.461	0.002	0.921
GO:0008380	<i>RNA splicing</i>	4.16E-11	-0.338	-0.438	-0.237

GO:0009593	<i>detection of chemical stimulus</i>	0.048	0.458	0.005	0.911
GO:0009615	<i>response to virus</i>	8.17E-28	-0.467	-0.551	-0.383
GO:0010498	<i>proteasomal protein catabolic process</i>	1.68E-11	-0.359	-0.464	-0.254
GO:0016072	<i>rRNA metabolic process</i>	0.000	-0.508	-0.783	-0.232
GO:0016579	<i>protein deubiquitination</i>	1.89E-31	-0.527	-0.615	-0.438
GO:0019882	<i>antigen processing and presentation</i>	2.57E-59	-0.659	-0.739	-0.580
GO:0019884	<i>antigen processing and presentation of exogenous antigen</i>	2.30E-71	-0.698	-0.774	-0.621
GO:0022613	<i>ribonucleoprotein complex biogenesis</i>	9.85E-13	-0.446	-0.568	-0.323
GO:0031349	<i>positive regulation of defense response</i>	1.90E-27	-0.366	-0.432	-0.300
GO:0032543	<i>mitochondrial translation</i>	1.73E-34	-0.742	-0.861	-0.623
GO:0033238	<i>regulation of cellular amine metabolic process</i>	2.94E-24	-0.967	-1.153	-0.780
GO:0034248	<i>regulation of cellular amide metabolic process</i>	0.001	-0.279	-0.444	-0.113
GO:0034341	<i>response to interferon-gamma</i>	0.016	-0.508	-0.921	-0.096
GO:0034470	<i>ncRNA processing</i>	0.000	-0.384	-0.587	-0.180
GO:0034976	<i>response to endoplasmic reticulum stress</i>	6.79E-30	-0.490	-0.575	-0.406
GO:0035966	<i>RasGAP-Fyn-Lyn-Yes complex</i>	1.17E-07	-0.464	-0.635	-0.292
GO:0036230	<i>granulocyte activation</i>	8.88E-34	-0.406	-0.472	-0.340
GO:0038093	<i>Fc receptor signaling pathway</i>	1.05E-35	-0.544	-0.629	-0.458
GO:0042119	<i>neutrophil activation</i>	3.12E-34	-0.411	-0.477	-0.345
GO:0042254	<i>ribosome biogenesis</i>	0.001	-0.541	-0.861	-0.222
GO:0042590	<i>antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I</i>	6.76E-30	-0.962	-1.128	-0.796
GO:0043161	<i>proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process</i>	2.64E-14	-0.383	-0.481	-0.284
GO:0043312	<i>neutrophil degranulation</i>	2.06E-33	-0.411	-0.478	-0.344
GO:0043487	<i>regulation of RNA stability</i>	0.020	-0.430	-0.794	-0.067
GO:0043488	<i>regulation of mRNA stability</i>	0.020	-0.438	-0.807	-0.070
GO:0045047	<i>protein targeting to ER</i>	1.83E-32	-0.822	-0.958	-0.686
GO:0045088	<i>regulation of innate immune response</i>	2.11E-33	-0.436	-0.507	-0.365
GO:0045089	<i>positive regulation of innate immune response</i>	7.24E-26	-0.414	-0.491	-0.337
GO:0048002	<i>antigen processing and presentation of peptide antigen</i>	4.45E-75	-0.705	-0.781	-0.630
GO:0050906	<i>detection of stimulus involved in sensory perception</i>	0.038	0.466	0.025	0.906

