

Apéndice B. Figuras y tablas

Tabla 1

Información de los lncRNAs AC092687.3 y SERTAD4-AS1

ID Transcrito	Símbolo	Estatus	Log ₂ Fold change	p _{adj} *
ENST00000606907	AC092687.3	Alto	2.518	1.26×10^{-4}
ENST00000437764	SERTAD4-AS1	Bajo	-1.739	1.08×10^{-3}

Nota: Estatus, Nivel de expresión de cada lncRNA; Log₂ Fold change, Logaritmo de las veces de cambio en la expresión del transcrito; *p_{adj}, Valor ajustado de la probabilidad por el método de Benjamini-Hochberg.

Tabla 2

Interacciones lncRNA-miRNA-mRNA del lncRNA ENST00000606907 / AC092687.3

lncRNA	miRNA	mRNA blancos
ENST00000606907 / AC092687.3	hsa-let-7e-5p	274
	hsa-miR-4525	26
	hsa-miR-1226-5p	46
	hsa-miR-1-3p	0

Nota: miRNAs interactuantes con AC092687.3 y número de mRNAs blancos.

Tabla 3

Interacciones lncRNA-miRNA-mRNA del lncRNA ENST00000437764 / SERTAD4-AS1

lncRNA	miRNA	mRNA blancos
ENST00000437764 / SERTAD4-AS1	hsa-miR-125a-5p	177
	hsa-miR-125b-5p	187
	hsa-miR-28-5p	125
	hsa-miR-369-3p	11
	hsa-miR-708-5p	76

Nota: miRNAs interactuantes con SERTAD4-AS1 y el número de mRNAs blancos.

Tabla 4

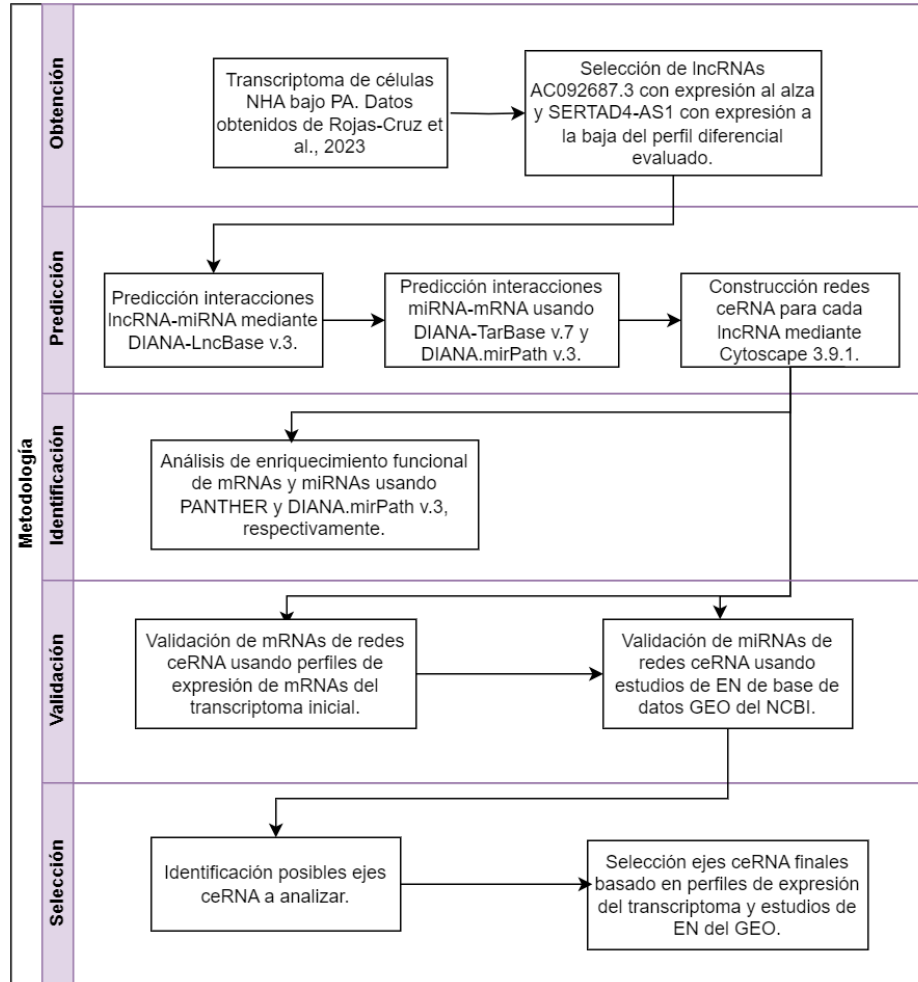
Perfiles de expresión de los miRNAs de los ejes seleccionados de estudios relacionados con EN

miRNA	Validación
hsa-let-7e-5p	Se encontró una disminución significativa en su expresión en los estudios GSE46579 ($\text{Log}_2\text{FC} = -0.72$, $p_{\text{adj}} = 1.55 \times 10^{-5}$, EA vs. CTR) y GSE48552 ($\text{Log}_2\text{FC} = -0.39$, $p_{\text{adj}} = 6.00 \times 10^{-4}$, EA VI vs. CTR)
hsa-miR-125b-5p	Se encontró un aumento significativo en su expresión en los estudios GSE48552 ($\text{Log}_2\text{FC} = 0.58$, $p_{\text{adj}} = 1.49 \times 10^{-3}$, EA VI vs. CTR) y GSE155700 ($\text{Log}_2\text{FC} = 1.32$, $p_{\text{adj}} = 2.00 \times 10^{-4}$, DFT vs. CTR)
hsa-miR-125a-5p	Sin resultados de expresión significativos en los estudios analizados

Nota: El p valor ajustado de los estudios fue obtenido por Benjamini-Hochberg FDR. Las abreviaciones corresponden a: $\text{Log}_2\text{FC} = \text{Log}_2$ Fold Change; EA VI= Enfermedad de Alzheimer en estadio VI; DFT= Demencia frontotemporal; CTR= Control.

