

## RESUMEN

El sistema nervioso central (SNC) integra funciones motoras, sensoriales y autónomas. Su disfunción da lugar diversos trastornos neurológicos, cuyo inicio y progresión están influidos por múltiples factores, incluidas características del huésped. Esta tesis tiene como objetivo contribuir a la caracterización molecular de las enfermedades del SNC con dos perspectivas complementarias: la identificación de los mecanismos diferenciales por sexo en la esclerosis múltiple (EM) y el análisis de cómo la caracterización de la EM, junto con otras enfermedades neurodegenerativas, proporciona información sobre la neurobiología de tumores cerebrales. Esta tesis se centra en la caracterización de las diferencias de sexo en la EM analizando datos de transcriptómica unicelular y metagenómica. La EM es una enfermedad crónica, autoinmune y neurodegenerativa que típicamente progresa desde episodios agudos, dirigidos por inflamación, hasta etapas progresivas dominadas por neurodegeneración. Entre los factores biológicos que subyacen a su heterogeneidad clínica y patológica está el sexo. Las mujeres presentan un riesgo dos a tres veces mayor de desarrollar EM y sufren una actividad inflamatoria más pronunciada. Mientras tanto, los hombres son más propensos a sufrir una neurodegeneración rápida y severa. En el primer estudio, investigamos diferencias de sexo en la EM mediante el análisis de datos de transcriptómica unicelular, tanto del SNC como de la sangre periférica. En conjunto, los datos analizados representan los diferentes cursos clínicos de la enfermedad. Tras una revisión sistemática de la literatura, procesamos los conjuntos de datos seleccionados y realizamos la anotación de tipos celulares para generar atlas específicos por tipo celular. Estos incluyeron perfiles de genes diferencialmente expresados, análisis de enriquecimiento funcional, redes de interacción proteína-proteína, inferencia de actividad de rutas de señalización e interacciones de comunicación celular para mujeres, hombres y sus perfiles diferenciales por sexo. En la EM secundaria progresiva, las neuronas femeninas podrían activar respuestas protectoras contra la neurodegeneración, incluidas una mayor señalización GABAérgica y un mayor potencial de reparación de mielina, mientras que las neuronas masculinas mostraron una mayor vulnerabilidad presentando mayor expresión de genes relacionados con la excitotoxicidad. En la EM remitente-recurrente, el subtipo predominantemente inflamatorio, las células inmunitarias femeninas presentaron mayor expresión de genes relacionados con la inflamación, mientras que los hombres exhibieron una mayor expresión de genes asociados con el deterioro mitocondrial. Las mayores diferencias se identificaron en las células T CD8<sup>+</sup> de la forma primaria progresiva, donde las mujeres presentaron una mayor expresión de genes que podrían favorecer la homeostasis. Por su parte, los hombres mostraron perfiles citolíticos que podrían promover la neurodegeneración. Comparando los resultados de la sangre periférica de ambos subtipos de EM, definimos una firma génica diferencial por sexo de 67 genes relacionados con respuestas a estímulos como especies reactivas de oxígeno, citoquinas, lípidos y diferenciación de leucocitos. Ampliamos la caracterización de las diferencias de sexo en la EM explorando el microbioma intestinal mediante la integración de conjuntos de datos de secuenciación de ARNr 16S. Se realizaron análisis individuales de cada estudio, seguidos de un metaanálisis con comparaciones por pares estratificadas por la presencia o ausencia de enfermedad y el sexo. A pesar de la fuerte heterogeneidad entre estudios, identificamos taxones microbianos consistentes asociados al sexo. Estos resultados fueron validados computacionalmente en una cohorte independiente. La mayoría de las diferencias se identificaron al comparar mujeres con EM frente a hombres con EM: Eggerthella, Eisenbergiella y Flavonifractor fueron más abundantes en mujeres, y Prevotella fue más abundante en hombres. Estos taxones han sido previamente vinculados con la modulación inmune y la producción de ácidos grasos de cadena corta, por lo que podrían influir en las respuestas inmunológicas asociadas a la enfermedad. Asimismo, identificamos algunas asociaciones de estos taxones con la duración de la enfermedad y el subtipo de EM, lo que sugiere contribuciones diferenciales por sexo a la progresión de la EM. La parte final de esta tesis amplió el estudio de la EM hacia el campo de la neurobiología tumoral. Específicamente, las metástasis cerebrales de melanoma (MCM) constituyen una condición clínica agresiva con alta incidencia entre pacientes con melanoma, opciones terapéuticas limitadas y un pronóstico desfavorable. Dado que los melanocitos se originan de las células de la cresta neural,

estudios previos sugieren que las células metastásicas cerebrales de melanoma pueden expresar patrones de tipo neuronal. Específicamente, se han reportado asociaciones específicas entre MCM y trastornos neurodegenerativos. En este trabajo, investigamos si MCM comparte perfiles transcriptómicos con las enfermedades neurodegenerativas EM, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. En el caso de las enfermedades neurodegenerativas, realizamos análisis de expresión diferencial entre casos y controles a partir de datos individuales, seguido de un metaanálisis para obtener firmas consenso. Posteriormente, comparamos los resultados obtenidos con los perfiles de expresión de MCM evaluando dos escenarios complementarios: la firma metastásica específica del cerebro, obtenida comparando MCM con metástasis extracraneales de melanoma, y la firma tumoral, derivada de MCM comparado con tejido cerebral no tumoral. El primer escenario reveló 53 genes desregulados enriquecidos en 11 categorías funcionales, particularmente relacionadas con la matriz extracelular. El segundo identificó 195 genes desregulados, principalmente involucrados en desarrollo y diferenciación celular, remodelado de la cromatina y organización del nucleosoma, y traducción. Se identificaron dos genes significativos en ambos escenarios (ITGA10 y DNAJC6), destacando su papel potencial en la intersección entre neurodegeneración y progresión tumoral. Esta tesis se llevó a cabo íntegramente mediante el análisis de conjuntos de datos disponibles públicamente, aplicando estrategias de metaanálisis siempre que fue posible para mejorar la robustez y reproducibilidad de los resultados. Dado el gran volumen de resultados, se desarrollaron plataformas web interactivas: <https://bioinfo.cipf.es/cbl-atlas-ms/> para la caracterización transcriptómica unicelular de las diferencias de sexo en la EM, [https://irsoler.shinyapps.io/metaanalisis\\_16S\\_MS/](https://irsoler.shinyapps.io/metaanalisis_16S_MS/) para el análisis integrativo de diferencias de sexo en la EM mediante estudios metagenómicos, y <https://bioinfo.cipf.es/metafun-mbm/> para los patrones neurodegenerativos de MCM. En conjunto, este trabajo contribuye a una mejor caracterización de los mecanismos moleculares diferenciales por sexo en la EM y de las características neurodegenerativas de MCM, lo que puede fomentar futuras investigaciones que, en última instancia, promuevan aplicaciones traslacionales.