GO:0050907	<i>detection of chemical stimulus involved in sensory perception</i>	0.039	0.502	0.026	0.978
GO:0051607	<i>defense response to virus</i>	5.07E-27	-0.543	-0.642	-0.444
GO:0051656	<i>establishment of organelle localization</i>	3.63E-09	-0.294	-0.392	-0.196
GO:0061687	<i>detoxification of inorganic compound</i>	0.003	1.456	0.481	2.430
GO:0070125	<i>mitochondrial translational elongation</i>	3.24E-30	-0.833	-0.975	-0.690
GO:0070126	<i>mitochondrial translational termination</i>	1.66E-27	-0.797	-0.941	-0.653
GO:0070498	<i>interleukin-1-mediated signaling pathway</i>	0.034	-0.631	-1.216	-0.047
GO:0070646	<i>protein modification by small protein removal</i>	6.45E-34	-0.532	-0.618	-0.446
GO:0070972	<i>protein localization to endoplasmic reticulum</i>	8.06E-35	-0.767	-0.889	-0.644
GO:0071346	<i>cellular response to interferon-gamma</i>	0.029	-0.466	-0.883	-0.049
GO:0072599	<i>establishment of protein localization to endoplasmic reticulum</i>	1.16E-33	-0.819	-0.952	-0.686
GO:0099003	<i>vesicle-mediated transport in synapse</i>	6.46E-06	-0.358	-0.513	-0.202
GO:0099504	<i>synaptic vesicle cycle</i>	7.07E-11	-0.389	-0.506	-0.272
GO:0140053	<i>mitochondrial gene expression</i>	1.39E-36	-0.703	-0.813	-0.594
GO:1903311	<i>regulation of mRNA metabolic process</i>	0.004	-0.350	-0.589	-0.112

Tabla B.2. Términos GO FM significativos en el metaanálisis. Se muestra el p-valor ajustado por BH, el LOR y su intervalo de confianza al 95%.

ID	Nombre	p-valor	LOR	LI95%	LS95%
GO:0000049	<i>tRNA binding</i>	1.30E-14	-0.613	-0.769	-0.457
GO:0001540	<i>amiloid-beta binding</i>	0.002	-0.421	-0.682	-0.161
GO:0001882	<i>nucleoside binding</i>	5.58E-37	-0.344	-0.397	-0.291
GO:0001883	<i>purine nucleoside binding</i>	7.14E-38	-0.352	-0.405	-0.298
GO:0003707	<i>steroid hormone receptor activity</i>	1.93E-10	0.592	0.410	0.775
GO:0003714	<i>transcription corepressor activity</i>	0.007	-0.242	-0.418	-0.067
GO:0003725	<i>double-stranded RNA binding</i>	8.95E-12	-0.522	-0.672	-0.372
GO:0003729	<i>mRNA binding</i>	2.19E-11	-0.244	-0.316	-0.173
GO:0003743	<i>translation initiation factor activity</i>	2.84E-12	-0.786	-1.007	-0.566
GO:0003924	<i>GTPase activity</i>	6.08E-18	-0.372	-0.456	-0.287
GO:0004386	<i>helicase activity</i>	1.32E-12	-0.398	-0.508	-0.288
GO:0004540	<i>ribonuclease activity</i>	6.40E-15	-0.438	-0.548	-0.328