Figura 1

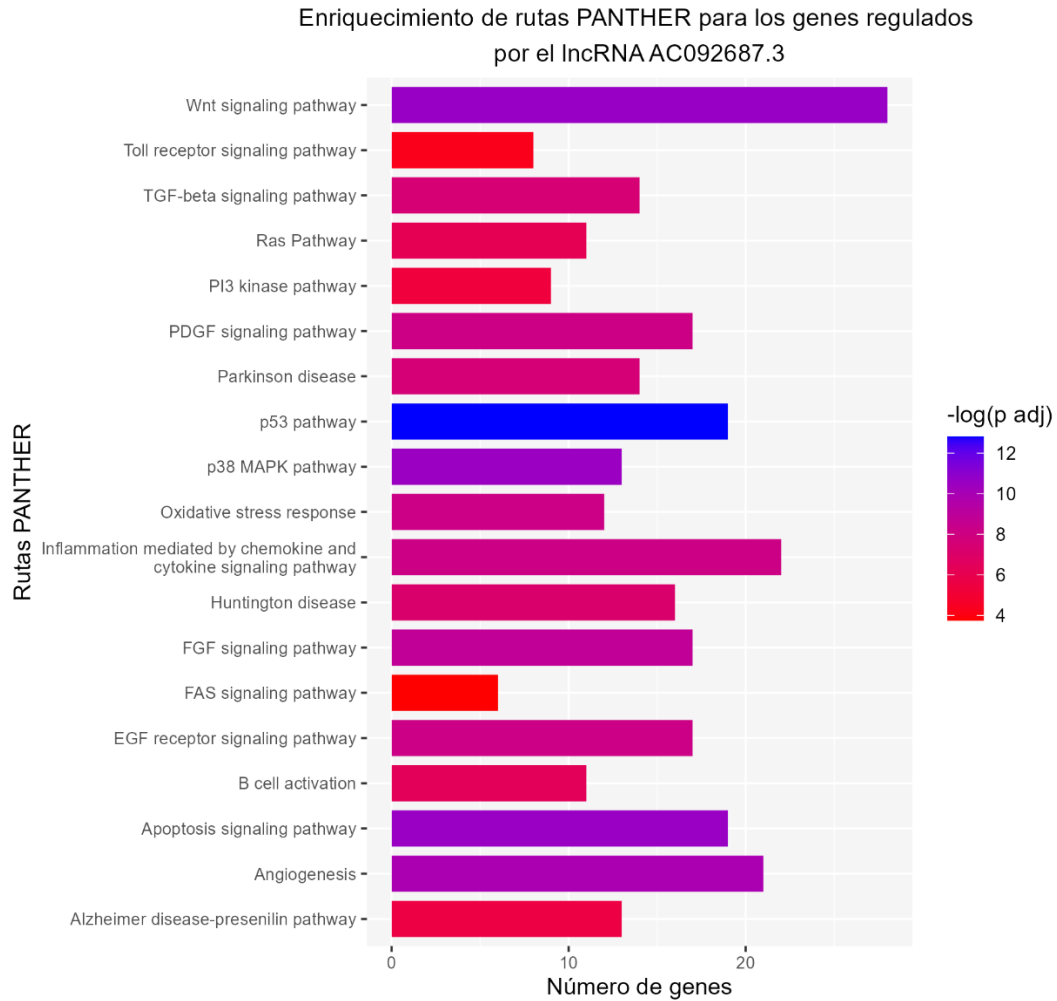
Diagrama de flujo estilo PRISMA de la metodología realizada



Nota. En el eje x se muestra el número de genes enriquecidos para cada vía. El $-\log(p\text{-val ajustado por FDR})$ se indica de acuerdo con el gradiente de color.

Figura 2

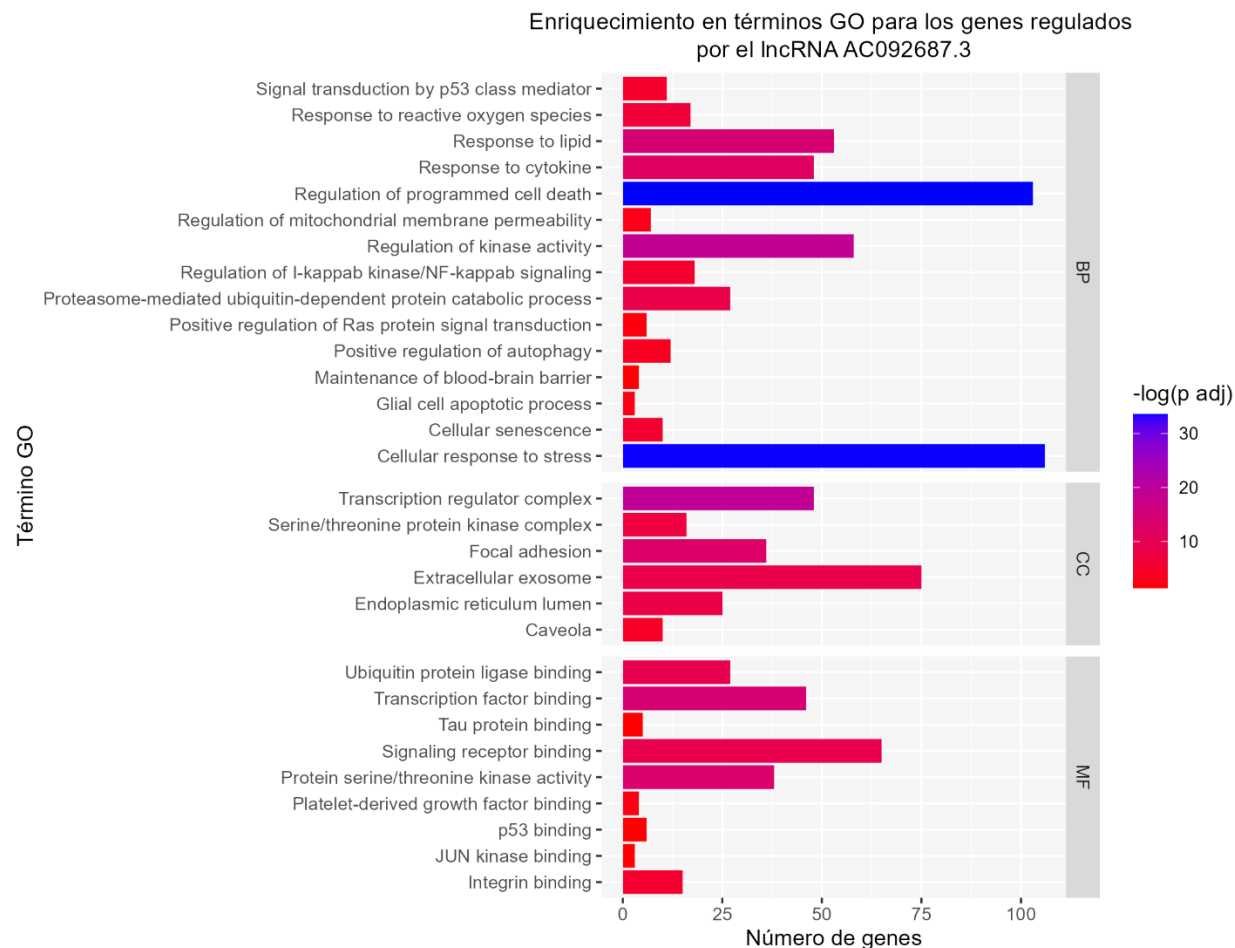
Análisis de enriquecimiento funcional de rutas PANTHER para la lista de genes regulados por la red ceRNA del transcrito ENST00000606907 del lncRNA AC092687.3



Nota. En el eje x se muestra el número de genes enriquecidos para cada vía. El -Log (p-val ajustado por FDR) se indica de acuerdo con el gradiente de color.

