



UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

Facultad de Ciencias de la Vida

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

***NefrOmics: Análisis transcriptómico de
diferentes líneas celulares del tejido renal humano
mediante herramientas bioinformáticas***

Álvaro Alexander Pérez Meza

03 de agosto de 2021, ciudad de Tena, Napo, Ecuador

Declaración de derecho de autor, autenticidad y responsabilidad

Tena, 26 de 03 de 2021

Yo, Alvaro Alexander Pérez Meza con documento de identidad N°1804749883 declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título Ingeniero en Biotecnología son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Por la favorable atención a la presente, suscribo de usted,

Atentamente,

Firma:



Alvaro Alexander Pérez Meza

Certificado de dirección de trabajo de integración curricular

Certifico que el trabajo de integración curricular titulado: “NefrOmics: Análisis transcriptómico y proteómico de diferentes líneas celulares del tejido renal humano mediante herramientas bioinformáticas”, en la modalidad de: proyecto de investigación en formato tesis, fue realizado por: Alvaro Alexander Pérez Meza, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tena, 26 de 03 de 2020

Firma:



Firmado electrónicamente por:
**CAROLINE NICOLE
ORIANA BACQUET
PEREZ**

.....
Caroline Nicole Oriana Bacquet Pérez, Ph.D.
C.I: 1756516041

Firma:

**Andrés
López-Cortés**

Digitally signed by
Andrés López-Cortés
Date: 2021.03.26
15:15:11 -05'00'

.....
Andrés López-Cortés, PhD.
C.I: 1715087175

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de la investigación y redacción de esta tesis he recibido una gran cantidad de apoyo y asistencia.

Primeramente, quiero agradecer a la Dra. Caroline Bacquet, por su determinación, entrega, pasión, por sus horas de reflexión, enseñanza y sobre todo por su paciencia. Sus comentarios y reflexiones me han ayudado crecer académicamente.

También gracias a la MSc. Yeimy Rojas, por sus valiosos comentarios al inicio de la elaboración de mi proyecto de titulación. Sus enseñanzas me impulsaron a perfeccionar mi trabajo.

Un agradecimiento especial al MSc Moisés Gualapuro por sus consejos y enseñanzas dentro del área académica como también fuera de ella. Sus reflexiones sobre temas ligados a bioinformática siempre me han impulsado a mejorar, gracias infinitamente.

Finalmente, quiero agradecer al Dr. Andrés López Cortés por permitirme ser parte de su equipo de investigación; sin su apoyo, el desarrollo de este trabajo no hubiese sido posible. Eternamente agradecido por invertir su tiempo enseñándome y también por su infinita paciencia durante todo este proceso.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi madre, quien con su valentía, determinación, entrega y amor ha sido mi energía y mi motor, mi aliento y mi fuente de inspiración.

También dedico este trabajo a mis familiares, amigos y demás mentores, gracias por ayudarme a crecer.

CONTENIDO

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.1.1 Enfermedades renales comunes	1
1.1.2 Secuenciación de ARN unicelular para la investigación de enfermedades renales	2
1.1.3 Proteómica, análisis de enriquecimiento y bioinformática	3
1.2 Planteamiento del problema	4
1.3 Justificación de la investigación	5
1.4 Objetivos de la investigación.....	6
CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO	7
2.2 Métodos	7
CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS	11
3.1 Análisis de sobreexpresión.....	11
3.2 Análisis de interacción proteína-proteína	20
3.3 Análisis de enriquecimiento funcional	24
CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN.....	25
4.1 Análisis de sobreexpresión	25
4.2 Redes de interacción proteína-proteína y análisis de enriquecimiento funcional	28
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	31
5.1 Conclusiones.....	31
5.2 Recomendaciones	32
Referencias	33
Anexos	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de enriquecimiento funcional y términos asociados a patologías renales	24
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor del top 50 de los genes sobreexpresados (Z score > 2) en los podocitos. (B) Gráfico de puntos del top 50 de los genes sobreexpresados significativamente en los podocitos y porcentaje de expresión celular.....	12
Figura 2. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (B) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en podocitos.....	13
Figura 3. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en las células T asesinas naturales (NKT). (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las NKT y porcentaje de expresión celular.	14
Figura 4. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (B) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las NKT.....	15
Figura 5. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en los pericitos 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en los pericitos 1 y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en los pericitos 1.....	16
Figura 6. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en las células mesangiales 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las células mesangiales y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las células mesangiales	17

Figura 7. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados ($Z\text{-score} > 2$) en las vSMC 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las vSMC y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las vSMC.	19
Figura 8. Red de interacción proteína-proteína enfocada en exosomas y transporte mediado por vesículas. El transporte mediado por vesículas corresponde a procesos biológicos de OG y los exosomas a componente celular de OG	21
Figura 9. Red de interacción proteína-proteína enfocada en el Sistema inmune. El procesamiento de sistema inmune y la respuesta a citoquinas pertenecen a procesos biológicos de OG. Sistema inmune y sistema inmune innato a rutas metabólicas de Reactome	22
Figura 10. Red de interacción proteína-proteína enfocada en el Metabolismo. El término rutas metabólicas corresponde a la base de datos KEGG. Metabolismo, que abarca proteínas asociadas al metabolismo de lípidos, metabolismo de proteínas y metabolismo de aminoácidos y derivados corresponde a Reactome.	23

ÍNDICE DE ANEXOS

Tabla 1. Genes sobreexpresados en los podocitos con un porcentaje de sobreexpresión celular >50% 43

Tabla 2. Proteínas sobreexpresadas en las tres redes y su anotación 51

RESUMEN

El incremento de las enfermedades renales ha impulsado la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos. La gran cantidad de datos del transcriptoma y proteoma humano ha catapultado el uso de herramientas bioinformáticas para buscar estas dianas. En ese contexto, se propone el uso de este abordaje para analizar datos del transcriptoma de diferentes tipos celulares del tejido renal humano. Analizamos genes sobreexpresados (Z score ≥ 2) y con un porcentaje de sobreexpresión celular $\geq 50\%$ en las células de los túbulos renales, pericitos 1 y 2, podocitos, células mesangiales/fibroblastos, células musculares lisas vasculares (vSMC), NKT, células T, macrófagos y células endoteliales. Posteriormente, construimos tres redes de interacción proteína-proteína y mediante ontología génica identificamos procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares asociados a enfermedades renales. Encontramos 419 genes sobreexpresados en 6 tipos celulares. En los podocitos encontramos más del 80% de estos genes sobreexpresados (352). En las células mesangiales encontramos 13 genes, NKT 41 genes, en los pericitos-1 4 genes, en las vSMC 8 genes y en las células T 1 gen. Los resultados de los podocitos se pueden explicar por su función en el filtrado de moléculas, pero también ya que estas células pueden desencadenar su propio sistema inmune. Además, proteínas exosomales y proteínas transportadoras participan en la respuesta inmune innata lo cual pone de manifiesto la red de interacción de estas proteínas. En nuestro estudio también destacamos la sobreexpresión de proteínas ribosomales, deshidrogenasas y proteínas del choque térmico. A pesar de que algunas de estas proteínas parecen tener un rol protagónico en algunas enfermedades como la ECR, no todas han sido reportadas en el desarrollo de patologías renales lo que amerita su estudio.

Palabras clave: Transcriptómica, secuenciación de ARN, células individuales, riñón, ontología génica, interacción de proteínas, bioinformática

ABSTRACT

The rise of kidney diseases has spurred the search for new therapeutic targets. The wealth of human transcriptome and proteome data has catapulted the use of bioinformatics tools to search for these targets. In this context, we propose to use this approach to analyse human transcriptome data from different cell types in human kidney tissue. We analyzed overexpressed genes (Z score ≥ 2) with a percentage of cellular overexpression $\geq 50\%$ in renal tubule cells, pericytes-1, pericytes-2, mesangial/fibroblasts, vascular smooth muscle cells, NKT, T-Cells, macrophages, and endothelial cells. Subsequently, we constructed three protein-protein interaction networks. Finally, using gene ontology, we identified biological processes, molecular functions and cellular components associated with renal diseases. We found 419 genes overexpressed in 6 different cell types. In podocytes we found more than 80% of these genes overexpressed (352). In mesangial cells we found 13 genes, in NKT 41 genes, in pericytes-1 4 genes, in vSmM 8 genes and T-cells 1 gene. The results of podocytes can be explained by their function in filtering molecules, but also these cells can trigger their own immune system. In addition, exosomal proteins and transporter proteins are involved in the innate immune response, which highlights the interaction network of these proteins. In our study we also highlighted the overexpression of ribosomal proteins, dehydrogenases, and heat shock proteins. Although some of these proteins seem to play a leading role in some diseases such as RCD, not all of them have been reported in the development of renal pathologies, which merits further study.

Key words: Transcriptomics, RNA sequencing, single cells, kidney, gene ontology, protein interaction, bioinformatics.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1 Enfermedades renales comunes

La enfermedad renal crónica ERC, también llamada insuficiencia renal crónica, describe la pérdida gradual de la función renal. Los riñones filtran los desechos y el exceso de líquidos de la sangre, que luego son excretados en la orina. Las causas del desarrollo de esta enfermedad son varias; sin embargo, se destaca la diabetes, presión arterial alta, glomerulonefritis enfermedades quísticas y enfermedades urológicas [1]. Se reporta que en el año 2017, se registraron alrededor de 600 millones casos de ERC en todas las etapas, para una prevalencia global de 9.1% [2]. Además, se proyecta que para el año 2014 la ERC sea la quinta causa de muerte a nivel global [1].

La enfermedad diabética renal, es otra de las enfermedades que afecta a gran parte de la población, principalmente porque esta patología puede dar lugar al desarrollo de la ERC.[3] Otra de las enfermedades renales es el síndrome nefrótico, el cual es un trastorno renal que hace que el cuerpo excrete demasiadas proteínas en la orina. Se ha reportado que La incidencia del síndrome nefrótico infantil es de 4,7 por cada 100.000 niños en todo el mundo [4].

Por otro lado, las etiologías hereditarias son responsables de aproximadamente el 10% de las nefropatías terminales en adultos y > 70% de las nefropatías pediátricas [5]. La enfermedad renal hereditaria más prevalente es la enfermedad renal poliquística autosómica dominante (APKD) (1 / 400-1 / 1000) individuos la padecen) y es causada por cambios genéticos del gen *PKD1* localizado en el cromosoma 16 [6].

1.1.2 Secuenciación de ARN unicelular para la investigación de enfermedades renales

Los avances tecnológicos en la secuenciación de ARN unicelular (scRNA-seq), han permitido obtener descripciones más precisas y completas de los tipos celulares y sus estados, independientemente de marcadores predefinidos o de suposiciones sobre la jerarquía celular en diferentes órganos [7–9]. En tejido renal murino, Conway y colaboradores identificaron marcados cambios en la proporción y la expresión génica reportando 12 subtipos celulares mieloides debido a lesiones renales como la obstrucción uretral unilateral reversible [10]. Un estudio en paralelo permitió conocer cinco poblaciones celulares obtenidas del glomérulo de murinos con enfermedad diabética renal. Los resultados pusieron en evidencia los cambios dinámicos en la expresión genética en riñones diabéticos y dichos cambios podrían ayudar a identificar importantes factores fisiopatológicos que contribuyen a la progresión de la enfermedad [11].

Estudios en humanos develaron que los cambios en la expresión génica de la nefropatía diabética temprana promueven la secreción de potasio en la orina y la disminución de reabsorción de calcio y magnesio. Además, múltiples tipos de células mostraron angiogénesis. Estos cambios pueden ayudar a identificar biomarcadores de la progresión de la enfermedad o vías de señalización que son susceptibles de intervención temprana [12]. Por otro lado, Lake et al., [13] demostró cambios en la expresión de un canal iónico mecanosensorial asociado a la hipertensión en las células mesangiales. También identificaron poblaciones de células tubulares proximales (PT) con posibles genes asociados a la patogénesis renal (CFH, FGA).

En el año 2018, se evidenció que la secuenciación de ARN unicelular puede describir de forma exhaustiva los tipos y estados celulares en una muestra de biopsia renal humana [14]. En 2019, Subramanian et al., compararon la reproducibilidad y la disminución de las células fuera del objetivo tras el trasplante de organoides de riñón humano mostrando que la composición transcriptómica y el desarrollo de los organoides son comparables a los

riñones humanos fetales y adultos [15]. En el 2020 se obtuvo el transcriptoma de 23.366 células de riñones de tres donantes humanos adultos mostrando 10 grupos de células renales humanas normales. En este contexto, los autores proporcionaron un mapa transcriptómico de las células renales humanas que permitirá estudiar la biología de las células renales y la relación entre los tipos de células y enfermedades [16].

A pesar del notable avance, los estudios descritos anteriormente pasan por alto el rol de las proteínas en la aparición y desarrollo de las enfermedades renales. Esto pone en evidencia la necesidad de integrar de varias Ómicas como la transcriptómica y la proteómica, para una mejor comprensión de las patologías que subyacen en la aparición de una enfermedad [17–19].

1.1.3 Proteómica, análisis de enriquecimiento y bioinformática

Beck et al., identificó una banda de proteína reactiva de 185 kDa específica de la nefropatía membranosa primaria o idiopática (NMI). Los autores encontraron que dicha banda correspondía a una proteína llamada receptor de la fosfolipasa A2 del tipo (PLA2R) y constituye el antígeno responsable de un 70-80% de las NMI. Este hallazgo sugiere que PLA2R es un antígeno objetivo importante en pacientes con esta enfermedad. Además, dado que el PLA2R es un constituyente normal de los podocitos, se puede considerar a la NMI como una enfermedad autoinmune, al menos en los casos debidos a la formación de anticuerpos anti-PLA2R (anti-PLA2R) [20]. Un estudio similar permitió el análisis del suero de pacientes con nefropatía idiopática e identificaron que la proteína amiloide A1 es un buen biomarcador que puede proporcionar más información pronóstica de la NMI. Los autores del estudio concluyen que la combinación de la proteína amiloide con PLA2R aumenta la precisión del diagnóstico [21].

Otros enfoques han dado lugar a la combinación de la electroforesis capilar o cromatografía líquida de ultra alta resolución con espectrometría de masas para encontrar varios péptidos o proteínas asociados a la enfermedad renal crónica (ERC) bajo la premisa de que la alta variabilidad de los biomarcadores individuales limita la precisión [22,23]. En un estudio

posterior, se comparó la orina de 230 pacientes con una serie de causas de la ERC y 379 controles con función renal normal. En este estudio se usó un análisis de conglomerados (clúster) generado mediante máquinas de vectores de soporte para combinar 273 péptidos urinarios que diferían entre la ERC y los controles sanos. El resultado, mostró que variaban en un marcador péptido urinario denominado CKD273 [24]. Por otro lado, un estudio liderado por Afshinnia, en el año 2018, encontró importantes alteraciones en el lipidoma del plasma en pacientes con ERC avanzada. Entre estas alteraciones se encontró una mayor abundancia de los ácidos grasos libres (FFA) saturados C16-C20 y lípidos complejos poliinsaturados largos [25].

Estudios posteriores han propuesto la integración de varias Ómicas y el uso de herramientas bioinformáticas en un mismo análisis. Por ejemplo, Zhou et al., en el año 2018, utilizaron más de 250 conjuntos de datos de microarreglos obtenidos de los compartimentos glomerulares y del túbulo intersticial de riñones sanos y de tejido renal con ERC. Los autores identificaron los genes expresados diferencialmente (DEG) compartidos con el tejido renal con ERC. Estos genes fueron utilizados para identificar procesos biológicos asociados a la enfermedad. Los resultados mostraron 176 y 50 DEGs compartidos en los glomérulos y túbulos enfermos, respectivamente. Además, los autores demostraron que estos genes están relacionados con los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR) y rutas mediadas por exosomas. También se encontró una regulación negativa de los componentes del inflamoma [26].

1.2 Planteamiento del problema

El riñón humano es un órgano complejo que cumple varias funciones como: mantener la composición sanguínea; conservación de agua; equilibrio de ácidos, bases, electrolitos; producción de glóbulos rojos y regulación de la presión arterial. Para lograr esto, el riñón tiene una arquitectura celular compleja que consta de aproximadamente un millón de nefronas [13].

Generalmente las enfermedades asociadas al riñón son sistémicas, como por ejemplo la nefropatía diabética caracterizada por el daño en los glomérulos y en los túbulos intersticiales [12,27]. Sin embargo, se ha reportado que algunas enfermedades renales son específicas de los tipos celulares que componen este órgano [28]. Un fallo en las células epiteliales que componen los túbulos renales puede dar lugar al apareamiento de enfermedades como la enfermedad renal crónica ERC que afecta a más del 10% de la población mundial, de ellos, 25 millones son estadounidenses quienes gastan más de \$ 50 mil millones en atención médica [13]. Se proyecta que para el año 2040, la ERC sea una de las 5 principales causas de muerte a nivel mundial [1].