GO:0004842	<i>ubiquitin-protein transferase activity</i>	3.83E-16	-0.248	-0.308	-0.188
GO:0004984	<i>olfactory receptor activity</i>	0.012	0.504	0.109	0.898
GO:0005201	<i>extracellular matrix structural constituent</i>	1.69E-13	0.351	0.258	0.444
GO:0005237	<i>inhibitory extracellular ligand-gated ion channel activity</i>	8.09E-11	-0.917	-1.194	-0.641
GO:0005516	<i>calmodulin binding</i>	0.000	-0.198	-0.299	-0.098
GO:0005525	<i>GTP binding</i>	6.84E-38	-0.356	-0.410	-0.301
GO:0008135	<i>translation factor activity, RNA binding</i>	3.28E-22	-0.643	-0.773	-0.513
GO:0008179	<i>adenylate cyclase binding</i>	0.000	-0.747	-1.132	-0.362
GO:0015036	<i>disulfide oxidoreductase activity</i>	1.13E-10	-0.728	-0.950	-0.507
GO:0015037	<i>peptide disulfide oxidoreductase activity</i>	5.11E-11	-1.133	-1.471	-0.795
GO:0016667	<i>oxidoreductase activity, acting on a sulfur group of donors</i>	7.04E-18	-0.695	-0.853	-0.537
GO:0016796	<i>exonuclease activity, active with either ribo- or deoxyribonucleic acids and producing 5'-phosphomonoesters</i>	6.89E-12	-0.651	-0.837	-0.465
GO:0016896	<i>exoribonuclease activity, producing 5'-phosphomonoesters</i>	1.02E-10	-0.745	-0.971	-0.519
GO:0019001	<i>guanyl nucleotide binding</i>	3.86E-34	-0.328	-0.380	-0.275
GO:0019003	<i>GDP binding</i>	1.42E-11	-0.583	-0.752	-0.414
GO:0019783	<i>ubiquitin-like protein-specific protease activity</i>	1.03E-12	-0.415	-0.529	-0.301
GO:0019787	<i>ubiquitin-like protein transferase activity</i>	1.13E-15	-0.242	-0.301	-0.183
GO:0019829	<i>ATPase-coupled cation transmembrane transporter activity</i>	5.86E-11	-0.495	-0.643	-0.347
GO:0019843	<i>rRNA binding</i>	1.97E-14	-0.723	-0.908	-0.538
GO:0019905	<i>syntaxin binding</i>	0.001	-0.407	-0.647	-0.166
GO:0022853	<i>active ion transmembrane transporter activity</i>	7.09E-11	-0.488	-0.635	-0.341
GO:0023026	<i>MHC class II protein complex binding</i>	6.51E-11	-1.359	-1.767	-0.951
GO:0031072	<i>heat shock protein binding</i>	2.36E-11	-0.455	-0.588	-0.321
GO:0031267	<i>small GTPase binding</i>	2.04E-06	-0.218	-0.308	-0.128
GO:0031625	<i>ubiquitin protein ligase binding</i>	8.93E-09	-0.321	-0.430	-0.211
GO:0032549	<i>ribonucleoside binding</i>	7.23E-39	-0.356	-0.410	-0.303
GO:0032550	<i>purine ribonucleoside binding</i>	1.53E-38	-0.357	-0.411	-0.303
GO:0032561	<i>guanyl ribonucleotide binding</i>	3.86E-34	-0.328	-0.380	-0.275

GO:0034237	<i>protein kinase A regulatory subunit binding</i>	0.000	-0.579	-0.894	-0.263
GO:0036459	<i>thiol-dependent ubiquitinyl hydrolase activity</i>	2.88E-05	-0.370	-0.543	-0.196
GO:0042605	<i>peptide antigen binding</i>	0.000	-0.951	-1.458	-0.445
GO:0042625	<i>ATPase-coupled ion transmembrane transporter activity</i>	7.09E-11	-0.488	-0.635	-0.341
GO:0043021	<i>ribonucleoprotein complex binding</i>	5.38E-31	-0.588	-0.688	-0.489
GO:0044389	<i>ubiquitin-like protein ligase binding</i>	2.93E-12	-0.315	-0.404	-0.227
GO:0044769	<i>ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, rotational mechanism</i>	1.46E-09	-0.809	-1.072	-0.547
GO:0045296	<i>cadherin binding</i>	1.38E-11	-0.272	-0.350	-0.193
GO:0048018	<i>receptor ligand activity</i>	0.007	0.193	0.053	0.333
GO:0051082	<i>unfolded protein binding</i>	1.17E-19	-0.593	-0.721	-0.465
GO:0051087	<i>chaperone binding</i>	1.68E-14	-0.502	-0.630	-0.374
GO:0051537	<i>2 iron, 2 sulfur cluster binding</i>	6.32E-07	-0.807	-1.125	-0.490
GO:0061631	<i>ubiquitin conjugating enzyme activity</i>	8.59E-10	-0.760	-1.002	-0.517
GO:0061650	<i>ubiquitin-like protein conjugating enzyme activity</i>	1.26E-07	-0.620	-0.850	-0.390
GO:0061659	<i>ubiquitin-like protein ligase activity</i>	0.000	-0.184	-0.278	-0.089
GO:0099095	<i>ligand-gated anion channel activity</i>	5.86E-12	-0.889	-1.143	-0.636
GO:0101005	<i>ubiquitinyl hydrolase activity</i>	2.88E-05	-0.370	-0.543	-0.196
GO:0140098	<i>catalytic activity, acting on RNA</i>	3.18E-18	-0.426	-0.522	-0.330
GO:0140101	<i>catalytic activity, acting on a tRNA</i>	2.24E-21	-0.408	-0.492	-0.323
GO:0140142	<i>nucleocytoplasmic carrier activity</i>	2.06E-10	-0.807	-1.056	-0.558