Figura 3

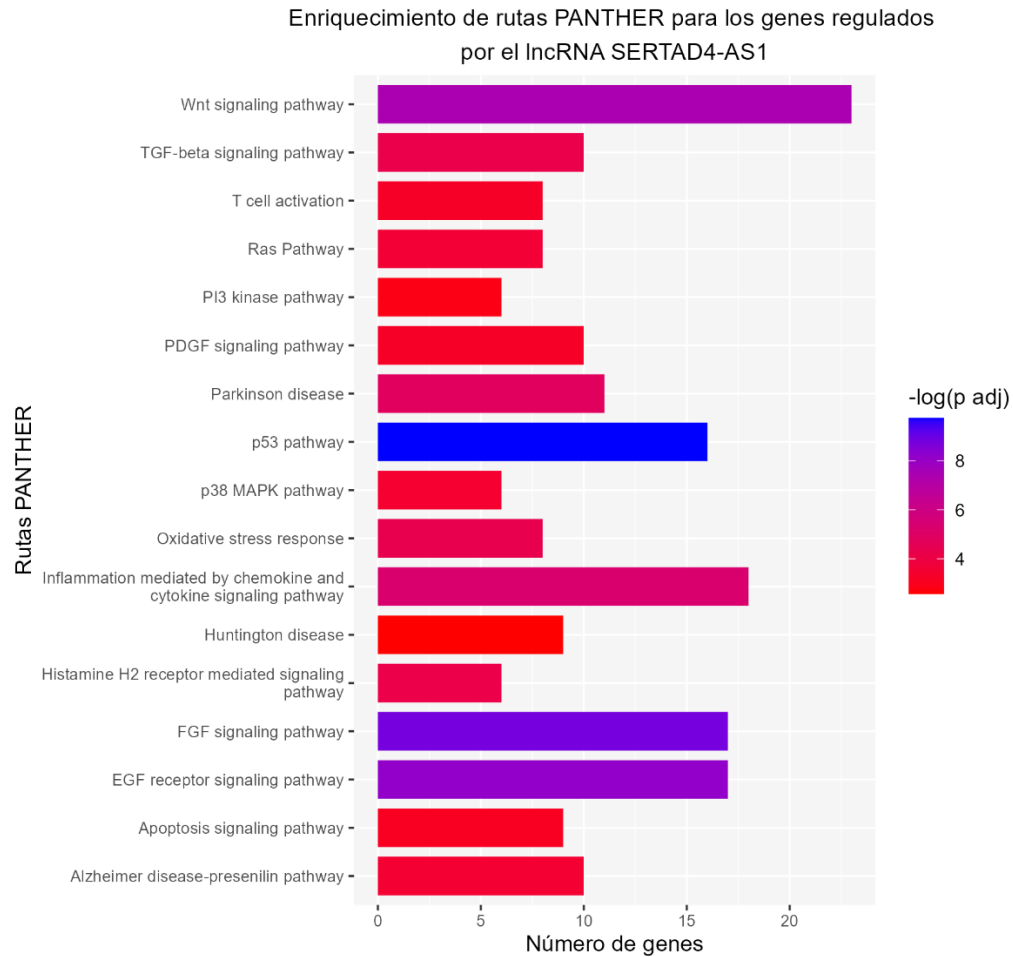
Análisis de enriquecimiento funcional de términos GO para la lista de genes regulados por la red ceRNA del transcrito ENST00000606907 del lncRNA AC092687.3



Nota. BP, proceso biológico; CC, componente celular; MF, función molecular. En el eje x se muestra el número de genes enriquecidos para cada término GO. El -Log (p-val ajustado por FDR) se indica de acuerdo con el gradiente de color.

Figura 4

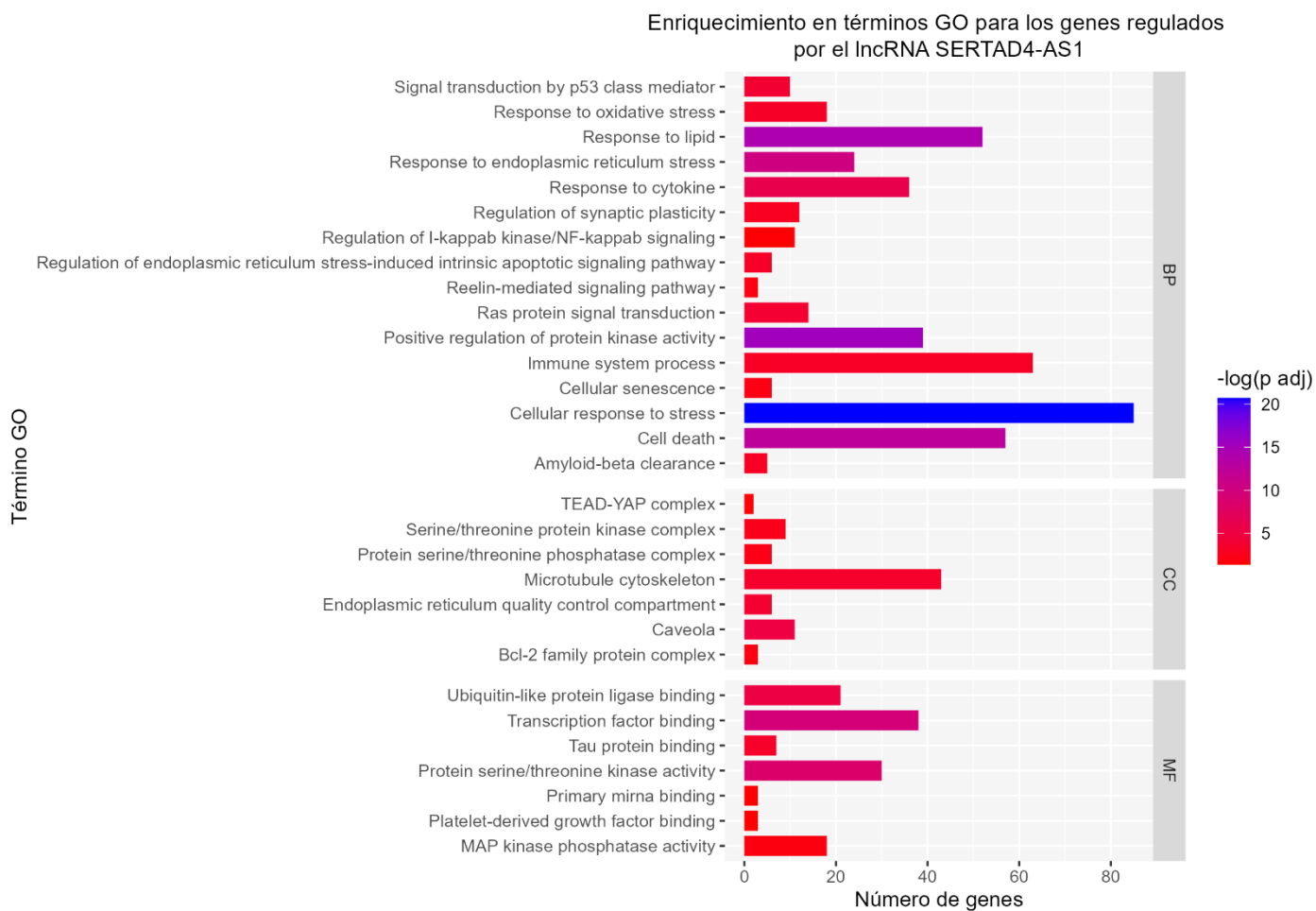
Análisis de enriquecimiento funcional de rutas PANTHER para la lista de genes regulados por la red ceRNA del transcrito ENST00000437764 del lncRNA SERTAD4-AS1