Los primeros esfuerzos para conocer genes involucrados en enfermedades renales estaban enfocados en la secuenciación masiva del ARNm en diferentes tejidos del órgano [29–31]. Sin embargo, este tipo de análisis no refleja el transcriptoma a nivel de células individuales sino solo un promedio general de los transcritos [16]. Gracias a la secuenciación de próxima generación, el análisis de células individuales y el atlas de células humanas [15,32], la transcriptómica de células individuales se ha vuelto factible [33].

A pesar del notable avance, no se ha estudiado a profundidad el rol de los grupos proteicos que componen cada célula del tejido renal en la aparición de enfermedades. Gracias a la cantidad de datos disponibles en la actualidad, es posible alcanzar un perfil proteico mucho más específico que, junto con un análisis de transcritos en paralelo, permitirían abordar los orígenes celulares de las enfermedades y que posibiliten el desarrollo de una medicina personalizada de precisión [34].

1.3 Justificación de la investigación

Las enfermedades renales son un creciente problema de salud pública creciente [1]. Esto plantea nuevos desafíos para las sociedades y los sistemas de salud, siendo de mayor preocupación en países en vías de desarrollo debido a la falta de inversión tanto en salud

como en investigación[35], lo cual amerita nuevos enfoques en la búsqueda de biomarcadores específicos y dianas terapéuticas que mejoren los resultados clínicos.

Los recientes avances en las tecnologías Ómicas enfocadas en el análisis de células individuales han dado lugar una “explosión” de datos moleculares que han sido propuestos y anunciados como la clave para avanzar en la medicina de precisión mediante el uso de herramientas bioinformáticas [36]. Por ejemplo, la secuenciación de ARN unicelular (scRNA-seq) en riñón humano ha posibilitado la comprensión de la anatomía celular, proporcionando además, datos del transcriptoma de cada una de las células que componen este órgano [15,16]. Por otro lado, bases de datos como: KEGG, *Gene Ontology* y *Reactome*, proporcionan información sobre la funcionalidad de genes [37–39].

Nuestro estudio busca entender el comportamiento transcriptómico y proteómico de la celularidad renal utilizando la información generada por Subramanian et al., del año 2019 [15] y las bases de datos KEGG, *Gene Ontology* y *Reactome* [37–39]. Se identificará los procesos biológicos, relaciones genotipo-fenotipo y los cambios moleculares que subyacen al desarrollo y la progresión de una amplia gama de enfermedades renales en humanos como la ERC. Es así que, esta investigación aporta al descubrimiento de potenciales dianas terapéuticas más específicas, contribuyendo a la consolidación del desarrollo de la medicina de precisión y aportando al objetivo 3 del programa de desarrollo sostenible de las Naciones Unidas (PNUD) [40].

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 General

Analizar datos del transcriptoma humano de diferentes tipos celulares del tejido renal mediante herramientas bioinformáticas para identificar dianas terapéuticas y procesos biológicos.

1.4.1.1 Específicos

1. Analizar el nivel de expresión genética en diferentes tipos celulares del riñón, utilizando una base de datos de transcritos de una sola célula.
2. Determinar el grado de conectividad del proteoma humano en los diferentes tipos celulares del riñón mediante el análisis de interacción proteína-proteína
3. Identificar procesos biológicos significativos relacionados a los genes en estudio, mediante ontología génica.

CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO

2.2 Métodos

2.2.1 Datos de secuenciación de ARN individual

Este análisis se realizó a partir del estudio “*Human Kidney Organoids Atlas*” en el cual identificaron 17 tipos celulares en el riñón humano adulto: células del túbulo proximal recto (PST), células del túbulo proximal contorneado (PCT-1), células de la rama delgada descendente (tDL), células del ducto colector con células principales (CD-PC), CD-PC/IE, células del túbulo contorneado distal con células intercaladas de tipo A (DCT-A-IC), pericitos 1, pericitos 2, rama grueso ascendente (TAL), rama grueso ascendente con células del túbulo contorneado distal (TAL-DCT), podocitos, células mesangiales/fibroblastos, células musculares lisas vasculares (vSMC), células asesinas naturales (NKT), células T, macrófagos y células endoteliales [15].

Utilizando Software Single Cell Portal., y utilizando el genoma humano completo (n = 19221), se examinarán los genes cuyos ARNm se encuentran significativamente

sobreexpresados (Z score > 2) en los 17 subtipos celulares que conforman el riñón según el estudio de Subramanian et al., del año 2019 [15].

2.2.2 Interactoma proteína-proteína

Una red de interacción proteína-proteína o interactoma es una representación matemática de interacciones funcionales entre moléculas, ya sea dentro de una célula o dentro del organismo en su conjunto. Esta representación revela interacciones importantes entre moléculas que, al principio, no parecen estar relacionadas funcionalmente. De esta manera, las consecuencias funcionales de la mutación genética se pueden predecir sin la necesidad de una experimentación prolongada [41]. Las redes pueden ser representadas por nodos que pueden ser: proteínas, genes o enzimas; y por líneas o aristas que representan la información sobre las uniones entre los nodos [42].

En este estudio, para la construcción de una red de interactoma proteína-proteína (PPI), se utilizaron los genes sobreexpresados en las 17 líneas celulares del riñón. El parámetro estadístico utilizado en el interactoma fue el FDR o tasa de falsos descubrimientos, definido como la probabilidad de que una hipótesis nula sea cierta habiendo sido rechazada por la prueba estadística. Se consideró un grado de confianza (FDR) de 0.9, donde se tomó en cuenta las interacciones experimentales, *in silico*, de co-expresión y co-ocurrencia [43]. Para la construcción de la red, se utilizará el software *String* v.11.0

Esta red de nodos se desarrolló a partir de una categorización de las proteínas según su importancia, tomando en cuenta:

- El grado de centralidad, que mide el número total de enlaces vinculados a un nodo o proteína [44].
- La centralidad de proximidad, que consiste en la suma de las distancias entre una proteína y los demás nodos; si la longitud entre nodos es corta, la centralidad de proximidad será alta [45]

- La centralidad de intermediación que es una medida de la frecuencia con la que un nodo o vértice dado se encuentra en la ruta más corta entre otros dos vértices, se puede considerar como una especie de valor “puente”. Una proteína tendrá una alta centralidad de intermediación si esta representa la única manera de comunicarse, conectarse o interactuar con otros nodos [45].

2.2.3 Análisis de ontología génica

Ontología hace referencia a una representación formal de un conocimiento dentro de un determinado dominio. Las ontologías generalmente consisten en un conjunto de términos, conceptos o clases que operan entre sí. La Ontología Génica (OG) describe el conocimiento del dominio biológico con respecto a tres aspectos: función molecular, componente celular y procesos biológicos [38,46].

La función molecular se define como la función del producto de un gen a nivel bioquímico. Describe únicamente lo que se hace sin especificar dónde o cuándo se produce realmente el evento o su contexto más amplio. Componente celular hace referencia a las ubicaciones en las estructuras celulares en las que un producto génico realiza una función, ya sea compartimentos celulares o complejos macromoleculares estables de los que forman parte. [47]. A diferencia de los otros aspectos de ontología génica, las clases de componentes celulares no se refieren a procesos sino a una anatomía celular [48].

Los procesos biológicos hacen referencia a múltiples actividades moleculares en conjunto. Un proceso se lleva a cabo mediante uno o más conjuntos ordenados de funciones y que a menudo implica la entrada o salida de una molécula. Por ejemplo, crecimiento y mantenimiento celular o transducción de señales [46]

Para este análisis se tomó como base cada uno de los grupos de genes sobreexpresados de los 17 tipos de líneas celulares, que permitirá determinar anotaciones significativas (Tasa de Descubrimiento Falso - FDR <0.001) y se consideró: las funciones moleculares, donde se

encuentra ubicado cada gen o proteína dentro de los diferentes componentes celulares y procesos biológicos que cumplen la asociación de proteínas en estudio.

Adicionalmente, de acuerdo con la Enciclopedia de Kyoto de Vías de Señalización de Genes y Genomas (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>) y las vías de señalización de Reactome (<https://reactome.org/>); se identificó las rutas metabólicas de relevancia considerando el subtipo celular y las patologías renales. Finalmente, el programa String v-11-0 posibilitó la visualización de la red interactoma y los procesos biológicos.

CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS

Las ciencias Ómicas han aportado significativamente a la comprensión de procesos moleculares involucrados en el desarrollo de múltiples enfermedades. Avances recientes en la secuenciación de ARN unicelular ha solucionado el problema de la heterogeneidad celular lo que ha catapultado el descubrimiento de blancos terapéuticos específicos. En nuestro estudio, el primer paso para identificar blancos terapéuticos consistió en el análisis de sobreexpresión de una base de transcritos de una sola célula proporcionado por Subramanian et al., en el año 2019 con una base de 17759 células de riñón humano adulto [15].

3.1 Análisis de sobreexpresión

Usando el genoma humano completo ($n = 19221$), se encontró 16440 genes sobreexpresados ($Z \text{ score} > 2$), de los cuales, en nuestro estudio fueron considerados los genes que mostraron un porcentaje de sobreexpresión $\geq 50\%$ de acuerdo con el estudio de López-Cortés, et al., [49] siendo estos, 419 genes expresados en seis tipos celulares: podocitos, células T asesinas naturales (NKT), células T, pericitos-1, células mesangiales/fibroblastos y las células vasculares del músculo liso (vSMC).

Los genes *ACTB*, *IGFBP2* y *ITM2B* fueron los genes con el mayor porcentaje de sobreexpresión celular (69.88%); los tres genes se sobreexpresan en los podocitos. Además, se encontró que el 84.01% de los genes sobreexpresados (352) se expresan en los podocitos (**Tabla 1, sección de anexos**). En la **Figura 1A** se muestra un mapa de calor con los 50 genes con mayor porcentaje de sobreexpresión celular en los podocitos. En la **Figura 1B** se muestra un gráfico de puntos detallando los 50 genes con mayor porcentaje de sobreexpresión celular y las puntuaciones del valor de Z: entre 2 y 3.88.

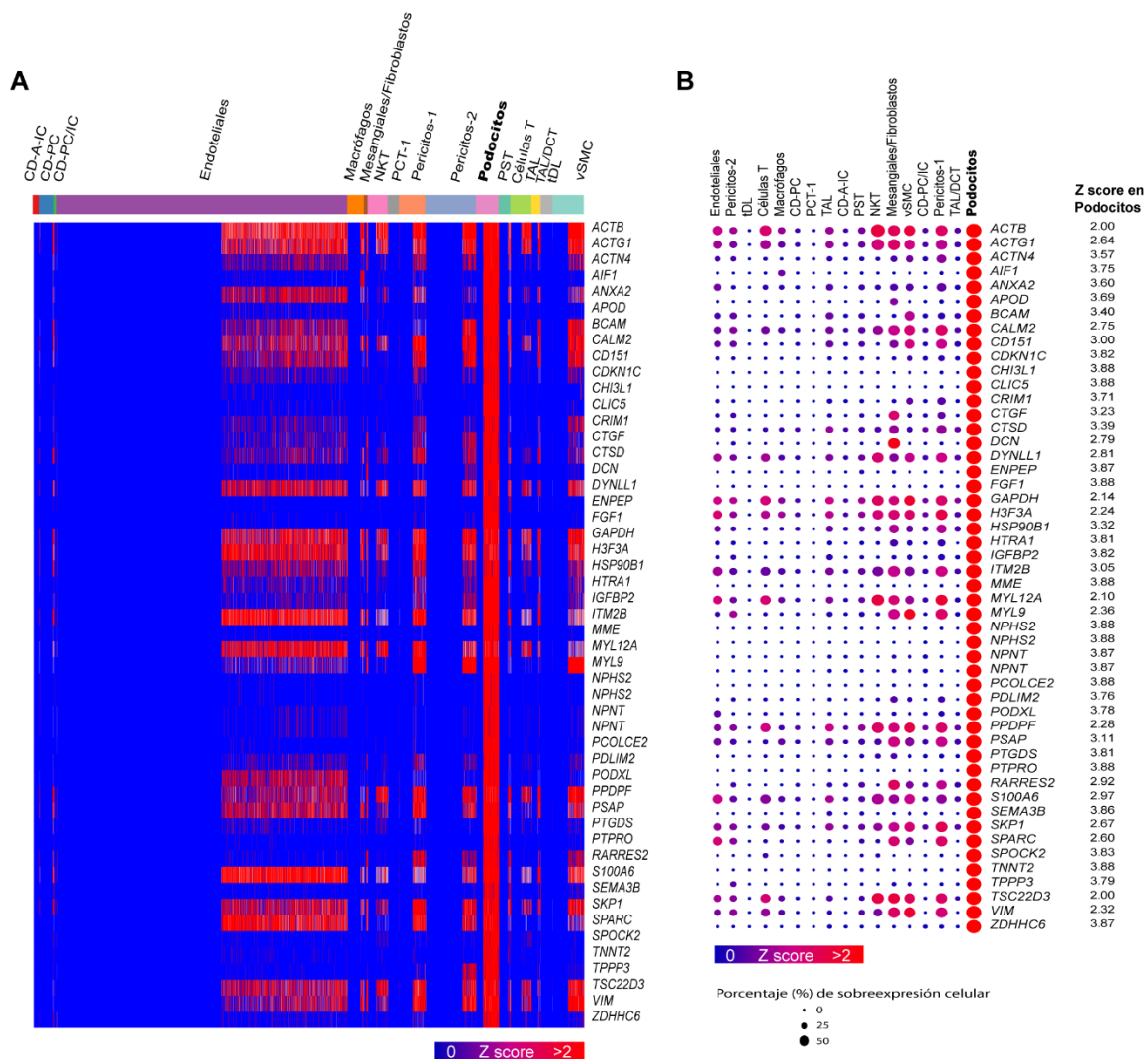


Figura 1. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor del top 50 de los genes sobreexpresados (Z score > 2) en los podocitos. (B) Gráfico de puntos del top 50 de los genes sobreexpresados significativamente en los podocitos y porcentaje de expresión celular. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

Por otro lado, en la **Figura 2A** se muestra un gráfico de cajas comparando la expresión media logarítmica (log) normalizada de los 50 genes con mayor porcentaje de sobreexpresión en las células renales. Los podocitos tienen la expresión media logarítmica (log) normalizada más alta (2.09) en comparación a otras células. **Figura 2B**, incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) de los 17 tipos celulares del riñón y la expresión media logarítmica normalizada de los 50 genes con mayor porcentaje de expresión celular enfocada en podocitos.