Tabla B.3. Términos GO CC significativos en el metaanálisis. Se muestra el p-valor ajustado por BH, el LOR y su intervalo de confianza al 95%.

ID	Nombre	p-valor	LOR	LI95%	LS95%
GO:0000151	<i>ubiquitin ligase complex</i>	1.39E-22	-0.345	-0.415	-0.276
GO:0000502	<i>proteasome complex</i>	4.66E-06	-0.915	-1.306	-0.523
GO:0005635	<i>nuclear envelope</i>	3.69E-13	-0.255	-0.323	-0.186
GO:0005643	<i>nuclear pore</i>	1.55E-07	-0.416	-0.572	-0.261
GO:0005681	<i>spliceosomal complex</i>	0.018	-0.388	-0.710	-0.066
GO:0005684	<i>U2-type spliceosomal complex</i>	6.82E-13	-0.682	-0.869	-0.496
GO:0005765	<i>lysosomal membrane</i>	2.16E-06	-0.364	-0.514	-0.213

GO:0005769	<i>early endosome</i>	2.58E-15	-0.322	-0.401	-0.242
GO:0005770	<i>late endosome</i>	1.72E-10	-0.322	-0.420	-0.223
GO:0005774	<i>vacuolar membrane</i>	1.71E-13	-0.340	-0.430	-0.249
GO:0005798	<i>Golgi-associated vesicle</i>	2.96E-14	-0.435	-0.548	-0.323
GO:0005802	<i>trans-Golgi network</i>	3.37E-08	-0.280	-0.379	-0.180
GO:0005838	<i>proteasome regulatory particle</i>	0.000	-1.226	-1.910	-0.541
GO:0005882	<i>intermediate filament</i>	6.08E-08	0.283	0.181	0.386
GO:0005930	<i>axoneme</i>	1.56E-08	0.370	0.242	0.499
GO:0008021	<i>synaptic vesicle</i>	2.57E-25	-0.350	-0.416	-0.284
GO:0008540	<i>proteasome regulatory particle, base subcomplex</i>	2.87E-06	-1.392	-1.975	-0.809
GO:0010008	<i>endosome membrane</i>	3.51E-21	-0.324	-0.391	-0.257
GO:0022624	<i>proteasome accessory complex</i>	1.28E-07	-1.191	-1.632	-0.749
GO:0022625	<i>cytosolic large ribosomal subunit</i>	8.32E-21	-0.843	-1.019	-0.666
GO:0022626	<i>cytosolic ribosome</i>	2.03E-24	-0.727	-0.867	-0.587
GO:0030117	<i>membrane coat</i>	1.45E-10	-0.494	-0.645	-0.343
GO:0030133	<i>transport vesicle</i>	5.20E-16	-0.304	-0.378	-0.231
GO:0030134	<i>COPII-coated ER to Golgi transport vesicle</i>	3.67E-15	-0.625	-0.781	-0.469
GO:0030135	<i>coated vesicle</i>	3.29E-10	-0.303	-0.398	-0.209
GO:0030139	<i>endocytic vesicle</i>	0.042	-0.348	-0.684	-0.013
GO:0030426	<i>growth cone</i>	0.007	-0.390	-0.674	-0.107
GO:0030427	<i>site of polarized growth</i>	0.011	-0.392	-0.692	-0.091