Nota. En el eje x se muestra el número de genes enriquecidos para cada vía. El -Log (p-val ajustado por FDR) se indica de acuerdo con el gradiente de color.

Figura 5

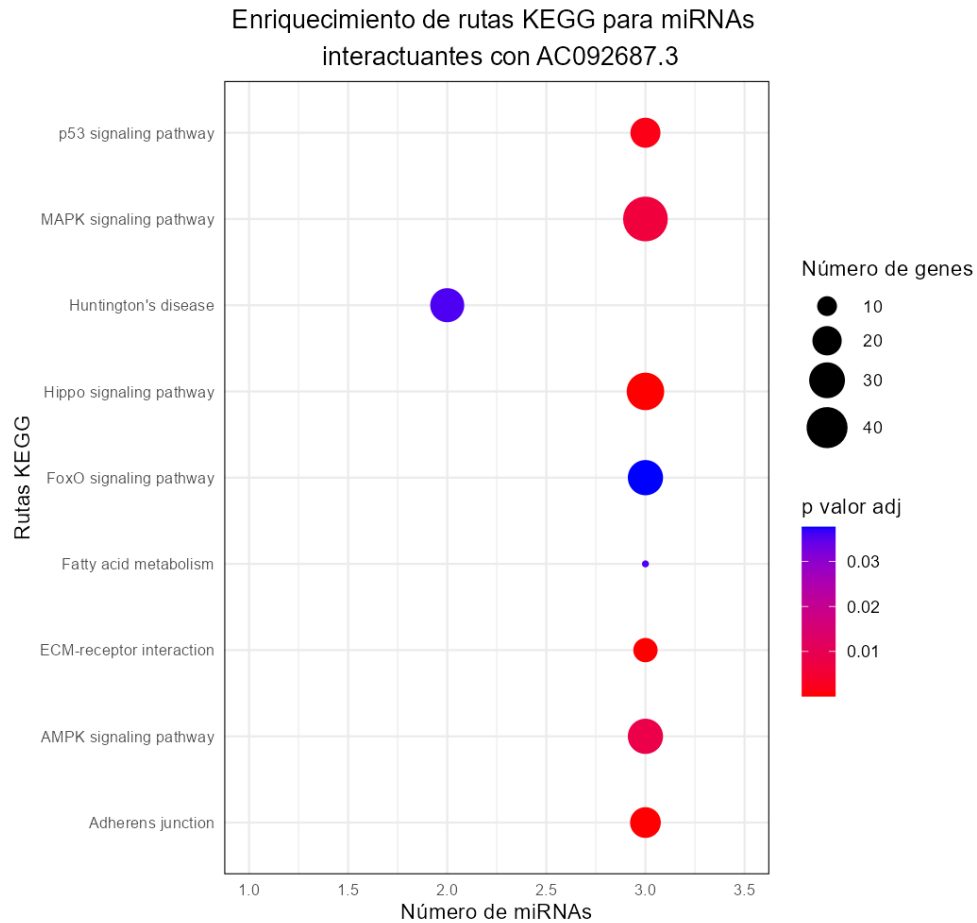
Análisis de enriquecimiento funcional de términos GO para la lista de genes regulados por la red ceRNA del transcrito ENST00000437764 del lncRNA SERTAD4-AS1



Nota. BP, proceso biológico; CC, componente celular; MF, función molecular. En el eje x se muestra el número de genes enriquecidos para cada término GO. El -Log (p-val ajustado por FDR) se indica de acuerdo con el gradiente de color.

Figura 6

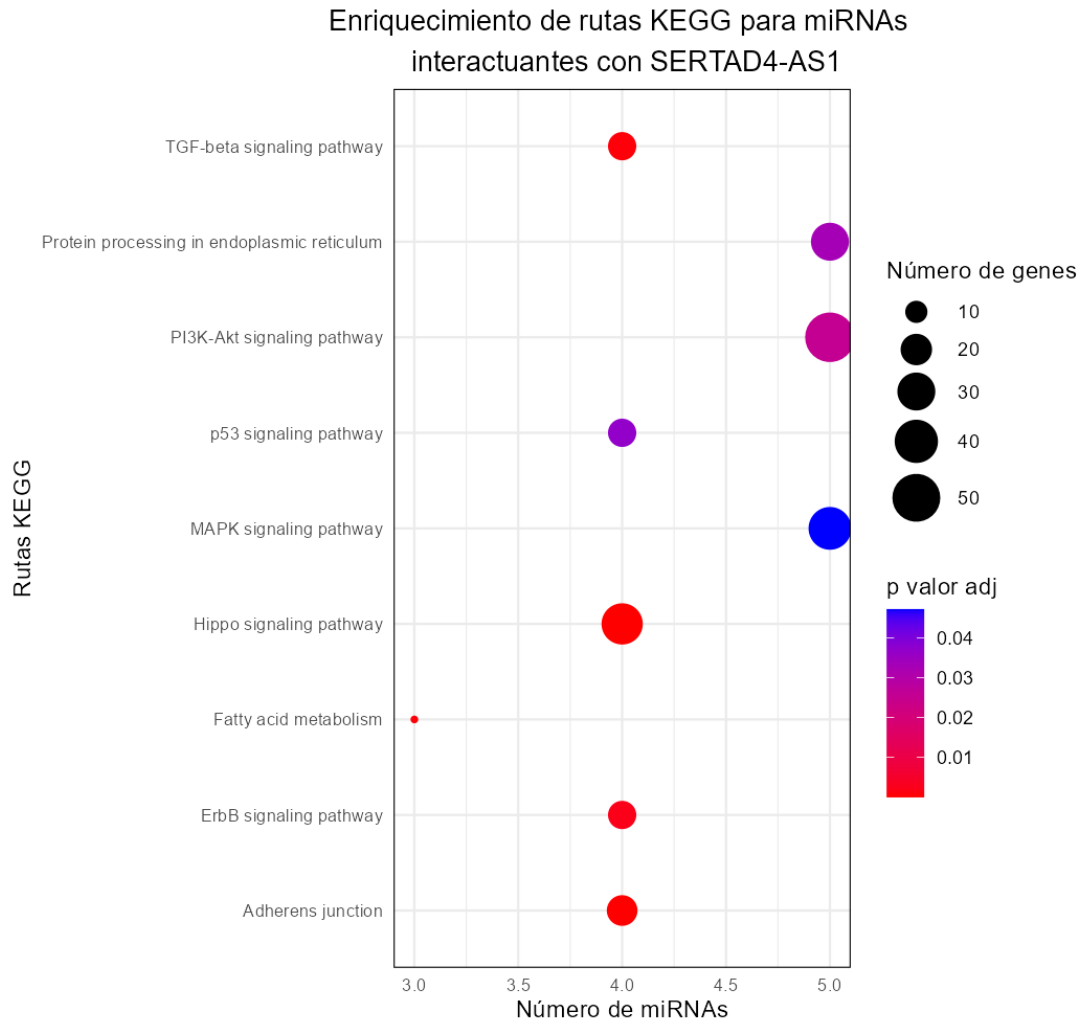
Análisis de enriquecimiento funcional de rutas KEGG para los miRNAs interactuantes con el transcrito ENST00000606907 del lncRNA AC092687.3