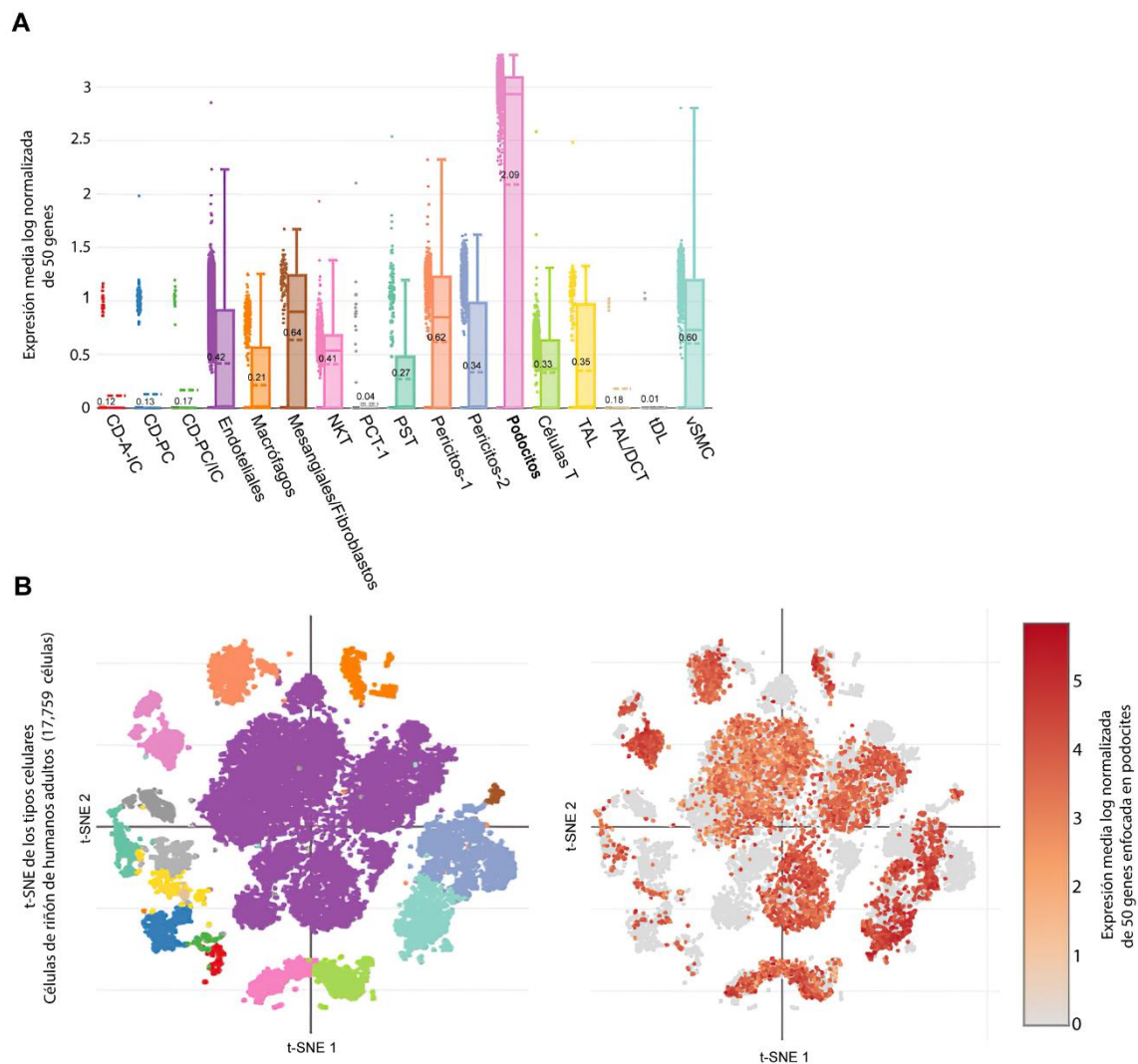


Figura 2. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (B) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en podocitos. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

También se encontró que 41 genes se sobreexpresan significativamente en las células T asesinas naturales (NKT). En la **Figura 3A** se muestra un mapa de calor con los 41 genes sobreexpresados significativamente ($Z \text{ score} \geq 2$) en las NKT. En la **Figura 3B** se muestra un gráfico de puntos detallando los 41 genes sobreexpresados, sus puntuaciones del valor de Z están entre 2 y 3.88. Se encontró que el gen *BTG1* también se sobreexpresa significativamente en las células T ($Z \text{ score} = 2.03$) con un porcentaje de sobreexpresión

celular del 50 %. En las NKT, el porcentaje de sobreexpresión celular del gen *BTG1* fue de 61.09%.

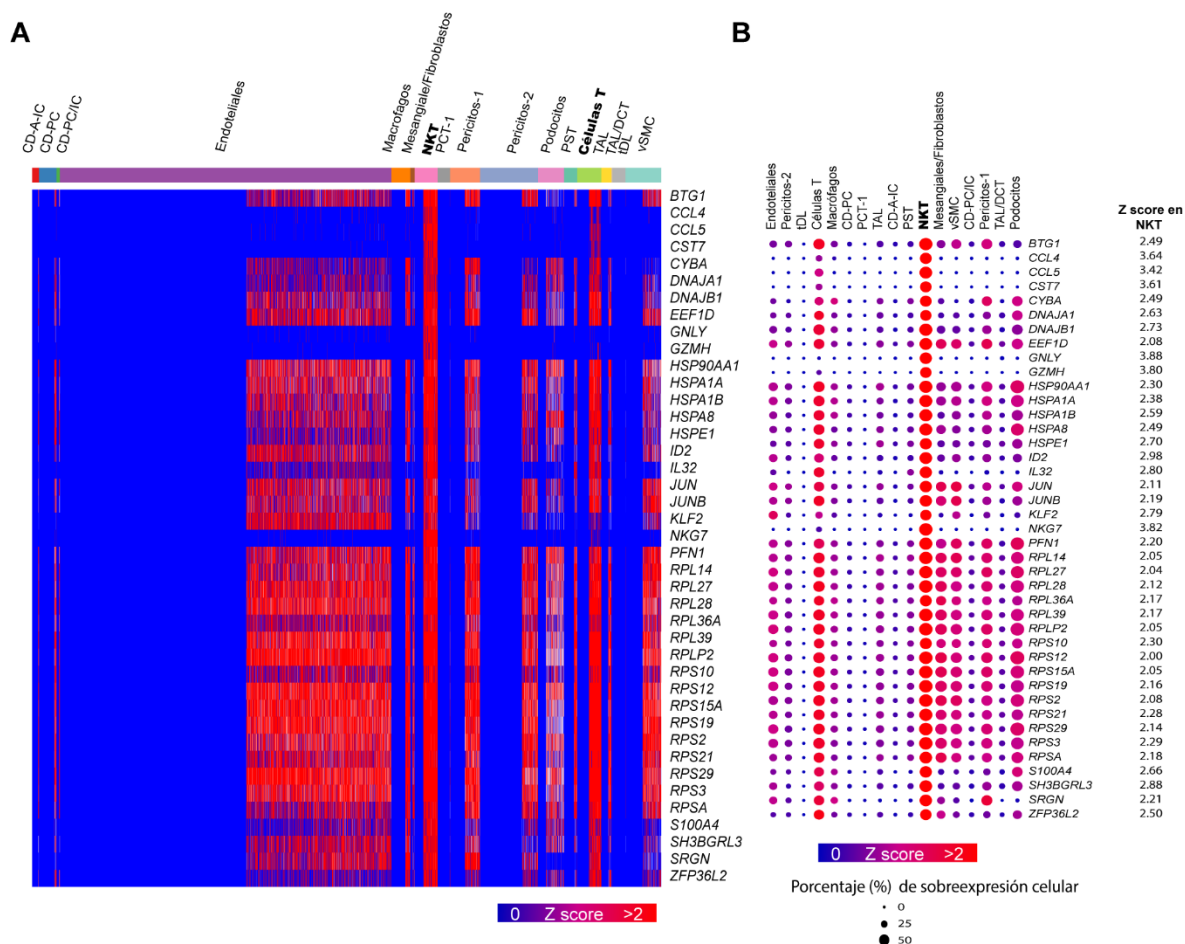


Figura 3. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en las células T asesinas naturales (NKT). (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las NKT y porcentaje de expresión celular. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

En la **Figura 4A**, se muestra un gráfico de cajas comparando la expresión media logarítmica (log) normalizada de los 41 genes sobreexpresados en las células renales. Las NKT tienen la expresión media logarítmica (log) normalizada más alta (1.88) seguido de las células T (1.04). **Figura 4B**, incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) de los 17

tipos celulares del riñón y la proyección de la expresión media logarítmica normalizada de 41 genes enfocada en las NKT.

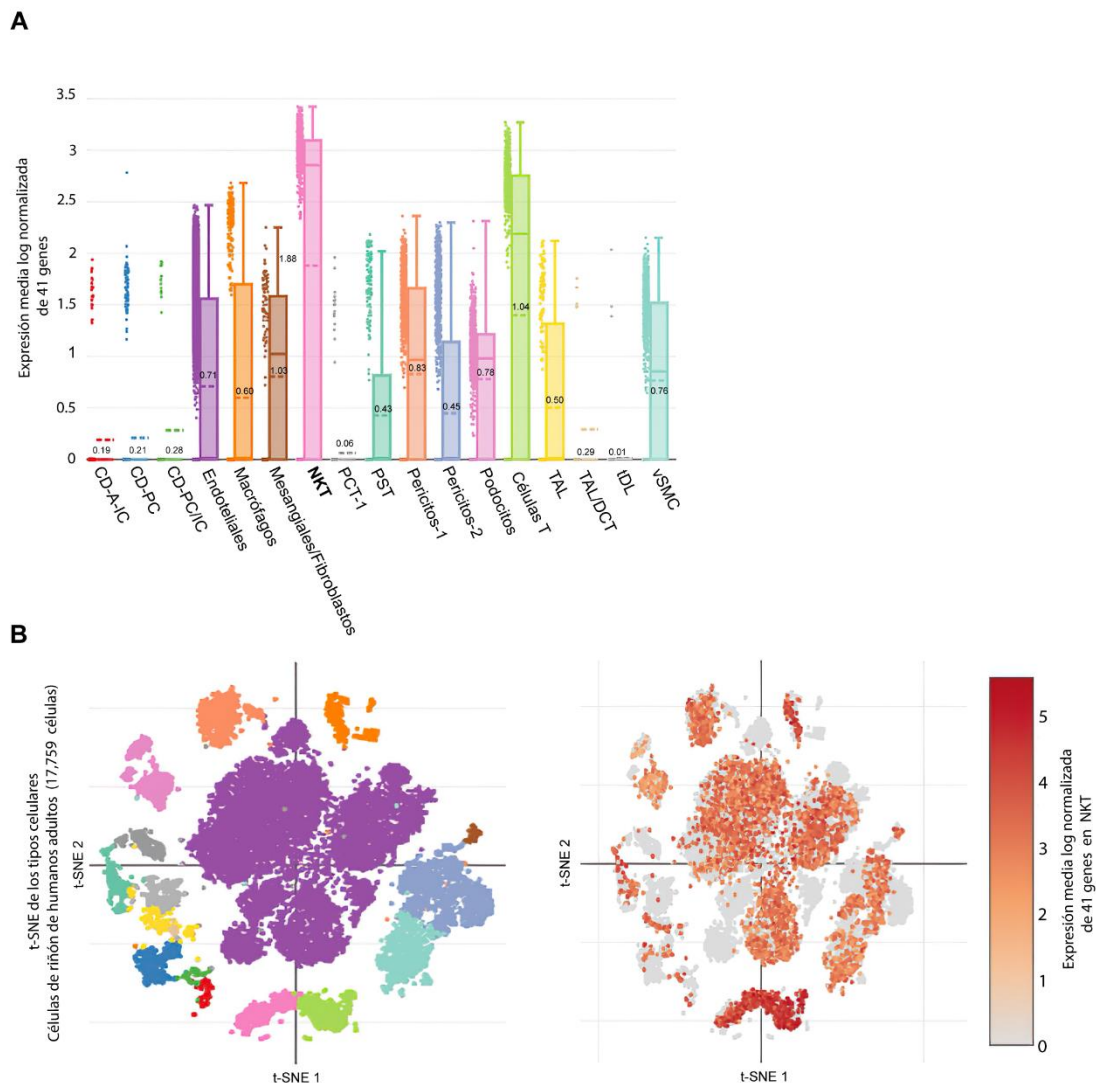


Figura 4. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (B) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las NKT. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

También, en los pericitos-1 se encontró la sobreexpresión significativa (Z score ≥ 2) de 4 genes. En la **Figura 5A** se muestra un mapa de calor con los 4 genes sobreexpresados significativamente (Z score ≥ 2). Mientras que, en la **Figura 5B** se muestra un gráfico de puntos detallando los porcentajes de sobreexpresión celular y sus puntuaciones del valor de Z (entre 2.02 y 3.86) de los 4 genes en los pericitos-1. En la **Figura 5C**, se muestra un gráfico de cajas comparando la expresión media logarítmica (log) normalizada de los 41

genes sobreexpresados en las células renales. Los pericitos-1 tienen la expresión media logarítmica (log) normalizada más alta (1.61). **Figura 5D**, incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) de los 17 tipos celulares del riñón y la proyección de la expresión media logarítmica normalizada de 4 genes enfocada en los pericitos-1.

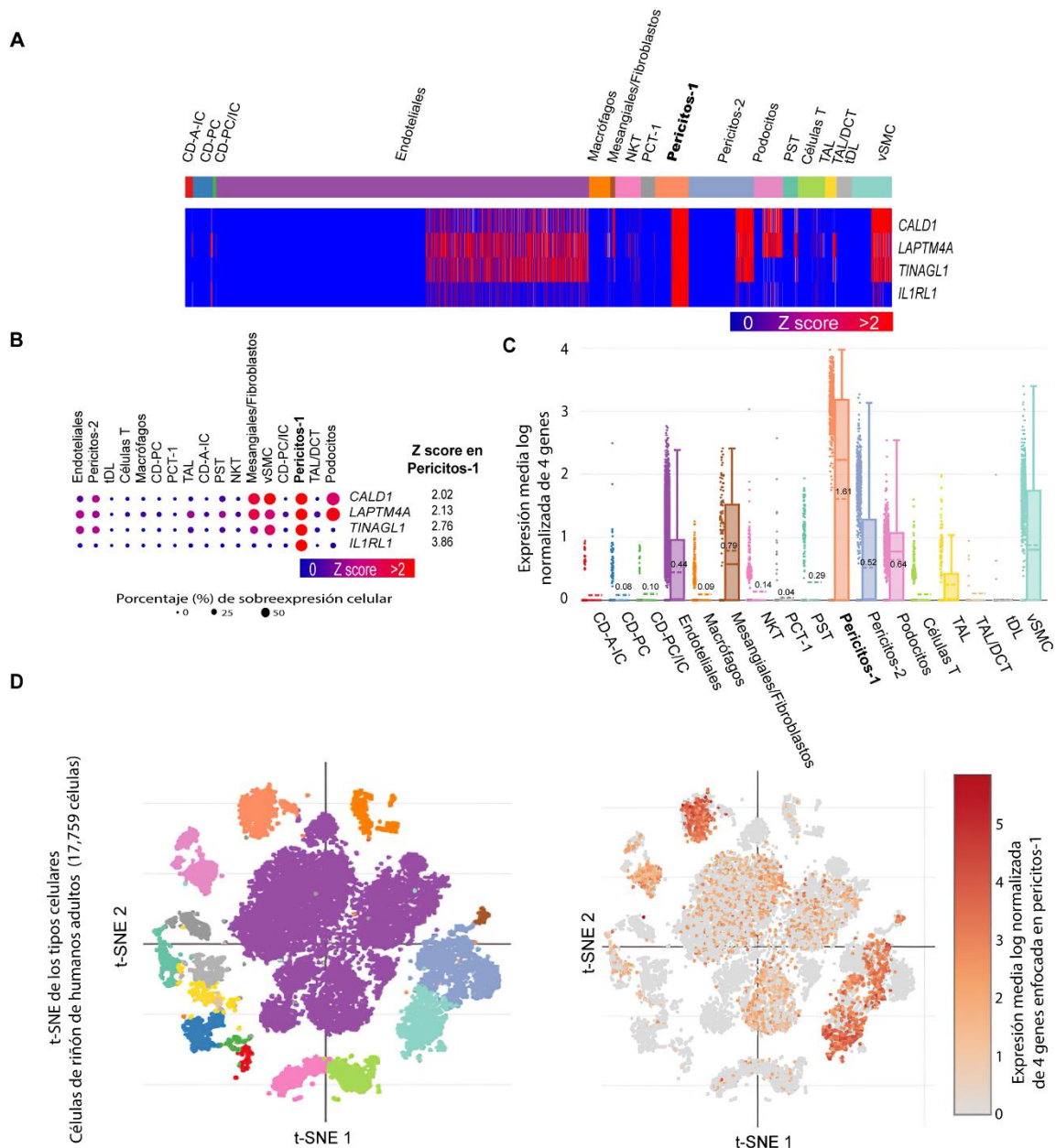


Figura 5. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en los pericitos 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en los pericitos 1 y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en los pericitos 1. Gráficos con *Single Cell portal*.