GO:0030658	<i>transport vesicle membrane</i>	5.04E-07	-0.318	-0.442	-0.194
GO:0030666	<i>endocytic vesicle membrane</i>	0.018	-0.501	-0.917	-0.085
GO:0030667	<i>secretory granule membrane</i>	2.05E-16	-0.371	-0.460	-0.283
GO:0030670	<i>phagocytic vesicle membrane</i>	0.000	-0.564	-0.848	-0.279
GO:0030672	<i>synaptic vesicle membrane</i>	7.06E-08	-0.383	-0.522	-0.244
GO:0030684	<i>preribosome</i>	1.69E-07	-0.761	-1.046	-0.476
GO:0031227	<i>intrinsic component of endoplasmic reticulum membrane</i>	2.30E-05	-0.395	-0.579	-0.212
GO:0032040	<i>small-subunit processome</i>	1.22E-14	-0.890	-1.116	-0.664
GO:0033267	<i>obsolete axon part</i>	0.002	-0.296	-0.481	-0.111
GO:0035770	<i>ribonucleoprotein granule</i>	1.43E-06	-0.236	-0.332	-0.140
GO:0036464	<i>cytoplasmic ribonucleoprotein granule</i>	1.93E-06	-0.239	-0.337	-0.141
GO:0042470	<i>melanosome</i>	2.47E-14	-0.547	-0.688	-0.407
GO:0042611	<i>MHC protein complex</i>	5.11E-07	-1.220	-1.697	-0.744
GO:0042613	<i>MHC class II protein complex</i>	8.75E-05	-1.300	-1.949	-0.650
GO:0042734	<i>presynaptic membrane</i>	2.64E-07	-0.296	-0.409	-0.183
GO:0043025	<i>neuronal cell body</i>	0.001	-0.224	-0.360	-0.088
GO:0043197	<i>dendritic spine</i>	2.79E-05	-0.229	-0.336	-0.122
GO:0044441	<i>obsolete ciliary part</i>	1.27E-17	0.291	0.224	0.358

GO:0044445	<i>obsolete cytosolic part</i>	9.31E-33	-0.604	-0.704	-0.505
GO:0045335	<i>phagocytic vesicle</i>	0.040	-0.459	-0.896	-0.021
GO:0048475	<i>coated membrane</i>	1.45E-10	-0.494	-0.645	-0.343
GO:0048770	<i>pigment granule</i>	2.47E-14	-0.547	-0.688	-0.407
GO:0062023	<i>collagen-containing extracellular matrix</i>	2.32E-11	0.238	0.168	0.308
GO:0070382	<i>exocytic vesicle</i>	6.89E-27	-0.348	-0.412	-0.285
GO:0071013	<i>catalytic step 2 spliceosome</i>	0.024	-0.438	-0.818	-0.059
GO:0071782	<i>endoplasmic reticulum tubular network</i>	7.67E-08	-0.791	-1.079	-0.503
GO:0098852	<i>lytic vacuole membrane</i>	1.78E-06	-0.364	-0.513	-0.215
GO:0099501	<i>exocytic vesicle membrane</i>	7.06E-08	-0.383	-0.522	-0.244
GO:1905368	<i>peptidase complex</i>	0.036	-0.522	-1.010	-0.034
GO:1905369	<i>endopeptidase complex</i>	3.42E-06	-0.909	-1.293	-0.525