Nota: El eje x indica el número de miRNAs enriquecidos para cada vía. El número de genes que enriquecen las vías se muestra de acuerdo con el tamaño del círculo. El p valor ajustado por FDR se indica de acuerdo con el color.

Figura 7

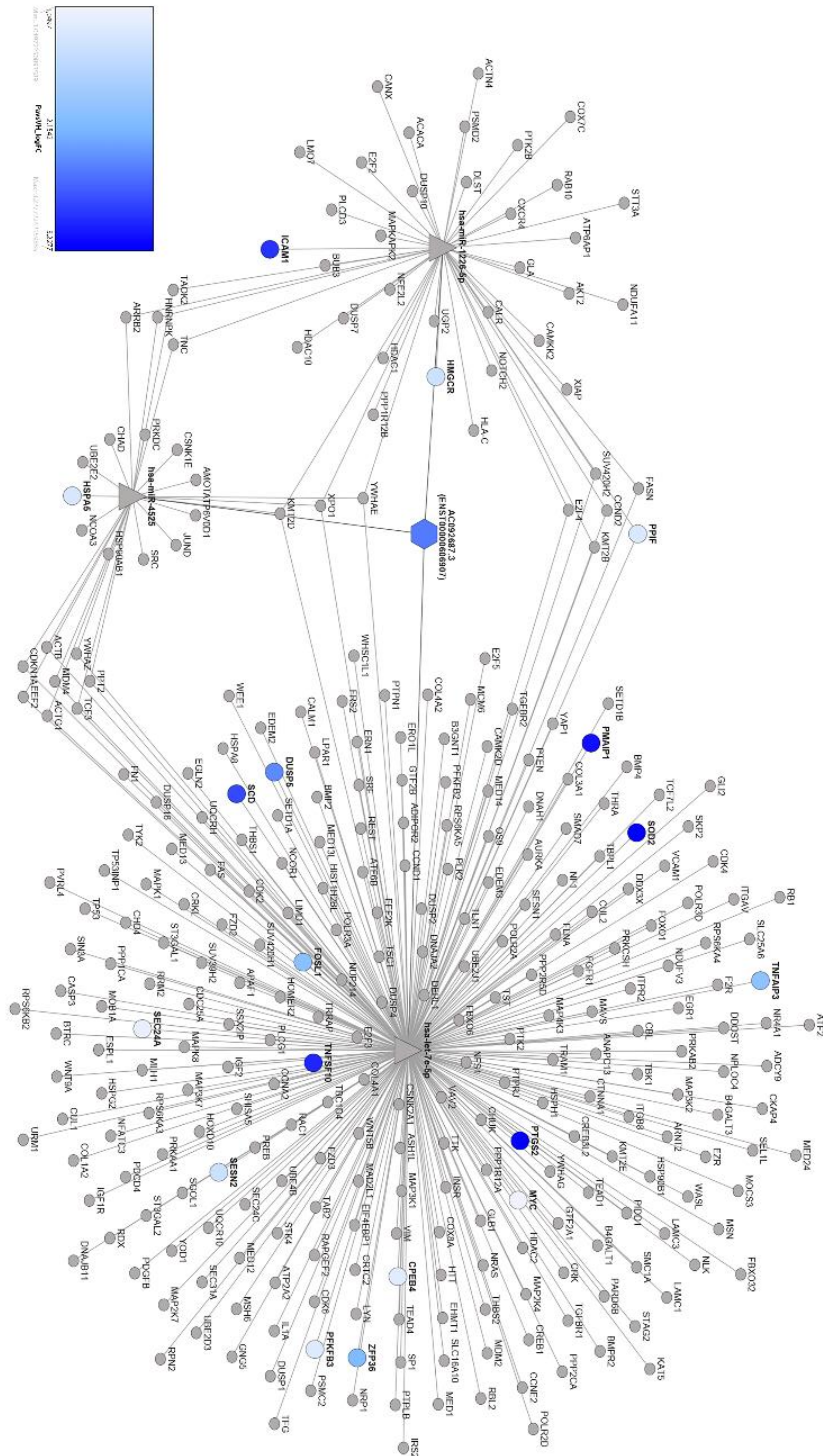
Análisis de enriquecimiento funcional de rutas KEGG para los miRNAs interactuantes con el transcrito ENST00000437764 del lncRNA SERTAD4-AS1



Nota: El eje x indica el número de miRNAs enriquecidos para cada vía. El número de genes que enriquecen las vías se muestra de acuerdo con el tamaño del círculo. El p valor ajustado por FDR se indica de acuerdo con el color.

Figura 8

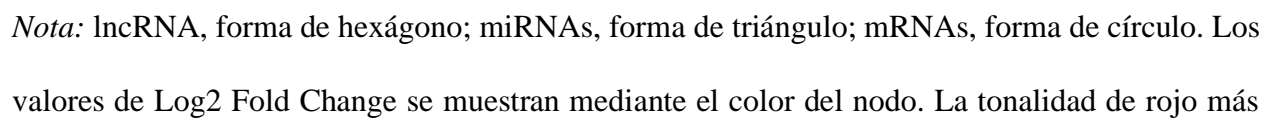
Red reguladora ceRNA del lncRNA AC092687.3



Nota: lncRNA, forma de hexágono; miRNAs, forma de triángulo; mRNAs, forma de círculo. Los valores de Log2 Fold Change se muestran mediante el color del nodo. La tonalidad de azul más oscura corresponde a los valores de expresión más alto y, mientras más claro sea el color azul del nodo, más bajo tendrá su valor de Log2 Fold Change. Los RNAs que no contaban con datos de expresión se encuentran representados con color gris.