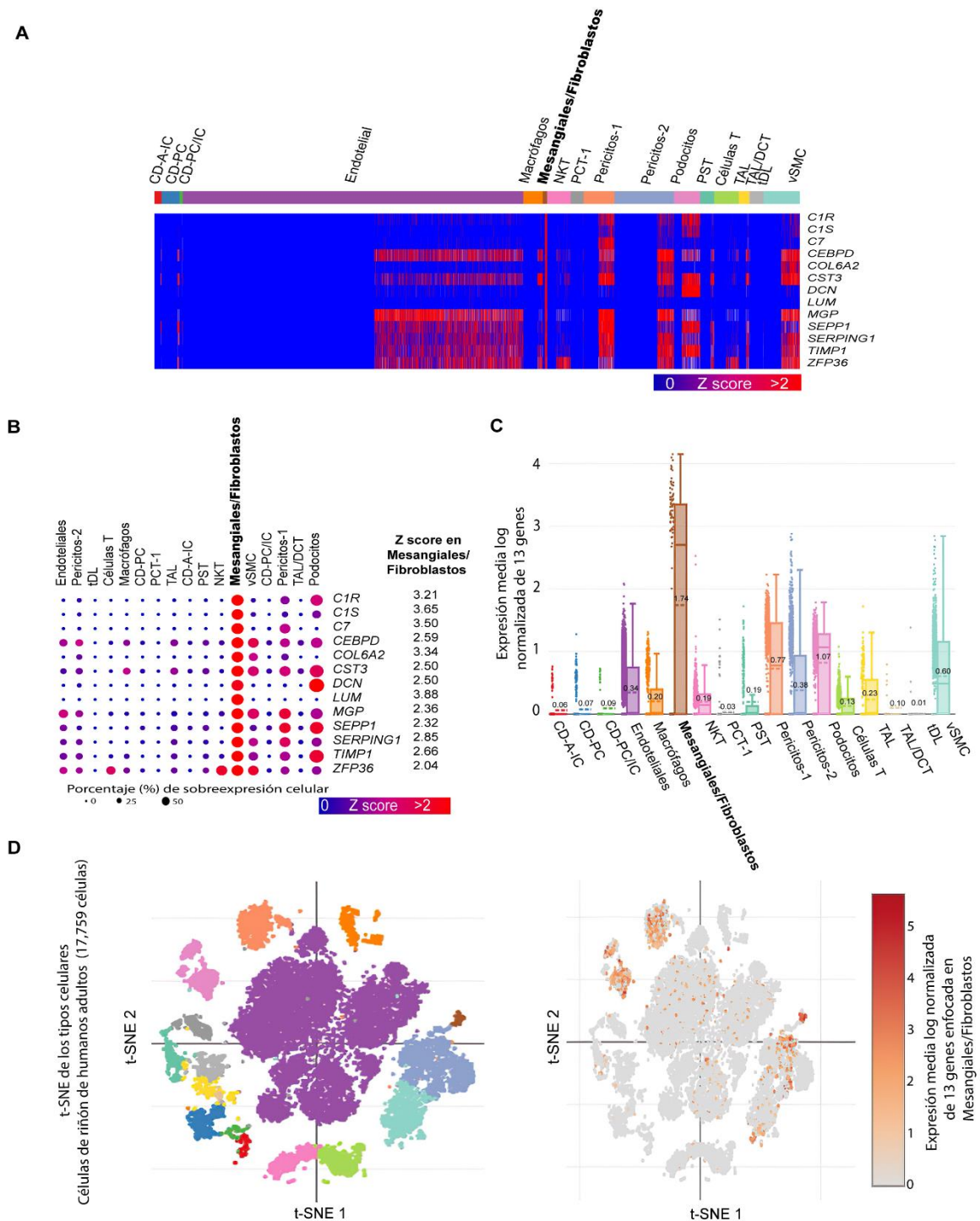


Figura 6. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en las células mesangiales 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las células mesangiales y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las células mesangiales. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

En las células mesangiales/fibroblastos se encontró la sobreexpresión significativa (Z score ≥ 2) de 13 genes. En la **Figura 6A** se muestra un mapa de calor con los 13 genes sobreexpresados significativamente. En la **Figura 6B** se muestra un gráfico de puntos detallando los porcentajes de sobreexpresión celular y sus puntuaciones del valor de Z (entre 2.04 y 3.88) de los 13 genes en las células mesangiales/fibroblastos. En la **Figura 6C**, se muestra un gráfico de cajas comparando la expresión media logarítmica (log) normalizada de los 13 genes sobreexpresados en las células renales. Las células mesangiales/fibroblastos tienen la expresión media logarítmica (log) normalizada más alta (1.74). **Figura 6D**, incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) de los 17 tipos celulares del riñón y la proyección de la expresión media logarítmica normalizada de 13 genes enfocada en las células mesangiales/fibroblastos.

Finalmente, se encontró 8 genes sobreexpresados significativamente (Z score ≥ 2) en las células musculares lisas vasculares (vSMC). En la **Figura 7A** se muestra un mapa de calor con los 8 genes sobreexpresados significativamente. En la **Figura 7B** se muestra un gráfico de puntos detallando los porcentajes de sobreexpresión celular y sus puntuaciones del valor de Z (entre 2.00 y 3.32) de los 8 genes en las células musculares lisas vasculares (vSMC). En la **Figura 6C**, se muestra un gráfico de cajas comparando la expresión media logarítmica (log) normalizada de los 8 genes sobreexpresados en las células renales. Las células mesangiales/fibroblastos tienen la expresión media logarítmica (log) normalizada más alta (2.00). **Figura 6D**, incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) de los 17 tipos celulares del riñón y la proyección de la expresión media logarítmica normalizada de los 8 genes enfocada en las células musculares lisas vasculares (vSMC).

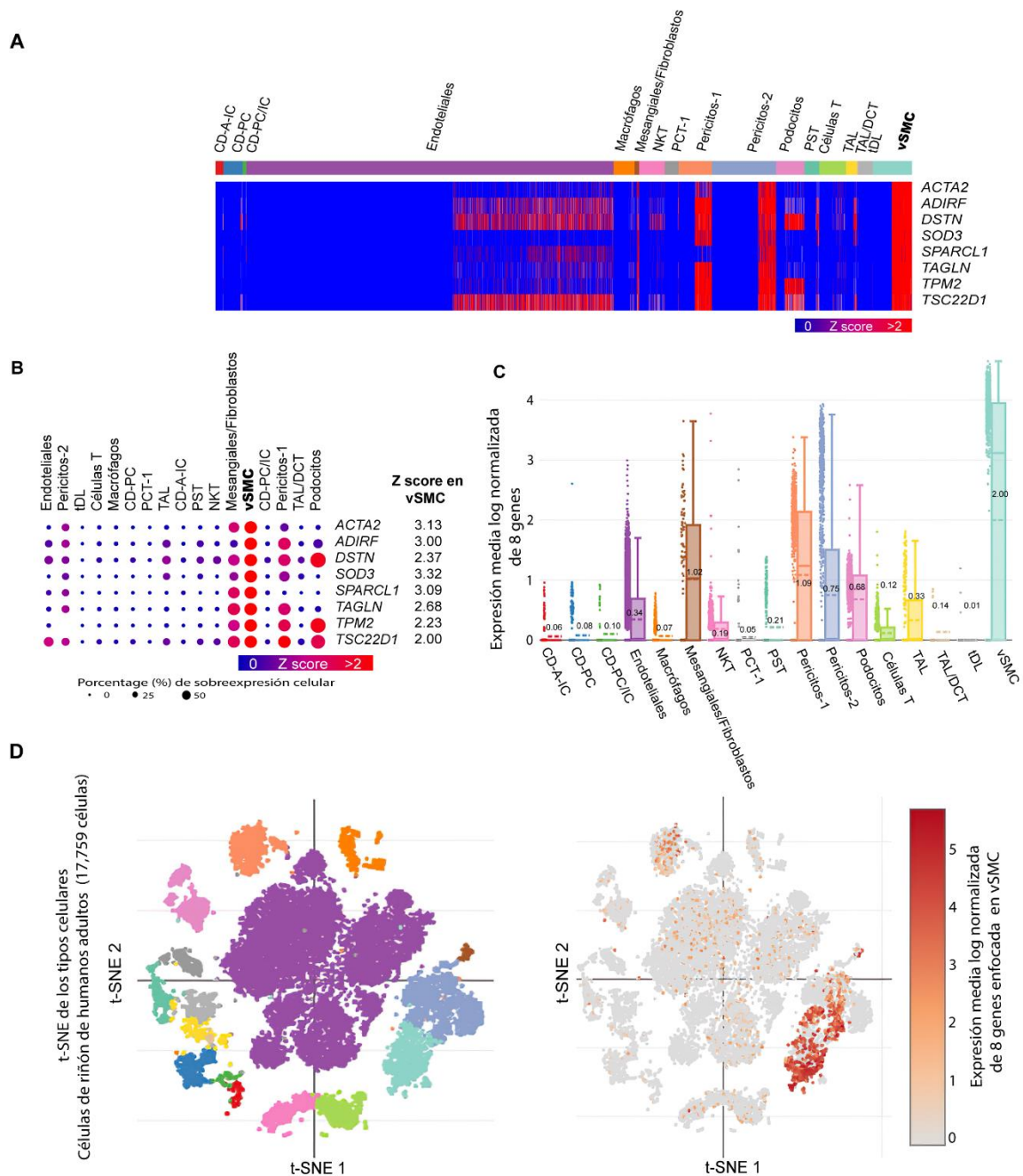


Figura 7. Análisis de datos de secuenciación de ARN unicelular en células de riñón humano adulto. (A) Mapa de calor de los genes sobreexpresados (Z-score > 2) en las vSMC 1. (B) Gráfico de puntos de los genes sobreexpresados significativamente en las vSMC y porcentaje de expresión celular. (C) Gráfico de cajas de los tipos de células renales según su expresión media normalizada. (D) Incrustación de vecinos estocásticos distribuidos en t (t-SNE) del tipo celular y expresión media logarítmica normalizada enfocada en las vSMC. Gráficos obtenidos con *Single Cell Portal*.

3.2 Análisis de interacción proteína-proteína

Se realizó tres redes de interacción proteína-proteína que abarcan 421 nodos y 1057 enlaces (valor de $p < 1.0 \times 10^{-16}$). Para la construcción de estas tres redes usamos los 419 genes sobreexpresados significativamente ($Z \text{ Score} \geq 2$) y con un porcentaje de sobreexpresión $\geq 50\%$ en los seis tipos celulares: podocitos, células T asesinas naturales (NKT), células T, pericitos-1, células mesangiales/fibroblastos y células musculares lisas vasculares (vSMC).

En la **Figura 8** se muestra la red de interacción proteína-proteína enfocada en transporte mediado por vesículas y exosomas (red 1). Se encontró 78 proteínas de las cuales el 63.89% están ligadas al procesos metabólicos o sistema inmune (**Tabla 2, sección de anexos**) En la **Figura 9** se muestra la red de interacción proteína-proteína enfocada en el sistema inmune (red 2). Se encontró 100 proteínas sobreexpresadas. Finalmente, la **Figura 10** se muestra la red de interacción proteína-proteína enfocada en procesos metabólicos con 139 proteínas (red 3).

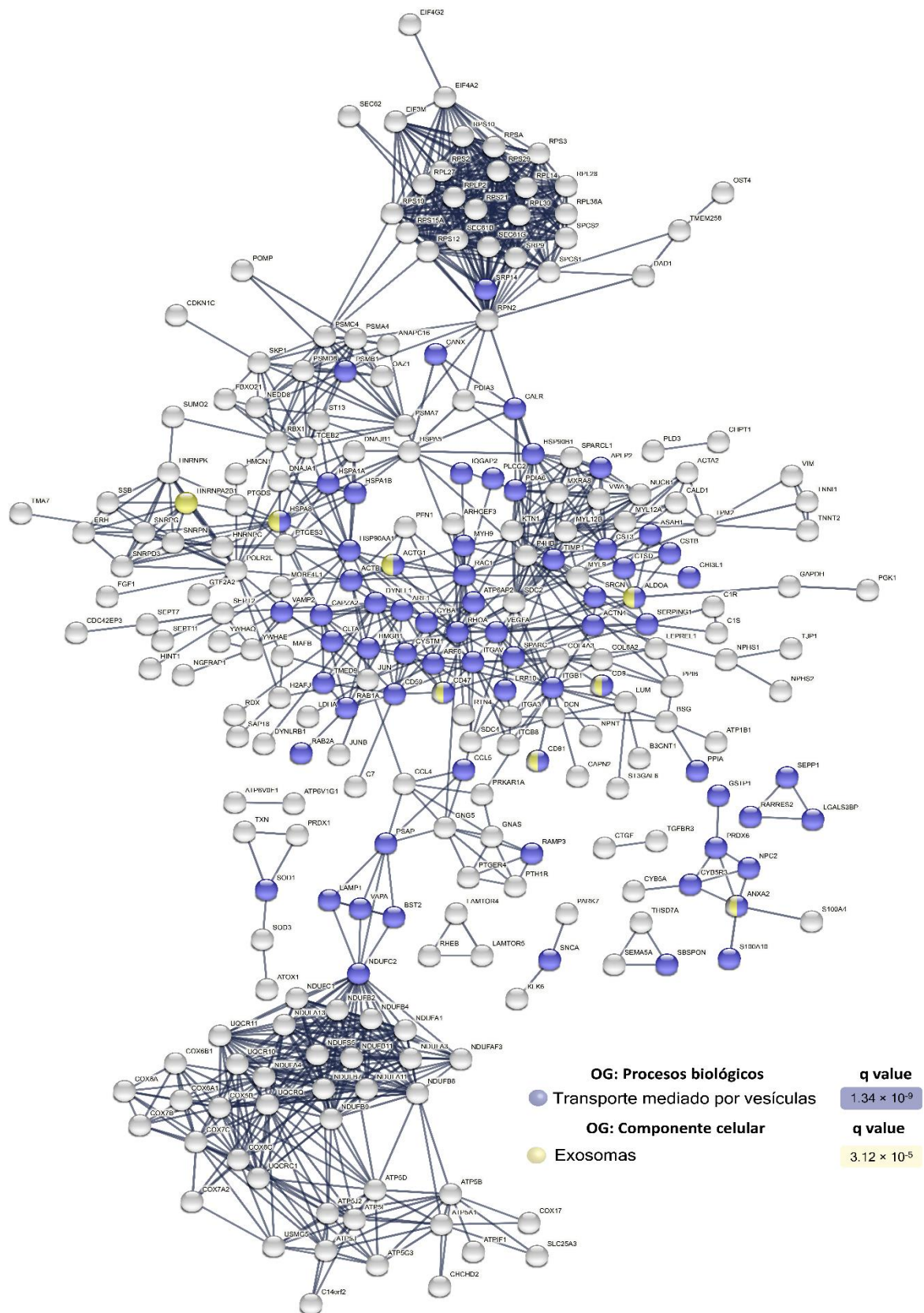


Figura 8. Red de interacción proteína-proteína enfocada en exosomas y trasporte mediado por vesículas. El transporte mediado por vesículas corresponde a procesos biológicos de OG y los exosomas a componente celular de OG. Gráficos con *String* v.11.0.

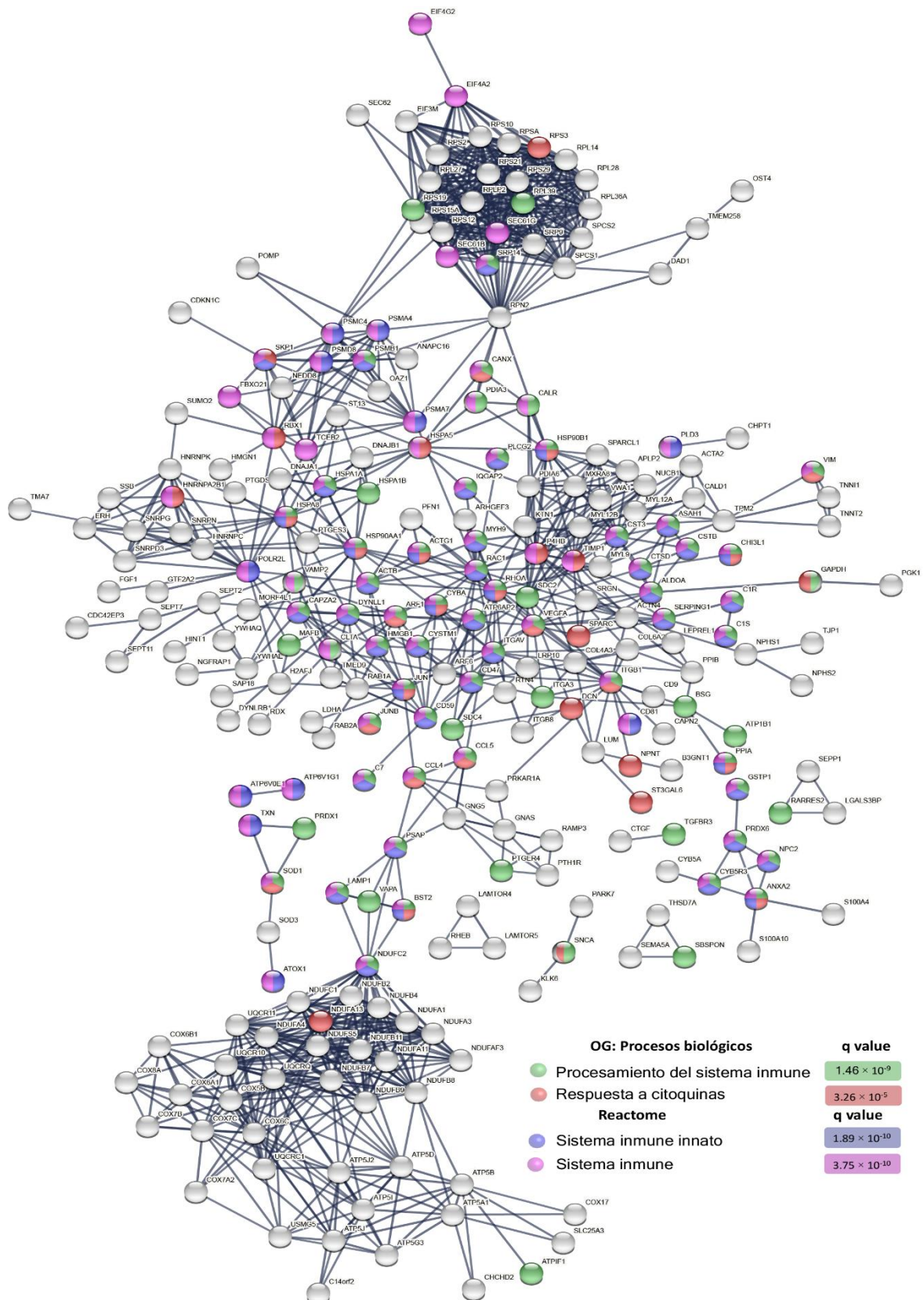


Figura 9. Red de interacción proteína-proteína enfocada en el Sistema inmune. El procesamiento de sistema inmune y la respuesta a citoquinas pertenecen a procesos biológicos de OG. Sistema inmune y sistema inmune innato a rutas metabólicas de Reactome. Gráfico con *String* v.11.0.