Figura 9

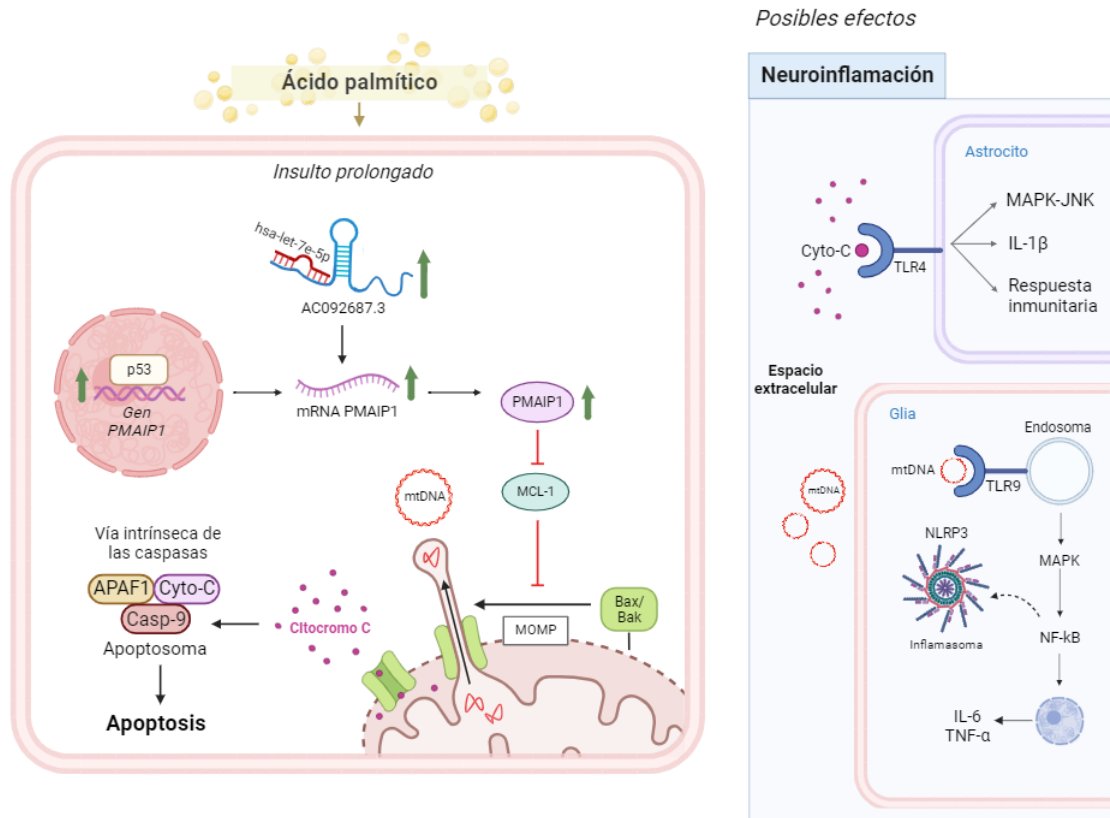
Red reguladora ceRNA del lncRNA SERTAD4-AS1



oscura corresponde a los valores de expresión más bajos y, mientras más claro sea el color rojo del nodo, más alto tendrá su valor de Log2 Fold Change. Los RNAs que no contaban con datos de expresión se encuentran representados con color gris.

Figura 10

Mecanismo de acción del eje AC092687.3(ENST00000606907)/hsa-let-7e-5p/PMAIP1

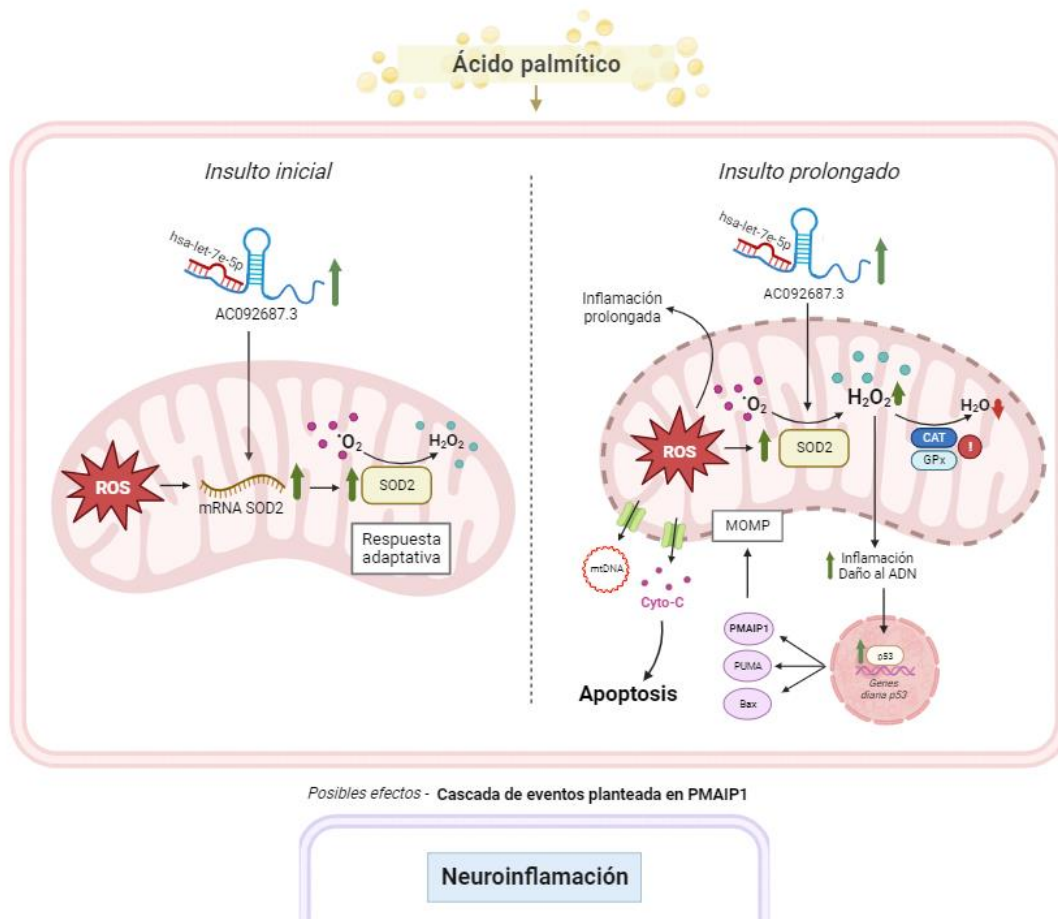


Nota: En la figura se observa como el PA aumenta la expresión del lncRNA AC092687.3, que se une al miRNA hsa-let-7e-5p y disminuye su inhibición sobre el mRNA de PMAIP1 provocando su sobreexpresión. Además, el gen *PMAIP1* es activado por *p53*, que también se ve estimulado por el estrés oxidativo, la inflamación y el daño al ADN causados por el PA. Cabe resaltar, que la sobreexpresión de *PMAIP1* es un evento que se produce en respuesta al insulto lipotóxico prolongado. *PMAIP1* codifica a una proteína pro-apoptótica que neutraliza proteínas anti-

apoptóticas como MCL1, facilitando la formación de los complejos Bax/Bak que producen la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP). Esto libera citocromo c (cyto-c) y ADN mitocondrial (mtDNA), que activan distintas vías de respuesta. El cyto-c puede inducir la formación del apoptosoma, conduciendo a la apoptosis por la vía intrínseca de las caspasas. Entre los posibles efectos de esto último, está la liberación de cyto-c y el mtDNA al espacio extracelular. El cyto-c puede inducir una respuesta inflamatoria al unirse al receptor TLR4 de los astrocitos, donde puede activar la vía MAPK-JNK, la secreción de citoquinas pro-inflamatorias y la respuesta inmunitaria de dichos astrocitos. De manera similar, el mtDNA puede inducir una respuesta inflamatoria al unirse a receptores TLR9 de endosomas de células gliales, activar la vía de NF-Kb y posiblemente el inflamasoma NLRP3: PA: Ácido palmítico; lncRNA: ARN largo no codificante; miRNA: microARN; MOMP: permeabilización de la membrana externa mitocondrial; mtDNA: ADN mitocondrial; Casp-9: Caspasa 9; APAF-1: Factor activador de la proteasa apoptótica 1; TLR4: receptor tipo Toll 4; MAPK-JNK: quinasa activada por mitógenos-jun N-terminal quinasa; IL-1 β : interleucina-1 beta; NF-kB: Factor nuclear kB. Creado con BioRender.com

Figura 11

Mecanismo de acción del eje AC092687.3(ENST00000606907)/hsa-let-7e-5p/SOD2

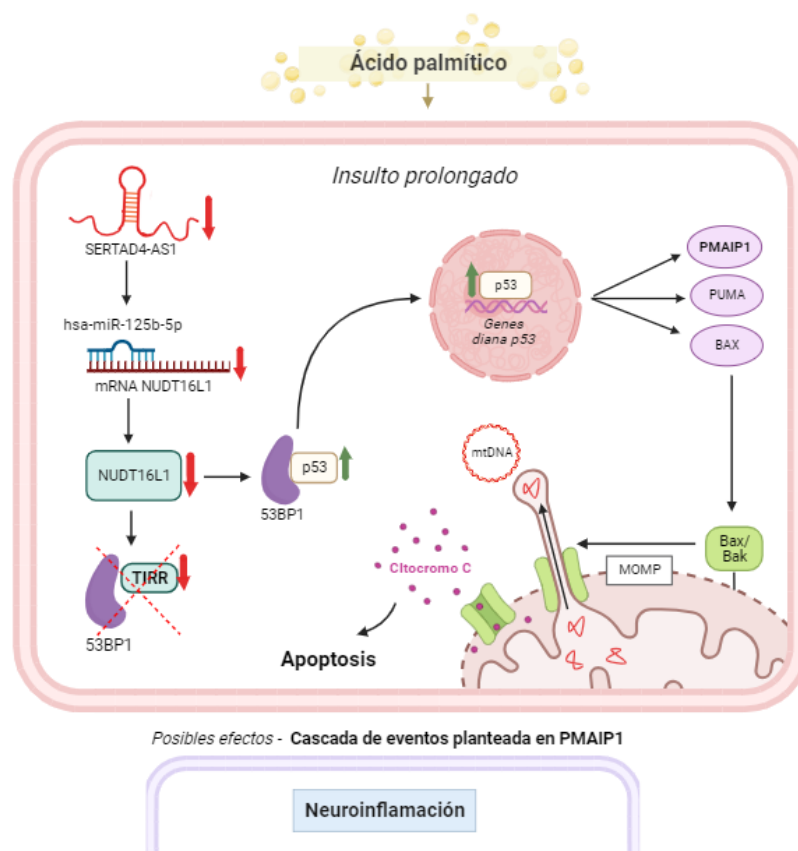


Nota: En el panel izquierdo de la figura (insulto inicial) se observa como el PA induce la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno (ROS) que estimula la sobreexpresión SOD2/MnSOD, la cual convierte el superóxido en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Paralelamente, se induce la sobreexpresión del lncRNA AC092687.3 que inhibe el efecto regulador del miRNA hsa-let-7e-5p sobre el mRNA de SOD2. La sobrerregulación de SOD2 se daría como una respuesta adaptativa. Posteriormente, en el panel derecho se observa como el insulto de PA prolongado genera la insuficiencia de la respuesta adaptativa. Además, por un posible desbalance (representado con un signo de admiración) en las demás enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) que catalizan la reacción de H_2O_2 a H_2O , se produce una acumulación de H_2O_2 que, al contribuir en el aumento de la inflamación y daño al ADN, activa a

p53, provocando, a la larga, la sobreexpresión de genes pro-apoptóticos, MOMP, salida de cyto-c y mtADN, que terminan conduciendo a la apoptosis y posible neuroinflamación planteada en la cascada de respuestas planteada para el eje PMAIP1. Abreviaciones: PA: Ácido palmítico; lncRNA: ARN largo no codificante; miRNA: microARN; ROS: Especies reactivas de oxígeno; MOMP: permeabilización de la membrana externa mitocondrial; mtDNA: ADN mitocondrial; CAT: Catalasa; GPx: Glutación peroxidasa; Cyto-C: Citocromo C. Creado con BioRender.com

Figura 12

Mecanismo de acción del eje SERTAD4-AS1(ENST00000437764)/hsa-miR-125b-5p/NUDT16L1