3.3 Análisis de enriquecimiento funcional

El análisis de enriquecimiento funcional se realizó para validar la correlación entre las redes de interacción proteína-proteína y anotaciones biológicas significativas ($FDR < 0.001$). Se encontró 619 procesos biológicos, 67 funciones moleculares y 190 componentes celulares (ontología génica) significativamente asociados con las 419 proteínas renales de la red de interacción. Además, se encontró 41 rutas de señalización en KEGG y 196 en Reactome. Sin embargo, luego de una curación manual se encontró 2 procesos biológicos, 2 componentes celulares, una ruta metabólica en KEGG y 5 rutas en Reactome significativamente asociadas a patologías renales (**Tabla 1**).

Tabla 1. Análisis de enriquecimiento funcional y términos asociados a patologías renales

Término	Descripción	Tasa de descubrimiento falso (FDR)
*OG: Procesos Biológicos	Respuesta a citoquinas	3.26×10^{-5}
	Procesamiento del sistema inmune	1.46×10^{-9}
	Trasporte mediado por vesículas	1.34×10^{-9}
OG: Componente celular	Exosomas	3.12×10^{-5}
KEGG	Rutas metabólicas	1.15×10^{-5}
Reactome	Metabolismo de aminoácidos y derivados	1×10^{-4}
	Metabolismo de proteínas	3.28×10^{-11}
	Metabolismo **	2.17×10^{-10}
	Sistema inmune innato	1.89×10^{-10}
	Sistema inmune	3.75×10^{-10}
*Ontología génica (OG)		
**Incluye proteínas asociadas al metabolismo de lípidos		

CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis de sobreexpresión

Los podocitos, fueron las células con más genes sobreexpresados significativamente (80.04%); el top 50 de estos genes se muestran en la **Figura 1a y 1b**. Además, los genes con mayor porcentaje de sobreexpresión celular están en los podocitos. Estos datos son congruentes con la función del riñón y el rol de estas células en el proceso de filtración glomerular. Los podocitos son células muy diferenciadas, cuyas funciones se basan en su compleja arquitectura y su principal función es el ultrafiltrado de sustancias de interés del plasma sanguíneo a su paso por los pedicelos, prolongaciones a manera de tentáculos que conforman una red nanométrica de filtración [50]. Estos expresan una proteína llamada nefrina que, al interactuar con otras proteínas, como la podocina, bloquean el paso de moléculas de gran tamaño y filtran elementos de desecho (moléculas de menor tamaño) [51].

Los genes *IGFBP2*, 69.88%; *CTGF*, 67.40%; *WT1*, 62.59%; *FGF1*, 69.05%; *VEGFA*, 64,79% y *TGFBR3*, 60.66% (**Figura 1b y Tabla 1 en anexos**) parecen tener un rol importante en el desarrollo de la nefropatía diabética [52]. El gen *IGFBP2* está relacionado con el crecimiento y desarrollo de los podocitos [53]. Se ha reportado que el silenciamiento de este gen puede incidir en el desarrollo de diabetes renal [54]. También se ha reportado un aumento en la expresión de *CTGF* como de *VEGFA* en biopsias de pacientes con enfermedad diabética renal [55].

Dado que los podocitos son células terminalmente diferenciadas, su pérdida es un acontecimiento irreversible que conduce a una disminución en la función de la barrera de filtración glomerular [56]. También, se ha reportado que los genes *COL4A3*, *NPHS2*, expresados en este tipo celular están ligados Síndrome de Alport y al Síndrome nefrótico resistente a los esteroides, respectivamente [6]. Se ha demostrado que una disminución en el número de células y la acumulación de proteínas en el área de filtrado o la fibrosis de las

estructuras son determinantes en la aparición de enfermedades como la enfermedad diabética renal (nefropatía diabética) o la nefropatía hipertensiva entre las más comunes. Por otro lado, la sobreexpresión de más del 80% de los genes en los podocitos también se debe a que los podocitos comparten muchos elementos del sistema inmunitario innato y adaptativo [57,58]. Este tipo de células expresan el sistema de complemento y los receptores relacionados, receptores tipo Toll, complejo mayor de histocompatibilidad I/II y moléculas coestimuladoras [59]. Nuestros resultados ponen en evidencia genes propios del sistema inmune sobreexpresados en los podocitos: *CD151*, 68.64%; *CD164*, 59.83%; *CD46*, 56.81%; *CD47*, 58.18%; *CD59*, 63.27%; *CD81*, 61.49 % y *CD9*, 59.28%. También se encontró integrinas como *ITGA3*, 58.32%; *ITGAV*, 63.27%; *ITGB1*, 65.61%; *ITGB8*; 57.36%. Pozzi et al., en año 2008 demostró que la expresión de la integrina $\beta 1$ por parte de los podocitos es necesaria para mantener la integridad estructural glomerular, mientras que Sawada et al., en el año 2018 [60], sugiere que la integrina $\alpha 3\beta 1$ codificada por el gen *ITGA3* tiene una regulación negativa en etapas tempranas de la nefropatía diabética [61]

El gen *BTG1*, sobreexpresado en las células T, también se expresa en las células NKT y produce la proteína Btg1 que actúa como supresor tumoral. Varios estudios han demostrado que la sobreexpresión de *BTG1* suprime la proliferación, la migración y la invasión, e induce la apoptosis y la detención del ciclo celular varios tipos de cáncer, incluido cáncer renal [62,63].

Por otro lado, las células mesangiales, otro elemento relevante para el proceso de filtración, se encargan de sostener físicamente los capilares glomerulares y ocupan los espacios intercelulares bajo de la membrana basal del glomérulo, son relativamente pequeñas y de forma irregular. La expansión de las células mesangiales se da en algunas enfermedades renales como resultado de la reducción del área de filtración y la oclusión de los capilares glomerulares [64,65]. Los genes con mayor porcentaje de sobreexpresión celular en este tipo celular fueron *C1R*, *C7*, *CST3* y *LUM* (52.46 % en los tres genes). Los genes *C7*, *C1R*, son componentes del sistema de complemento lo cual indica que este tipo celular también tiene actividades pro inflamatorias y esto lo sustenta Yu et al., en el 2019 [66].

En las células vasculares del músculo liso (VSMC) se encontraron los genes *ACTA2*, 51.05%; *TAGLN*, 51.25%; *DSTN*, 51.15%; *ADIRF*, 50.95%; *TPM2*, 50.75; *SOD3*, 50.65; *SPARCL1*, 50.25%; *TSC22D1*, 50.25%. Se ha reportado se el gen *SOD3* es uno de los causantes de la ERC [67] y que la regulación negativa del gen *SPARCL1* es un buen biomarcador para el pronóstico de pacientes con insuficiencia renal [68].

Este tipo de células tienen la capacidad de cambiar de forma dramáticamente ante estímulos externos, se pueden contraer y dilatar los vasos sanguíneos para disminuir y aumentar el flujo. En colaboración con las células endoteliales, las VSMC median los cambios agudos y crónicos en la perfusión de los tejidos en respuesta a condiciones patológicas [69]. Además, las VSMC experimentan un cambio osteogénico y secretan vesículas extracelulares que son heterogéneas en cuanto a su origen y composición. En condiciones patológicas, las vesículas extracelulares secretadas adquieren un perfil procalcificante y, por tanto, actúan como focos nucleantes para la cristalización de la hidroxiapatita y la propagación de la calcificación [70].

Finalmente, en los pericitos se evidenció la sobreexpresión del gen *IL1RL1*, receptor de la interleucina 33 que parece promover la fibrosis renal [71]. Aunque este tipo de genes también son exclusivos de células del sistema inmune, resulta novedoso la expresión de este gen en este tipo celular. Los pericitos son células progenitoras capaces de diferenciarse en fibroblastos y miofibroblastos, que son activados por factores de crecimiento de los pericitos como el TGF- β y el PDGFR- β [72]. Los pericitos de tipo I podrían secretar colágeno, desempeñando así un papel similar al de los miofibroblastos [73].

4.2 Redes de interacción proteína-proteína y análisis de enriquecimiento funcional

4.2.1 Transporte mediado por vesículas y exosomas

Los exosomas, son un tipo de vesícula extracelular de entre 40 y 100 nm que han sido utilizados como importantes biomarcadores en la disfunción renal, daño estructural y fisiopatologías [74]. Estudios han demostrado que la mayoría de los exosomas de las nefronas se originan en los podocitos glomerulares, lo cual podría explicar el elevado número de genes sobreexpresados en este tipo de células (**Figura 1**). También se ha reportado que los túbulos proximales y distales, ducto conductor y asa de Henle producen exosomas [75]. Estas vesículas extracelulares son abundantes en proteínas como la podocina y la podocaxilina expresadas en los podocitos, o acuaporinas en los túbulos proximales y distales. Se ha demostrado que la glucosa elevada reduce la expresión la podocina induciendo a alteraciones morfológicas en los podocitos [76].

En nuestro estudio también encontramos proteínas exosomales asociadas al preprocesamiento del ARN (hnRNP) mientras que Zang, Maxwell, Simpson y Mckay [77] encontraron que la expresión diferencial de dos mi-ARN expresados en exosomas urinarios de humanos adultos con enfermedad renal diabética (nefropatía diabética) y daño de la fisiología renal funcionan como potenciales biomarcadores de estas enfermedades. La contribución de los miRNAs y mRNAs derivados del tejido renal en la progresión de enfermedades renales como la ERC también ya ha sido reportada[75]; sin embargo, el estudio de los exosomas y aún más las proteínas de estas vesículas aún es un campo naciente.

También encontramos enzimas glucolíticas como la Fructosa-bisfosfato aldolasa A (ALDOA). Se ha reportado que la isoforma A se encuentra sobreexpresada en varios tipos de cáncer e induce la progresión de células renales [78,79]. Un estudio del año 2018 encontró que, durante la fibrosis intersticial renal, aumenta la glucólisis de la célula epitelial

tubular renal, conduciendo recodificación del metabolismo energético. Este proceso afectó al número y la función de los podocitos y agravó la fibrosis intersticial renal [80]. Además, se evidenció que la sobreexpresión de proteína SDC4 que tiene un rol importante en la biogénesis y mantenimiento de exosomas [81].

Nuestros resultados se pueden comparar con otros estudios de proteómica de orina en pacientes con nefropatía membranosa primaria. En el 2018 se reportó que el análisis de enriquecimiento de la ontología génica (OG) de 249 proteínas identificadas en procesos biológicos dio como resultado valores significativos para proteínas de transporte mediado por vesículas, respuesta inmune y las cascadas de coagulación. Los autores sugieren que la expresión de la proteína de membrana del lisosoma-2 en las microvesículas urinarias funciona como un potencial biomarcador de los polimorfonucleares neutrófilos humanos (PMN) [82]. En nuestro estudio también encontramos proteínas de choque térmico, inhibidores de proteasas y transporte y degradación de lípidos asociadas al transporte mediado por vesículas. En apartados posteriores se discutirá el rol de estas proteínas en el metabolismo renal.

4.2.2 Metabolismo

El metabolismo de aminoácidos y derivados, proteínas y lípidos parecen estar relacionados al desarrollo de patologías renales [83–86]. En nuestro estudio encontramos dos grupos principales de proteínas asociadas al metabolismo proteico: proteínas ribosomales (RPL36A, RPL28, RPS12, RPS15, RPS19, RPL27, RPL10) y proteínas de la familia de las hidrogenasas (NDUFA1, NDUFA11, NDUFA13, NDUFA13, NDUFA3, NDUFA4, NDUFAF3, NDUFB11, NDUFB2, NDUFB4, NDUFB7, NDUFB8, NDUFB9, NDUFC1, NDUFC2, NDUFC2, NDUFC2, NDUF55). El estudio de Ngai et al., [87] resalta el uso de RPL5 como biomarcador de glomerulonefritis membranosa. También evidenciamos la sobreexpresión de las proteínas Cistatina-C y D que actúa como inhibidor de las cisteínas proteinasas. Se cree que esta proteína desempeña un papel fisiológico importante como regulador local de esta actividad enzimática. [88]. En nuestro estudio también se reporta la sobreexpresión de chaperonas moleculares, particularmente las proteínas de choque

térmico (HSP90AA1, HSP90B1, HSPA14, HSPA1A, HSPA1B, HSPA5, HSPA5, HSPA8, HSPA8, HSPA8). Algunos estudios han mostrado que la proteína de choque térmico 72 es buen biomarcador de la lesión renal aguda, [89]. Aunque en nuestro estudio no se encontró la sobreexpresión de esta proteína, si se encontró la sobreexpresión de la proteína de coque térmico 90. Estos datos se sustentan con el estudio de Chebotareva, et al., del año 2020 quien concluye que la Hsp90 parece estar implicada en la progresión de la inflamación inmunitaria a través de su efecto sobre el factor proinflamatorio capa kappa (NFkB) en pacientes con glomerulonefritis crónica y que esta proteína puede ser posible blanco terapéutico [90].

También, varios autores han reportado que la sobreexpresión de LIMP2 (proteína de membrana lisosomal) podría ser una consecuencia de una disfunción del transporte de proteínas entre los lisosomas y la membrana plasmática de los podocitos, ya que LIMP2 desempeña un papel clave en la biogénesis y el mantenimiento de los lisosomas y endosomas [91,92]. En nuestro estudio también encontramos la sobreexpresión de proteína SDC4 que tiene un rol importante en la biogénesis y mantenimiento de exosomas.

Por otro lado, varios autores han develado la importancia de los lípidos en el desarrollo de patologías renales. Por ejemplo, un análisis de enriquecimiento de red diferencial demostró que pacientes con ERC grave (etapa 4) tenían gran abundancia de triacilglicerol poliinsaturados más prolongados [86]. También se ha demostrado que los ácidos grasos libres en exceso pueden dañar los podocitos y las células epiteliales aumentan las especies reactivas al oxígeno y la peroxidación de lípidos. Sin embargo, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) parecen tener el efecto contrario ya que ayudan a retrasar la progresión de la ERC [84]. En este estudio también se reporta la sobreexpresión de factores de transcripción pertenecientes a la superfamilia de receptores nucleares (PPAR) que regulan procesos como la lipogénesis [93], La producción de las moléculas de segundo mensajero diacilglicerol (PLCG2), la proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad 10 (LRP10) y peroxidasas como la PRDX6. El rol de las peroxidasas en el desarrollo de una patología renal aún no ha sido elucidado.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Se encontró que 352 genes, de 419 genes sobreexpresados significativamente en los podocitos; además, los genes con mayor porcentaje de sobreexpresión celular están en este tipo celular. Varios genes y proteínas como las interleucinas e integrinas también se sobreexpresan en células que no pertenecen al sistema inmune; principalmente en los podocitos. Además, proteínas de los exosomas y proteínas transportadoras participan en la respuesta inmune innata, lo cual pone de manifiesto la red de interacción de estas proteínas. Los procesos metabólicos también muestran una relación con las proteínas de los exosomas y proteínas transportadoras. También se destacan tres grupos principales de proteínas sobreexpresadas: hidrogenasas, proteínas de choque térmico y proteínas ribosomales. Algunas de estas proteínas aún no han tenido reportes en el desarrollo de patologías renales y amerita futuras investigaciones.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda comparar estos resultados con estudios enfocados en una o varias patologías renales. El campo de la secuenciación de células individuales es naciente y los reportes en cuanto a patologías renales en humanos son escasos. Hasta la fecha de la presentación de este trabajo no se evidenció reportes de secuenciación de ARNm de células individuales de pacientes con ERC.

Por otro lado, el presente estudio fue desarrollado gracias a la disponibilidad de datos; sin embargo, esos datos no muestran la realidad específica de un grupo poblacional en concreto. Para el desarrollo de una medicina de precisión en base a información a escala celular se deberían considerar generar regulaciones para poder tener biobancos en Ecuador y así poder analizar nuestras propias muestras debido a sus características étnicas propias.

Referencias

1. Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A, Fukutaki K, Fullman N, McGaughey M, et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *Lancet*. 2018;392: 2052–2090. doi:10.1016/S0140-6736(18)31694-5
2. Bikbov B, Purcell CA, Levey AS, Smith M, Abdoli A, Abebe M, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395: 709–733. doi:10.1016/S0140-6736(20)30045-3
3. Koye DN, Magliano DJ, Nelson RG, Pavkov ME. The Global Epidemiology of Diabetes and Kidney Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*. W.B. Saunders; 2018. pp. 121–132. doi:10.1053/j.ackd.2017.10.011
4. Downie ML, Gallibois C, Parekh RS, Noone DG. Nephrotic syndrome in infants and children: Pathophysiology and management. *Paediatr Int Child Health*. 2017;37: 248–258. doi:10.1080/20469047.2017.1374003
5. Groopman EE, Rasouly HM, Gharavi AG. Genomic medicine for kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group; 2018. pp. 83–104. doi:10.1038/nrneph.2017.167
6. Stavljenić-Rukavina A. Hereditary Kidney Disorders. *EJIFCC*. 2009;20: 33–40. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27683325>
7. Wu H, Humphreys BD. The promise of single-cell RNA sequencing for kidney disease investigation. *Kidney Int*. 2017;92: 1334–1342. doi:10.1016/j.kint.2017.06.033
8. Olsen TK, Baryawno N. Introduction to Single-Cell RNA Sequencing. *Curr Protoc Mol Biol*. 2018;122: e57. doi:10.1002/cpmb.57
9. Hwang B, Lee JH, Bang D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. *Exp Mol Med*. 2018;50. doi:10.1038/s12276-018-0071-8
10. Conway BR, O’Sullivan ED, Cairns C, O’Sullivan J, Simpson DJ, Salzano A, et al. Kidney single-cell atlas reveals myeloid heterogeneity in progression and regression

- of kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2020;31: 2833–2854.
doi:10.1681/ASN.2020060806
11. Fu J, Akat KM, Sun Z, Zhang W, Schlondorff D, Liu Z, et al. Single-cell RNA profiling of glomerular cells shows dynamic changes in experimental diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2019;30: 533–545. doi:10.1681/ASN.2018090896
 12. Wilson PC, Wu H, Kirita Y, Uchimura K, Ledru N, Rennke HG, et al. The single-cell transcriptomic landscape of early human diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116: 19619–19625. doi:10.1073/pnas.1908706116
 13. Lake BB, Chen S, Hoshi M, Plongthongkum N, Salamon D, Knoten A, et al. A single-nucleus RNA-sequencing pipeline to decipher the molecular anatomy and pathophysiology of human kidneys. *Nat Commun*. 2019;10: 1–15.
doi:10.1038/s41467-019-10861-2
 14. Wu H, Malone AF, Donnelly EL, Kirita Y, Uchimura K, Ramakrishnan SM, et al. Single-cell transcriptomics of a human kidney allograft biopsy specimen defines a diverse inflammatory response. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29: 2069–2080.
doi:10.1681/ASN.2018020125
 15. Subramanian A, Sidhom EH, Emani M, Vernon K, Sahakian N, Zhou Y, et al. Single cell census of human kidney organoids shows reproducibility and diminished off-target cells after transplantation. *Nat Commun*. 2019;10: 5462.
doi:10.1038/s41467-019-13382-0
 16. Liao J, Yu Z, Chen Y, Bao M, Zou C, Zhang H, et al. Single-cell RNA sequencing of human kidney. *Sci Data*. 2020;7: 1–9. doi:10.1038/s41597-019-0351-8
 17. Sun L, Zou LX, Chen MJ. Make Precision Medicine Work for Chronic Kidney Disease. *Medical Principles and Practice*. S. Karger AG; 2017. pp. 101–107.
doi:10.1159/000455101
 18. Gluck C, Ko YA, Susztak K. Precision Medicine Approaches to Diabetic Kidney Disease: Tissue as an Issue. *Current Diabetes Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2017. pp. 1–9. doi:10.1007/s11892-017-0854-7
 19. Ong E, Wang LL, Schaub J, O’Toole JF, Steck B, Rosenberg AZ, et al. Modelling kidney disease using ontology: insights from the Kidney Precision Medicine Project. *Nature Reviews Nephrology*. Nature Research; 2020. pp. 686–696.

doi:10.1038/s41581-020-00335-w

20. Beck LH, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-Type Phospholipase A 2 Receptor as Target Antigen in Idiopathic Membranous Nephropathy . *N Engl J Med*. 2009;361: 11–21. doi:10.1056/nejmoa0810457
21. Yu X, Cai J, Jiao X, Zhang S, Liu H, Ding X. Response Predictors to Calcineurin Inhibitors in Patients with Primary Membranous Nephropathy. *Am J Nephrol*. 2018;47: 266–274. doi:10.1159/000488728
22. Pontillo C, Mischak H. Urinary peptide-based classifier CKD273: towards clinical application in chronic kidney disease. *Clin Kidney J*. 2017;10: 192–201. doi:10.1093/ckj/sfx002
23. Dubin RF, Rhee EP. Proteomics and metabolomics in kidney disease, including insights into etiology, treatment, and prevention. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2020;15: 404–411. doi:10.2215/CJN.07420619
24. Good DM, Zürbig P, Argilés À, Bauer HW, Behrens G, Coon JJ, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease. *Mol Cell Proteomics*. 2010;9: 2424–2437. doi:10.1074/mcp.M110.001917
25. Afshinnia F, Rajendiran TM, Soni T, Byun J, Wernisch S, Sas KM, et al. Impaired B-oxidation and altered complex lipid fatty acid partitioning with advancing CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29: 295–306. doi:10.1681/ASN.2017030350
26. Zhou LT, Qiu S, Lv LL, Li ZL, Liu H, Tang RN, et al. Integrative bioinformatics analysis provides insight into the molecular mechanisms of chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res*. 2018;43: 568–581. doi:10.1159/000488830
27. Obrador GT, Pereira BJG. Systemic complications of chronic kidney disease: Pinpointing clinical manifestations and best management. *Postgraduate Medicine*. Medquest Communications LLC; 2002. pp. 115–122. doi:10.3810/pgm.2002.02.1115
28. Shankland SJ, Smeets B, Pippin JW, Moeller MJ. The emergence of the glomerular parietal epithelial cell. *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group; 2014. pp. 158–173. doi:10.1038/nrneph.2014.1
29. Chabardès-Garonne D, Méjean A, Aude JC, Cheval L, Di Stefano A, Gaillard MC, et al. A panoramic view of gene expression in the human kidney. *Proc Natl Acad Sci U*

- S A. 2003;100: 13710–13715. doi:10.1073/pnas.2234604100
30. Lee JW, Chou CL, Knepper MA. Deep sequencing in microdissected renal tubules identifies nephron segment-specific transcriptomes. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26: 2669–2677. doi:10.1681/ASN.2014111067
 31. Habuka M, Fagerberg L, Hallström BM, Kampf C, Edlund K, Sivertsson Å, et al. The Kidney Transcriptome and Proteome Defined by Transcriptomics and Antibody-Based Profiling. Mischak H, editor. *PLoS One.* 2014;9: e116125. doi:10.1371/journal.pone.0116125
 32. Regev A, Teichmann SA, Lander ES, Amit I, Benoist C, Birney E, et al. The human cell atlas. *Elife.* 2017;6. doi:10.7554/eLife.27041
 33. Macosko EZ, Basu A, Satija R, Nemesh J, Shekhar K, Goldman M, et al. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets. *Cell.* 2015;161: 1202–1214. doi:10.1016/j.cell.2015.05.002
 34. Strack R. Deep learning in imaging. *Nat Methods.* 2019;16: 17. doi:10.1038/s41592-018-0267-9
 35. Elshahat S, Cockwell P, Maxwell AP, Griffin M, O'Brien T, O'Neill C. The impact of chronic kidney disease on developed countries from a health economics perspective: A systematic scoping review. Barretti P, editor. *PLoS One.* 2020;15: e0230512. doi:10.1371/journal.pone.0230512
 36. Olivier M, Asmis R, Hawkins GA, Howard TD, Cox LA. The Need for Multi-Omics Biomarker Signatures in Precision Medicine. *Int J Mol Sci.* 2019;20: 4781. doi:10.3390/ijms20194781
 37. Kanehisa M, Goto S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research.* Oxford University Press; 2000. pp. 27–30. doi:10.1093/nar/28.1.27
 38. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. Gene ontology: Tool for the unification of biology. *Nature Genetics.* *Nat Genet;* 2000. pp. 25–29. doi:10.1038/75556
 39. Joshi-Tope G, Gillespie M, Vastrik I, D'Eustachio P, Schmidt E, de Bono B, et al. Reactome: A knowledgebase of biological pathways. *Nucleic Acids Res.* 2005;33. doi:10.1093/nar/gki072
 40. ONU. A/RES/70/1 - S - A/RES/70/1 -Desktop. 2015 [cited 7 May 2021]. Available:

<https://undocs.org/es/A/RES/70/1>

41. Jassal B, Matthews L, Viteri G, Gong C, Lorente P, Fabregat A, et al. The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* 2020;48: D498–D503.
doi:10.1093/nar/gkz1031
42. Gao W, Wu H, Siddiqui MK, Baig AQ. Study of biological networks using graph theory. *Saudi J Biol Sci.* 2018;25: 1212–1219. doi:10.1016/j.sjbs.2017.11.022
43. López-Cortés A, Guevara-Ramírez P, Kyriakidis NC, Barba-Ostria C, Cáceres ÁL, Guerrero S, et al. In Silico Analyses of Immune System Protein Interactome Network, Single-Cell RNA Sequencing of Human Tissues, and Artificial Neural Networks Reveal Potential Therapeutic Targets for Drug Repurposing Against COVID-19: In Silico Analyses of Immune System Pr. 2020.
doi:10.26434/chemrxiv.12408074.v1
44. Hansen DL, Shneiderman B, Smith MA, Himelboim I. Chapter 3 - Social network analysis: Measuring, mapping, and modeling collections of connections. Second Edi. In: Hansen DL, Shneiderman B, Smith MA, Himelboim I, editors. *Analyzing Social Media Networks with NodeXL (Second Edition)*. Second Edi. Morgan Kaufmann; 2020. pp. 31–51. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817756-3.00003-0>
45. Zhang J, Luo Y. Degree Centrality, Betweenness Centrality, and Closeness Centrality in Social Network. 2017;132: 300–303. doi:10.2991/msam-17.2017.68
46. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Butler H, Cherry JM, Eppig JT, et al. Creating the Gene Ontology resource: Design and implementation. *Genome Res.* 2001;11: 1425–1433. doi:10.1101/gr.180801
47. Hill DP, Smith B, McAndrews-Hill MS, Blake JA. Gene Ontology annotations: What they mean and where they come from. *BMC Bioinformatics.* 2008;9: 1–9.
doi:10.1186/1471-2105-9-S5-S2
48. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. The Gene Ontology Consortium, Michael Ashburner¹, Catherine A. Ball³, Judith A. Blake⁴, David Botstein³, Heather Butler¹, J. Michael Cherry³, Allan P. Davis⁴, Kara Dolinski³, Selina S. Dwight³, Janan T. Eppig⁴, Midori A. Harris³, David P. Hill⁴, Laurie Is. Nat Genet. 2000;25: 25–29. doi:10.1038/75556.Gene

49. López-Cortés A, Guevara-Ramírez P, Kyriakidis NC, Barba-Ostria C, León Cáceres Á, Guerrero S, et al. In silico Analyses of Immune System Protein Interactome Network, Single-Cell RNA Sequencing of Human Tissues, and Artificial Neural Networks Reveal Potential Therapeutic Targets for Drug Repurposing Against COVID-19. *Front Pharmacol.* 2021;12: 598925. doi:10.3389/fphar.2021.598925
50. Rodríguez Fernández LM. Morfología y función renal *Pediatr Integral* 2013; XVII(6): 433-440.
51. Grau PW. Biología del podocito: Un nuevo paso adelante. Parte 1. *ACTA MEDICA Peru.* 2003;20: 90–93. Available: <http://www.amp.cmp.org.pe/index.php/AMP/article/view/1640>
52. Li Z, Liu J, Wang W, Zhao Y, Yang D, Geng X. Investigation of hub genes involved in diabetic nephropathy using biological informatics methods. *Ann Transl Med.* 2020;8: 1087–1087. doi:10.21037/atm-20-5647
53. Bridgewater DJ, Matsell DG. Insulin-like growth factor binding protein-2 modulates podocyte mitogenesis. *Pediatr Nephrol.* 2003;18: 1109–1115. doi:10.1007/s00467-003-1242-x
54. Wittenbecher C, Ouni M, Kuxhaus O, Jähnert M, Gottmann P, Teichmann A, et al. Insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP-2) and the risk of developing type 2 diabetes. *Diabetes.* 2019;68: 188–197. doi:10.2337/db18-0620
55. Lopes TG, de Souza ML, da Silva VD, dos Santos M, da Silva WIC, Itaquy TP, et al. Markers of renal fibrosis: How do they correlate with podocyte damage in glomerular diseases? *PLoS One.* 2019;14: e0217585. doi:10.1371/journal.pone.0217585
56. Kravets I, Mallipattu SK. The Role of Podocytes and Podocyte-Associated Biomarkers in Diagnosis and Treatment of Diabetic Kidney Disease. *J Endocr Soc.* 2020;4. doi:10.1210/jendso/bvaa029
57. Xia H, Bao W, Shi S. Innate immune activity in glomerular podocytes. *Frontiers in Immunology.* Frontiers Research Foundation; 2017. p. 122. doi:10.3389/fimmu.2017.00122
58. Bhargava R, Tsokos GC. The immune podocyte. *Current Opinion in Rheumatology.* Lippincott Williams and Wilkins; 2019. pp. 167–174.

doi:10.1097/BOR.0000000000000578

59. Deng Z, Yan H, Shi Z, Tian X, Cui Z, Sun Y, et al. Single-cell sequencing confirms transcripts and VHDJH rearrangements of immunoglobulin genes in human podocytes. *Genes (Basel)*. 2021;12: 472. doi:10.3390/genes12040472
60. Pozzi A, Jarad G, Moeckel GW, Coffa S, Zhang X, Gewin L, et al. β 1 integrin expression by podocytes is required to maintain glomerular structural integrity. *Dev Biol*. 2008;316: 288–301. doi:10.1016/j.ydbio.2008.01.022
61. Sawada K, Toyoda M, Kaneyama N, Shiraiwa S, Moriya H, Miyatake H, et al. Upregulation of α 3 β 1-Integrin in Podocytes in Early-Stage Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/9265074
62. Yuniati L, Scheijen B, van der Meer LT, van Leeuwen FN. Tumor suppressors BTG1 and BTG2: Beyond growth control. *Journal of Cellular Physiology*. Wiley-Liss Inc.; 2019. pp. 5379–5389. doi:10.1002/jcp.27407
63. Zhao S, Xue H, Hao CL, Jiang HM, Zheng HC. BTG1 Overexpression Might Promote Invasion and Metastasis of Colorectal Cancer via Decreasing Adhesion and Inducing Epithelial–Mesenchymal Transition. *Front Oncol*. 2020;10. doi:10.3389/fonc.2020.598192
64. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med* 2020. 2020; 1–3. doi:10.1038/s41591-020-0820-9
65. Murray I, Paolini MA. Histology, Kidney and Glomerulus. StatPearls. StatPearls Publishing; 2020. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32119431>
66. Yu H, Cui S, Mei Y, Li Q, Wu L, Duan S, et al. Mesangial cells exhibit features of antigen-presenting cells and activate cd4+ t cell responses. *J Immunol Res*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/2121849
67. Guo H, Xu D, Kuroki M, Lu Z, Xu X, Geurts A, et al. Kidney failure, arterial hypertension and left ventricular hypertrophy in rats with loss of function mutation of SOD3. *Free Radic Biol Med*. 2020;152: 787–796. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.01.023
68. Ahn HS, Kim JH, Jeong H, Yu J, Yeom J, Song SH, et al. Differential urinary proteome analysis for predicting prognosis in type 2 diabetes patients with and without renal dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2020;21: 1–19. doi:10.3390/ijms21124236

69. Banerjee D. Endothelial cell and vascular smooth muscle cell dysfunction in chronic kidney disease. *International Journal of Cardiology*. Elsevier Ireland Ltd; 2018. pp. 297–298. doi:10.1016/j.ijcard.2017.12.041
70. Yaker L, Kamel S, Ausseil J, Boullier A. Effects of Chronic Kidney Disease and Uremic Toxins on Extracellular Vesicle Biology. *Toxins (Basel)*. 2020;12: 811. doi:10.3390/toxins12120811
71. Li Y, Liu J, Yu T, Yan B, Li H. Interleukin-33 promotes obstructive renal injury via macrophages. *Mol Med Rep*. 2019;20: 1353–1362. doi:10.3892/mmr.2019.10324
72. Su H, Cantrell AC, Zeng H, Zhu S-H, Chen J-X. Emerging Role of Pericytes and Their Secretome in the Heart. *Cells*. 2021;10: 548. doi:10.3390/cells10030548
73. Birbrair A, Zhang T, Wang ZM, Messi ML, Enikolopov GN, Mintz A, et al. Role of pericytes in skeletal muscle regeneration and fat accumulation. *Stem Cells Dev*. 2013;22: 2298–2314. doi:10.1089/scd.2012.0647
74. Alvarez ML, Khosroheidari M, Kanchi Ravi R, DiStefano JK. Comparison of protein, microRNA, and mRNA yields using different methods of urinary exosome isolation for the discovery of kidney disease biomarkers. *Kidney Int*. 2012;82: 1024–1032. doi:10.1038/ki.2012.256
75. Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101: 13368–13373. doi:10.1073/pnas.0403453101
76. Lu X-Y, Liu B-C, Cao Y-Z, Song C, Su H, Chen G, et al. High glucose reduces expression of podocin in cultured human podocytes by stimulating TRPC6. *Am J Physiol Physiol*. 2019;317: F1605–F1611. doi:10.1152/ajprenal.00215.2019
77. Zang J, Maxwell AP, Simpson DA, McKay GJ. Differential Expression of Urinary Exosomal MicroRNAs miR-21-5p and miR-30b-5p in Individuals with Diabetic Kidney Disease. *Sci Rep*. 2019;9: 10900. doi:10.1038/s41598-019-47504-x
78. Na N, Li H, Xu C, Miao B, Hong L, Huang Z, et al. High expression of Aldolase A predicts poor survival in patients with clear-cell renal cell carcinoma. *Ther Clin Risk Manag*. 2017;13: 279–285. doi:10.2147/TCRM.S123199
79. Huang Z, Hua Y, Tian Y, Qin C, Qian J, Bao M, et al. High expression of fructose-bisphosphate aldolase A induces progression of renal cell carcinoma. *Oncol Rep*.