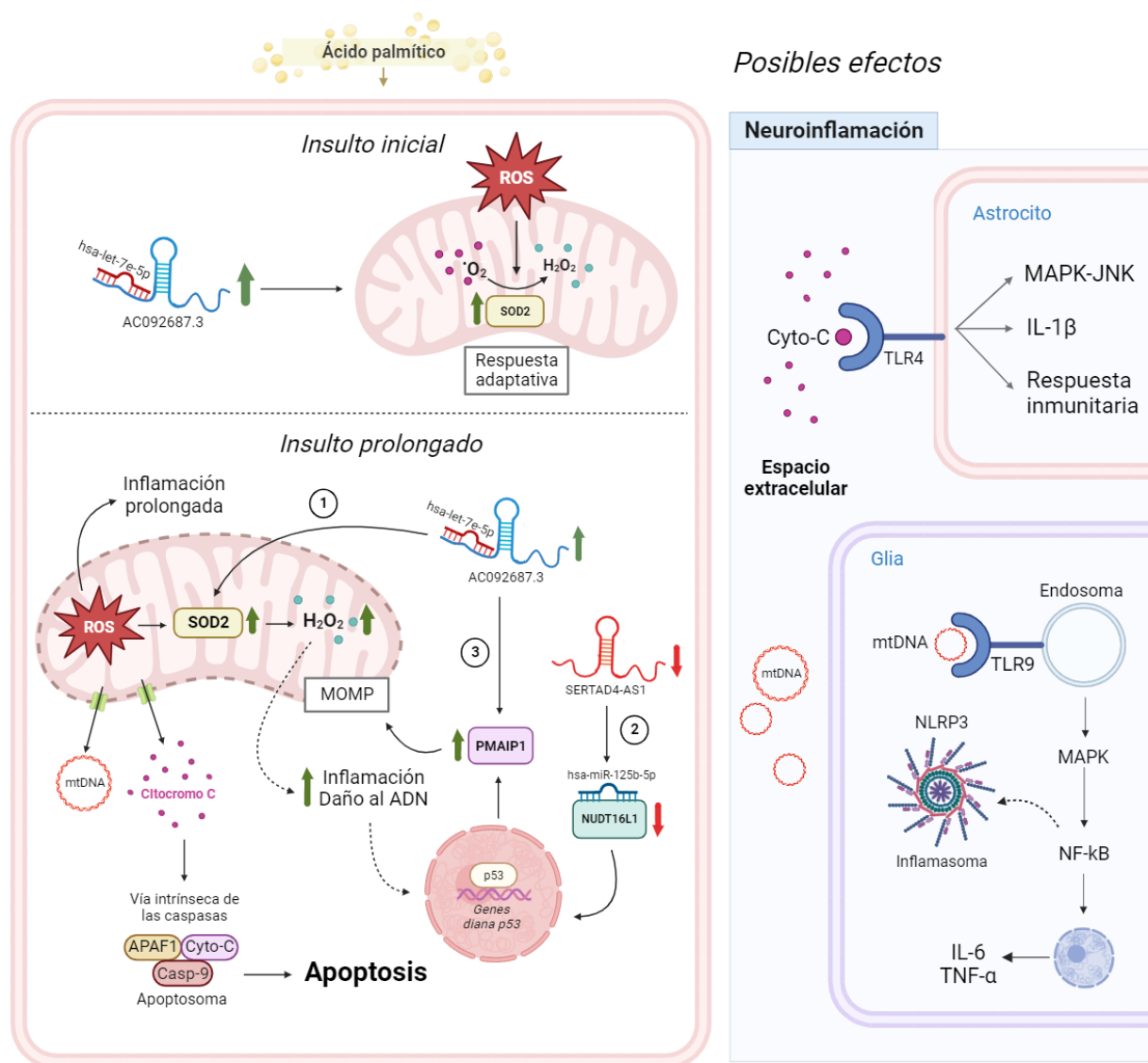


Nota: El estrés lipotóxico prolongado en los astrocitos, conduce a la disminución en la expresión del lncRNA SERTAD4-AS1, que actúa como un ceRNA para el miRNA hsa-miR-125b-5p, aumentando su efecto inhibitor sobre el mRNA de NUDT16L1/TIRR, cuya proteína regula la

función de la proteína 1 de unión a p53 (53BP1). La última es una proteína reguladora de la actividad de p53 y es clave en la reparación del ADN. La deficiencia de TIRR permite que 53BP1 se una al ADN dañado y a p53, formando un complejo que activa la transcripción de genes pro-apoptóticos, como BAX. Este produce MOMP, lo que libera cyto-c y mtDNA, que activa una cascada de respuestas planteada en el eje PMAIP1, que terminan conduciendo a la apoptosis de los astrocitos y posible neuroinflamación. Abreviaciones: PA: Ácido palmítico; lncRNA: ARN largo no codificante; miRNA: microARN; 53BP1: proteína 1 de unión a p53; MOMP: permeabilización de la membrana externa mitocondrial; mtDNA: ADN mitocondrial. Creado con BioRender.com.

Figura 13

Modelo planteado para la conexión de los tres ejes



Nota: En la parte superior del panel izquierdo de la figura, se observa que el insulto lipotóxico inicial causa la activación del eje SOD2 como respuesta inicial al daño oxidativo. Sin embargo, como se observa en la parte inferior del panel izquierdo de la figura, al prolongarse el insulto de PA, este lleva al aumento de ROS que puede inducir una respuesta inflamatoria y un aumento en la expresión de SOD2, que de igual forma se continúa regulando al alza por la sobreexpresión de AC092687.3 (momento 1). Esto produce el incremento de H_2O_2 que contribuye al aumento de la inflamación y al daño del ADN, lo que genera la activación de p53. De forma simultánea se activa

el eje SERTAD4-AS1/hsa-miR-125b-5p/NUDT16L1 (momento 2) que incrementa de igual forma la actividad de p53. Esto, dependiendo de la magnitud y duración del daño, puede llevar al incremento en la transcripción de PMAIP1, que, además, se regula al alza por su correspondiente eje (momento 3). Si el daño lipotóxico y la inflamación persisten, PMAIP1 puede contribuir a la disfunción mitocondrial a través de MOMP que produce la liberación de cyto-c y mtDNA al espacio extracelular. Entre los posibles efectos de esto, está que el cyto-c puede inducir una respuesta inflamatoria al unirse al receptor TLR4 de los astrocitos, donde puede activar la vía MAPK-JNK, la secreción de citoquinas pro-inflamatorias y la respuesta inmunitaria de dichos astrocitos. De manera similar, el mtDNA puede inducir una respuesta inflamatoria al unirse a receptores TLR9 de endosomas de células gliales, activar la vía de NF-Kb y posiblemente el inflammasoma NLRP3. En conjunto, estos eventos pueden provocar un estado de muerte y neuroinflamación, relevantes en las EN. Abreviaciones: PA: Ácido palmítico; lncRNA: ARN largo no codificante; miRNA: microARN; ROS: Especies reactivas de oxígeno; MOMP: permeabilización de la membrana externa mitocondrial; mtDNA: ADN mitocondrial; Casp-9: Caspasa 9; APAF-1: Factor activador de la proteasa apoptótica 1; TLR4: receptor tipo Toll 4; MAPK-JNK: quinasa activada por mitógenos-jun N-terminal quinasa; IL-1 β : interleucina-1 beta; NF-kB: Factor nuclear kB. Creado con BioRender.com