- 2018;39: 2996–3006. doi:10.3892/or.2018.6378
80. Li M, Jia F, Zhou H, Di J, Yang M. Elevated aerobic glycolysis in renal tubular epithelial cells influences the proliferation and differentiation of podocytes and promotes renal interstitial fibrosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22: 5082–5090. doi:10.26355/eurev_201808_15701
 81. Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, Melchior A, Degeest G, Geeraerts A, et al. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat Cell Biol*. 2012;14: 677–685. doi:10.1038/ncb2502
 82. Pang L, Li Q, Li Y, Liu Y, Duan N, Li H. Urine proteomics of primary membranous nephropathy using nanoscale liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. *Clin Proteomics*. 2018;15: 5. doi:10.1186/s12014-018-9183-3
 83. Debnath S, Velagapudi C, Redus L, Thameem F, Kasinath B, Hura CE, et al. Tryptophan metabolism in patients with chronic kidney disease secondary to type 2 diabetes: Relationship to inflammatory markers. *Int J Tryptophan Res*. 2017;10. doi:10.1177/1178646917694600
 84. Gai Z, Wang T, Visentin M, Kullak-Ublick G, Fu X, Wang Z. Lipid Accumulation and Chronic Kidney Disease. *Nutrients*. 2019;11: 722. doi:10.3390/nu11040722
 85. Bulbul MC, Dagel T, Afsar B, Ulus NN, Kuwabara M, Covic A, et al. Disorders of lipid metabolism in chronic kidney disease. *Blood Purification*. S. Karger AG; 2018. pp. 144–152. doi:10.1159/000488816
 86. Ma J, Karnovsky A, Afshinnia F, Wigginton J, Rader DJ, Natarajan L, et al. Differential network enrichment analysis reveals novel lipid pathways in chronic kidney disease. Wren J, editor. *Bioinformatics*. 2019;35: 3441–3452. doi:10.1093/bioinformatics/btz114
 87. Ngai HHY, Sit WH, Jiang PP, Xu RJ, Wan JMF, Thongboonkerd V. Serial changes in urinary proteome profile of membranous nephropathy: Implications for pathophysiology and biomarker discovery. *J Proteome Res*. 2006;5: 3038–3047. doi:10.1021/pr060122b
 88. Yokota H, Hiramoto M, Okada H, Kanno Y, Yuri M, Morita S, et al. Absence of increased α 1-microglobulin in IgA nephropathy proteinuria. *Mol Cell Proteomics*. 2007;6: 738–744. doi:10.1074/mcp.M600336-MCP200

89. Chen H, Avital Y, Bruchim Y, Aroch I, Segev G. Urinary heat shock protein-72: A novel marker of acute kidney injury and chronic kidney disease in cats. *Vet J*. 2019;243: 77–81. doi:10.1016/j.tvjl.2018.11.015
90. Chebotareva N, Vinogradov A, Gindis A, Tao E, Moiseev S. Heat shock protein 90 and NFkB levels in serum and urine in patients with chronic glomerulonephritis. *Cell Stress Chaperones*. 2020;25: 495–501. doi:10.1007/s12192-020-01089-x
91. Eskelinen EL, Tanaka Y, Saftig P. At the acidic edge: Emerging functions for lysosomal membrane proteins. *Trends in Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2003. pp. 137–145. doi:10.1016/S0962-8924(03)00005-9
92. Ronco P, Debiec H. Pathogenesis of membranous nephropathy: Recent advances and future challenges. *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group; 2012. pp. 203–213. doi:10.1038/nrneph.2012.35
93. Fajas L, Auboeuf D, Raspé E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR γ gene. *J Biol Chem*. 1997;272: 18779–18789. doi:10.1074/jbc.272.30.18779

Anexos

Tabla 1. Genes sobreexpresados en los podocitos con un porcentaje de sobreexpresión celular >50%

Tipo de célula	Gen	Z score	Porcentaje (%) de sobreexpresión celular
Podocitos	GHITM	2.83	50.07
Podocitos	THSD7A	3.86	50.07
Podocitos	NDUFB9	2.33	50.21
Podocitos	CXADR	3.78	50.34
Podocitos	LAMTOR4	2.31	50.34
Podocitos	SNRPG	2.75	50.34
Podocitos	ATP5D	2.03	50.48
Podocitos	PDE4DIP	3.67	50.48
Podocitos	TSPAN2	3.80	50.48
Podocitos	EIF4G2	2.33	50.62
Podocitos	NDUFAF3	2.84	50.62
Podocitos	ST13	2.20	50.62
Podocitos	ATP5A1	2.50	50.76
Podocitos	ATRAID	2.55	50.76
Podocitos	CHPT1	3.40	50.76
Podocitos	NDUFB7	2.27	50.76
Podocitos	RCAN1	3.80	50.76
Podocitos	SLC25A3	2.25	50.76
Podocitos	VWA1	3.34	50.76
Podocitos	CLTA	2.76	50.89
Podocitos	CYSTM1	2.05	50.89
Podocitos	CAPZA2	2.82	51.03
Podocitos	MRPL33	2.17	51.03
Podocitos	PLTP	3.12	51.03
Podocitos	RPN2	3.34	51.03
Podocitos	SCOC	3.47	51.17
Podocitos	NDUFA11	2.08	51.31
Podocitos	NDUFB11	2.66	51.31
Podocitos	PEA15	3.54	51.31
Podocitos	GLUL	2.49	51.44
Podocitos	SGCB	3.72	51.44
Podocitos	RAB1A	3.14	51.58
Podocitos	LRPAP1	2.73	51.72
Podocitos	NDUFB8	2.44	51.72
Podocitos	PGK1	2.84	51.72
Podocitos	PRDX5	2.24	51.72
Podocitos	PSMB1	2.50	51.72

Podocitos	COL4A3	3.86	51.86
Podocitos	N4BP2L2	2.60	51.86
Podocitos	SNRPN	3.11	51.86
Podocitos	RAB2A	3.12	51.99
Podocitos	DNAJB9	3.49	52.13
Podocitos	LRP10	3.52	52.13
Podocitos	NDN	3.17	52.13
Podocitos	NUCKS1	2.50	52.13
Podocitos	SEPT2	2.82	52.13
Podocitos	B4GAT1	3.86	52.27
Podocitos	COX17	2.67	52.27
Podocitos	ITIH5	3.78	52.27
Podocitos	PLCG2	3.74	52.27
Podocitos	ERH	2.39	52.41
Podocitos	NDUFS5	2.22	52.41
Podocitos	PHYHIP	3.88	52.41
Podocitos	SEC61B	2.65	52.41
Podocitos	VDAC2	3.10	52.41
Podocitos	ATP5G3	2.23	52.54
Podocitos	CSDE1	2.85	52.54
Podocitos	NTNG1	3.88	52.54
Podocitos	TBCA	2.33	52.54
Podocitos	TMEM258	2.04	52.54
Podocitos	ARHGEF3	3.84	52.68
Podocitos	GNAS	2.25	52.68
Podocitos	HSBP1	2.72	52.68
Podocitos	LDHA	2.01	52.68
Podocitos	NDFIP1	2.79	52.68
Podocitos	PLS3	3.15	52.68
Podocitos	SBDS	2.64	52.82
Podocitos	SEC61G	2.27	52.82
Podocitos	FKBP2	2.77	52.96
Podocitos	KTN1	2.81	52.96
Podocitos	FBXO21	3.76	53.09
Podocitos	POMP	2.05	53.09
Podocitos	PPA1	3.55	53.09
Podocitos	PTGER4	3.60	53.09
Podocitos	SPCS2	2.74	53.09
Podocitos	CTSL	3.31	53.23
Podocitos	FAM89A	3.32	53.23
Podocitos	GADD45A	2.95	53.23
Podocitos	C11orf58	2.56	53.37
Podocitos	NEBL	3.87	53.37
Podocitos	PALLD	2.56	53.51
Podocitos	SPATS2L	3.49	53.51
Podocitos	ST6GALNAC3	3.87	53.51

Podocitos	ASAH1	2.76	53.65
Podocitos	USMG5	2.25	53.65
Podocitos	CNBP	2.02	53.78
Podocitos	GNG5	2.56	53.78
Podocitos	MPP5	3.87	53.78
Podocitos	NDUFC2	2.65	53.78
Podocitos	COX7B	2.44	53.92
Podocitos	SNCA	3.88	53.92
Podocitos	SRP9	3.02	53.92
Podocitos	G0S2	3.74	54.20
Podocitos	HNRNPK	2.14	54.20
Podocitos	TMEM98	3.57	54.20
Podocitos	YWHAQ	2.51	54.20
Podocitos	ARRDC4	3.88	54.33
Podocitos	ST3GAL6	3.86	54.33
Podocitos	ATP6AP2	2.57	54.47
Podocitos	PDK4	2.18	54.47
Podocitos	PRKAR1A	3.01	54.47
Podocitos	TSPAN4	2.96	54.47
Podocitos	FIS1	2.55	54.61
Podocitos	H2AFJ	3.24	54.61
Podocitos	NDRG1	3.75	54.61
Podocitos	RCN2	3.42	54.61
Podocitos	SPCS1	2.70	54.61
Podocitos	VAPA	2.99	54.61
Podocitos	P3H2	3.85	54.75
Podocitos	PDIA6	3.15	54.75
Podocitos	PSMA7	2.15	54.75
Podocitos	PTGES3	2.26	54.75
Podocitos	RBX1	2.92	54.75
Podocitos	PON2	3.76	54.88
Podocitos	TRMT112	2.01	54.88
Podocitos	WBP5	2.62	54.88
Podocitos	ATP1B1	2.41	55.02
Podocitos	RAMP3	3.17	55.02
Podocitos	TMBIM4	2.88	55.02
Podocitos	HNRNPC	2.70	55.16
Podocitos	UQCRQ	2.09	55.16
Podocitos	ATP6V0E1	2.43	55.43
Podocitos	PLD3	3.16	55.43
Podocitos	UACA	3.71	55.43
Podocitos	ATP5B	2.27	55.57
Podocitos	CSTB	2.62	55.57
Podocitos	TMEM178A	3.87	55.57
Podocitos	KLK6	3.88	55.71
Podocitos	LAMTOR5	2.69	55.71

Podocitos	ATP5J	2.53	55.85
Podocitos	SDC2	3.42	55.85
Podocitos	SRGAP2C	3.84	55.85
Podocitos	TXN	2.69	55.85
Podocitos	ATOX1	3.14	55.98
Podocitos	WDR83OS	2.78	55.98
Podocitos	CLIC1	2.01	56.12
Podocitos	CYB5R3	2.75	56.12
Podocitos	PIIB	2.24	56.12
Podocitos	PTH1R	3.76	56.12
Podocitos	RERG	3.71	56.12
Podocitos	FAM65A	3.85	56.26
Podocitos	HPGD	3.86	56.26
Podocitos	HMGN2	2.53	56.40
Podocitos	REEP5	3.11	56.40
Podocitos	ATPIF1	2.79	56.53
Podocitos	TJP1	3.78	56.53
Podocitos	AIF1L	3.52	56.67
Podocitos	C14orf2	2.23	56.67
Podocitos	RABAC1	2.35	56.67
Podocitos	CD46	3.27	56.81
Podocitos	COX6B1	2.18	56.81
Podocitos	NEDD8	2.61	56.81
Podocitos	SRGAP2B	3.82	56.81
Podocitos	HERPUD1	2.22	56.95
Podocitos	MAP1B	3.14	56.95
Podocitos	RASL11B	3.86	56.95
Podocitos	ATP6V1G1	2.61	57.22
Podocitos	DYNLRB1	3.10	57.22
Podocitos	NDUFA3	2.75	57.22
Podocitos	ITGB8	3.85	57.36
Podocitos	RHEB	3.36	57.36
Podocitos	SEPT11	3.64	57.36
Podocitos	MRGPRF	3.84	57.50
Podocitos	SERINC1	3.47	57.50
Podocitos	CFAP45	3.88	57.63
Podocitos	COX8A	2.54	57.63
Podocitos	GTF2A2	3.58	57.63
Podocitos	RHOA	2.21	57.63
Podocitos	ARF6	3.14	57.77
Podocitos	NDUFA13	2.59	57.91
Podocitos	CD47	3.43	58.18
Podocitos	DHRS3	3.49	58.18
Podocitos	SAP18	2.23	58.18
Podocitos	SUB1	2.42	58.18
Podocitos	BEX4	3.59	58.32

Podocitos	EIF3M	3.57	58.32
Podocitos	ITGA3	3.83	58.32
Podocitos	S100A10	2.22	58.32
Podocitos	SBSPON	3.60	58.32
Podocitos	MXRA8	3.53	58.60
Podocitos	DDN	3.88	58.73
Podocitos	ALDOA	2.14	58.87
Podocitos	LGALS3BP	2.36	58.87
Podocitos	TMED9	3.45	58.87
Podocitos	IQGAP2	3.83	59.01
Podocitos	LEPROT	3.31	59.01
Podocitos	CITED2	3.15	59.15
Podocitos	NPHS1	3.88	59.15
Podocitos	ANAPC16	2.43	59.28
Podocitos	CD9	2.03	59.28
Podocitos	SARAF	2.68	59.28
Podocitos	SUMO2	2.05	59.28
Podocitos	ARF1	2.89	59.42
Podocitos	SDC4	3.44	59.42
Podocitos	CANX	3.40	59.56
Podocitos	GABARAPL2	2.94	59.56
Podocitos	SON	2.39	59.56
Podocitos	ALS2CL	3.87	59.70
Podocitos	EID1	2.49	59.70
Podocitos	CD164	3.24	59.83
Podocitos	SEPT7	2.13	59.83
Podocitos	SSB	3.39	59.83
Podocitos	ATP5I	2.32	59.97
Podocitos	CRIP2	2.05	59.97
Podocitos	NES	3.75	59.97
Podocitos	UQCR11	2.25	59.97
Podocitos	VKORC1	3.23	59.97
Podocitos	ATP5J2	2.89	60.11
Podocitos	TMBIM6	2.61	60.11
Podocitos	FAM134B	3.79	60.39
Podocitos	NDUFB4	2.71	60.39
Podocitos	NPC2	2.99	60.39
Podocitos	NUPR1	2.90	60.39
Podocitos	HMGN1	3.42	60.52
Podocitos	MIF	2.72	60.52
Podocitos	NDRG2	3.12	60.52
Podocitos	CRB2	3.88	60.66
Podocitos	P4HB	3.39	60.66
Podocitos	TGFBR3	3.83	60.66
Podocitos	CDC42EP3	3.68	60.80
Podocitos	NDUFC1	3.00	60.80

Podocitos	NFASC	3.81	60.80
Podocitos	TMEM150C	3.87	60.80
Podocitos	PARK7	2.72	60.94
Podocitos	COX6C	2.39	61.07
Podocitos	DAD1	2.83	61.07
Podocitos	GMDS	3.82	61.07
Podocitos	TNNI1	3.88	61.07
Podocitos	HNRNPA2B1	2.37	61.21
Podocitos	PDZK1IP1	3.31	61.21
Podocitos	VAMP2	2.84	61.21
Podocitos	C14orf37	3.88	61.35
Podocitos	PTMS	2.41	61.35
Podocitos	UQCR10	3.16	61.35
Podocitos	CD81	3.29	61.49
Podocitos	HSPA5	3.20	61.49
Podocitos	SPOCK1	3.71	61.49
Podocitos	YWHAE	3.20	61.49
Podocitos	BSG	2.63	61.62
Podocitos	CHCHD2	2.25	61.62
Podocitos	NDUFA1	2.78	61.62
Podocitos	PEBP1	2.57	61.62
Podocitos	PLA2R1	3.87	61.62
Podocitos	SPINT2	3.41	61.62
Podocitos	EIF4A2	2.07	61.76
Podocitos	RAC1	2.26	61.90
Podocitos	TYRO3	3.87	61.90
Podocitos	MAFB	3.69	62.04
Podocitos	MORF4L1	2.78	62.04
Podocitos	PDIA3	3.04	62.04
Podocitos	LAMP1	3.11	62.17
Podocitos	PVRL2	3.81	62.17
Podocitos	NDUFB2	2.77	62.31
Podocitos	COX6A1	2.43	62.45
Podocitos	GSTP1	2.28	62.45
Podocitos	VASN	3.69	62.45
Podocitos	PRDX1	2.63	62.59
Podocitos	WT1	3.85	62.59
Podocitos	COX5B	2.48	62.72
Podocitos	HMGB1	2.01	62.72
Podocitos	RDX	3.59	62.72
Podocitos	CYB5A	3.19	62.86
Podocitos	HMGN3	3.25	62.86
Podocitos	SOD1	2.39	62.86
Podocitos	MAL2	3.85	63.00
Podocitos	SYNPO	3.81	63.00
Podocitos	NGFRAP1	2.73	63.14

Podocitos	OST4	2.05	63.14
Podocitos	RTN4	3.06	63.14
Podocitos	CD59	2.95	63.27
Podocitos	CIRBP	2.29	63.27
Podocitos	ITGAV	3.85	63.27
Podocitos	NUCB1	3.33	63.27
Podocitos	PRDX6	3.34	63.27
Podocitos	SLC9A3R2	2.35	63.27
Podocitos	VAMP5	3.10	63.27
Podocitos	SEMA5A	3.86	63.41
Podocitos	APLP2	2.99	63.55
Podocitos	BST2	2.47	63.55
Podocitos	F3	3.75	63.55
Podocitos	GOLIM4	3.78	63.55
Podocitos	UBL5	2.54	63.82
Podocitos	COX7A2	2.34	64.10
Podocitos	COX7C	2.05	64.10
Podocitos	HINT1	2.81	64.24
Podocitos	VEGFA	3.87	64.79
Podocitos	TIMP1	2.02	64.92
Podocitos	TMA7	2.07	64.92
Podocitos	TMEM59	2.48	64.92
Podocitos	CALR	3.09	65.06
Podocitos	POLR2L	3.07	65.06
Podocitos	SEC62	2.65	65.06
Podocitos	TCF21	3.55	65.06
Podocitos	CLDN5	3.61	65.20
Podocitos	MYH9	3.41	65.20
Podocitos	PPIA	2.40	65.20
Podocitos	TCEB2	2.91	65.34
Podocitos	CAPN2	3.74	65.47
Podocitos	SRP14	2.06	65.47
Podocitos	ITGB1	2.38	65.61
Podocitos	MYL12B	2.34	65.61
Podocitos	NDNF	3.88	65.61
Podocitos	ENPEP	3.87	65.75
Podocitos	NDUFA4	2.38	65.75
Podocitos	OAZ1	2.38	65.75
Podocitos	HSP90B1	3.32	66.02
Podocitos	MYL12A	2.10	66.02
Podocitos	RARRES2	2.92	66.16
Podocitos	TPPP3	3.79	66.16
Podocitos	CDKN1C	3.82	66.44
Podocitos	H3F3A	2.24	66.44
Podocitos	NPNT	3.87	66.44
Podocitos	PTPRO	3.88	66.44

Podocitos	SEMA3B	3.86	66.44
Podocitos	CRIM1	3.71	66.57
Podocitos	TSC22D3	2.00	66.57
Podocitos	PPDPF	2.28	66.71
Podocitos	ZDHHC6	3.87	66.71
Podocitos	CHI3L1	3.88	66.85
Podocitos	DYNLL1	2.81	67.13
Podocitos	NPHS2	3.88	67.13
Podocitos	GAPDH	2.14	67.26
Podocitos	CTGF	3.23	67.40
Podocitos	CTSD	3.39	67.40
Podocitos	ACTN4	3.57	67.68
Podocitos	SKP1	2.67	67.68
Podocitos	PDLIM1	3.76	67.81
Podocitos	MME	3.88	67.95
Podocitos	TNNT2	3.88	67.95
Podocitos	CALM2	2.75	68.23
Podocitos	APOD	3.69	68.36
Podocitos	PCOLCE2	3.88	68.36
Podocitos	SPOCK2	3.83	68.36
Podocitos	VIM	2.32	68.50
Podocitos	CD151	3.00	68.64
Podocitos	PODXL	3.78	68.64
Podocitos	SPARC	2.60	68.64
Podocitos	ACTG1	2.64	69.05
Podocitos	FGF1	3.88	69.05
Podocitos	AIF1	3.75	69.33
Podocitos	BCAM	3.40	69.33
Podocitos	PSAP	3.11	69.33
Podocitos	ANXA2	3.60	69.46
Podocitos	CLIC5	3.88	69.60
Podocitos	DCN	2.79	69.60
Podocitos	MYL9	2.36	69.60
Podocitos	HTRA1	3.81	69.74
Podocitos	PTGDS	3.81	69.74
Podocitos	S100A6	2.97	69.74
Podocitos	ACTB	2.00	69.88
Podocitos	IGFBP2	3.82	69.88
Podocitos	ITM2B	3.05	69.88

Tabla 2. Proteínas sobreexpresadas en las tres redes y su anotación

Red PPI	Proteína	Anotación
1	ALDOA	Glucólisis, gluconeogénesis y andamianje
1,2,3	ATP6AP2	Funciona como receptor celular de renina y prorenina
1,2,3	CST3	Inhibidor de las cisteínas proteinasas
1,2	HMGB1	Acompañante del ADN
1	HSP90AA1	Chaperona molecular
1	HSPA1B	Chaperona molecular
2	ITGAV	Integrina alfa-V
2	LAMP1	Glucoproteína 1
1	LGALS3BP	Promueve la adhesión celular mediada por integrinas
1	LRP10	Internalización de moléculas lipofílicas, transducción de señales
2	MAFB	Factor de transcripción
1	NPC2	Transporte de colesterol intracelular
1	PDIA6	Regula la respuesta de la proteína desplegada (UPR)
1,2	PLCG2	Producción de las moléculas de segundo mensajero diacilglicerol (DAG)
2	POLR2L	subunidad RPABC5 de las ARN polimerasas I, II y III
1	PRDX6	Peroxidasa específica de tiol
1,2,3	PSAP	Degradación lisosomal de los esfingolípidos
3	PSMC4	Subunidad reguladora del proteosoma 26S 6B
1	RAMP3	Transporta el receptor de péptido tipo 1
3	RPS15A	Proteína ribosomal 15A
1,2	S100A10	Induce la dimerización de ANXA2 / p36
1	SEPP1	Defensa o transporte del selenio
1	SPARC	Crecimiento celular
2	TGFBR3	Receptor beta tipo 3 del factor de crecimiento transformante

3	UQCRC1	Subunidad 1 del complejo del citocromo b-c1
1	VAPA	Proteínas de membrana asociada a vesículas
1,2,3	ACTB	Actina citoplásmica 1
1,2	ACTG1	Motilidad celular
1	ACTN4	Proteína de reticulación de actina F
1,2,3	ALDOA	Glucólisis, gluconeogénesis y andamianje
1,2	ANXA2	Proteína de unión a membrana regulada por calcio
1	APLP2	Proteína de tipo amiloide 2: Regulación de la hemostasia
1,2,3	ARF1	Tráfico de proteínas
1	ARF6	Regulación del reciclaje endocítico y la remodelación del citoesqueleto
1,2,3	ASAH1	Ceramidasa ácida, hidroliza la ceramida de esfingolípidos
2	ATOX1	Proteína de transporte de cobre ATOX1
2	ATP1B1	Subunidad beta-1 de ATPasa transportadora de sodio / potasio
3	ATP5A1	Subunidad alfa de ATP sintasa
3	ATP5B	Subunidad beta de ATP sintasa, mitocondrial
3	ATP5D	Subunidad delta de ATP sintasa, mitocondrial
3	ATP5G3	Subunidad C3 del complejo ATP sintasa F
3	ATP5I	Subunidad e de ATP sintasa
3	ATP5J	Factor de acoplamiento de ATP sintasa 6
3	ATP5J2	Subunidad f de ATP sintasa, mitocondrial
1,2,3	ATP6AP2	Receptor celular de renina y prorenina
2,3	ATP6VOE1	subunidad e 1 de ATPasa de protón de tipo V
2,3	ATP6V1G1	Subunidad G1 de la ATPasa protónica de tipo V
2	ATPIF1	Inhibidor de ATPasa, mitocondrial
3	B3GNT1	Beta-1,4-glucuroniltransferasa
2,3	BSG	Orientación de los transportadores de monocarboxilato
1,2	BST2	Bloquea la liberación de virus envueltos en mamíferos
1,2	C1R	Subcomponente del complemento C1r

2	C7	Constituyente del complejo de ataque a la membrana (MAC)
1,2,3	CALR	Chaperona de unión a calcio
1,2,3	CANX	Proteína fijadora de calcio
1,2,3	CANX	Proteína fijadora de calcio
1,2,3	CAPZA2	Bloquea el intercambio de subunidades
2	CCL4	Quimocina 4 con propiedades inflamatorias y quimiocinéticas
1,2	CCL5	Quimioatrayente para monocitos sanguíneos, células Th
1,2	CD47	Adhesión celular
1,3	CD59	Glicoproteína CD59
1,2	CD81	Regulación del crecimiento de las células de linfoma
1,2	CD9	Regula la formación de uniones paranodales
1,2	CHI3L1	Lectina fijadora de carbohidratos
3	CHPT1	Colinfosfotransferasa 1
1,2	CLTA	Estabilización de las fibras de cinetocoro del huso mitótico
3	COX17	Chaperona de cobre de citocromo c oxidasa
3	COX5B	Subunidad 5B del citocromo c oxidasa
3	COX6A1	Subunidad 6A1 del citocromo c oxidasa
3	COX6B1	Subunidad 6B1 del citocromo c oxidasa
3	COX6C	Subunidad 6C del citocromo c oxidasa
3	COX7B	Subunidad 7B del citocromo c oxidasa
3	COX7C	Subunidad 7C del citocromo c oxidasa
3	COX8A	Subunidad 8A del citocromo c oxidasa
1,2,3	CST3	Cistatina C; inhibidor de las cisteínas proteinasas
1,2	CSTB	Inhibidor de tiol proteinasa intracelular
1,2,3	CTSD	Degradación de proteínas intracelulares
3	CYB5A	Citocromo b5
1,2,3	CYB5R3	Desaturación y alargamiento de ácidos grasos
1,2	CYBA	Genera superóxido
1	CYSTM1	Sistema inmunológico innato

2	CYSTM1	Proteína 1 rica en cisteína y que contiene dominio transmembrana
3	DAD1	Subunidad esencial del complejo N-oligosacaril transferasa (OST)
2,3	DCN	Proteoglicanos repetidos ricos en leucina
1,2,3	DYNLL1	Cambio de la distribución espacial de las estructuras citoesqueléticas
3	EIF3M	Subunidad M del factor 3 de iniciación de la traducción
2,3	EIF4A2	factor de iniciación eucariota 4A-II; ARN helicasa dependiente de ATP
2	EIF4G2	factor de iniciación de la traducción eucariota 4 gamma 2
2,3	FBXO21	Componente de reconocimiento de sustrato del complejo de ligasa ubiquitina de tipo E3
2,3	GAPDH	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
3	GNAS	Proteína de unión a nucleótidos de guanina subunidad G
3	GNG5	Proteína de unión a nucleótidos de guanina subunidad gama 5
1,2,3	GSTP1	Glutación S-transferasa P
1,2	HNRNPA2B1	Ribonucleoproteína nuclear heterogénea (hnRNP)
3	HNRNPC	Ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas
3	HNRNPK	Ribonucleoproteína K nuclear heterogénea
2,3	HSP90AA1	Chaperona molecular
1,2,3	HSP90B1	Chaperona molecular
2	HSPA14	Chaperona molecular
1	HSPA1A	Chaperona molecular
2	HSPA1B	Chaperona molecular
2,3	HSPA5	Proteína regulada por glucosa
1,2,3	HSPA8	Chaperona molecular
1,2	IQGAP2	Proteína de tipo activador de Ras GTPasa
2	ITGA3	Integrina de alfa-3

1	ITGAV	Reconoce la secuencia RGD en ligandos
1,2	ITGB1	Heterodimerización de proteínas y unión al receptor de señalización
2	JUN	Factor de transcripción AP-1;
2	JUNB	factor de transcripción jun-B
3	KTN1	Receptor de kinesina implicado
1	LAMP1	Metástasis de células tumorales
3	LDHA	Lactato deshidrogenasa A
3	LRP10	Proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad 10
3	LUM	Proteoglicanos repetidos pequeños ricos en leucina
3	MXRA8	Proteína 8 asociada a remodelación de la matriz d
1,2	MYH9	Citocinesis, forma célula secreción y la protección.
3	NDUFA1	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad 1 del subcomplejo alfa
3	NDUFA11	Subunidad 11 del subcomplejo alfa de NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1
2,3	NDUFA13	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad subcomplejo alfa 13
3	NDUFA3	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad 3 del subcomplejo alfa
3	NDUFA4	Subunidad de la citocromo c oxidasa
3	NDUFAF3	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 factor de ensamblaje del subcomplejo alfa 3
3	NDUFB11	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad beta subcomplejo 11
3	NDUFB2	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad beta subcomplejo 2
3	NDUFB4	Subunidad 4 del subcomplejo beta de NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1

3	NDUFB7	Subunidad 7 del subcomplejo beta de NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1
3	NDUFB8	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad beta subcomplejo 8
3	NDUFB9	Subunidad 9 del subcomplejo beta de NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1
3	NDUFC1	NADH deshidrogenasa [ubiquinona] 1 subunidad C1
1,2,3	NDUFC2	Transferencia de electrones del NADH en la cadena respiratoria
3	NDUFS5	Proteína NADH deshidrogenasa [ubiquinona] hierro-azufre 5
3	NEDD8	Proteína similar a ubiquitina
2	NPC2	Proteína secretora del epidídimo E1
2	NPNT	Nefronectina; Ligando funcional de la integrina alfa-8 / beta-1 en el desarrollo renal.
3	NUCB1	Proteína principal de unión al calcio del aparato de Golgi
3	OAZ1	Proteína antizima de ornitina descarboxilasa (ODC)
2,3	P4HB	Proteína disulfuro-isomerasa
3	PARK7	Proteína y nucleótido que cataliza la desglicación de los aductos de Maillard
2,3	PDIA3	Proteína disulfuro-isomerasa A3
3	PDIA6	Proteína disulfuro-isomerasa A6
3	PGK1	Fosfoglicerato quinasa 1
3	PLCG2	1-fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato fosfodiesterasa gamma-2
2,3	PLD3	Fosfolipasa D3
3	POLR2L	subunidad RPABC5 de las ARN polimerasas I, II y III dirigidas por ADN
1,2	PPIA	Acelera el plegamiento de proteínas
2	PRDX1	Peroxiredoxin-1; Peroxidasa específica de tio
1,2,3	PRDX6	Peroxidasa específica de tiol

3	PRKAR1A	Subunidad reguladora dquinasas depen dientes de cAMP
3	PRL39	Proteína ribosomal L39
1,2,3	PSAP	Degradación lisosomal de los esfingolípidos
2,3	PSMA4	Subunidad alfa del proteosoma tipo 4
2,3	PSMA7	subunidad alfa del proteosoma tipo 7
1,2,3	PSMB1	Subunidad beta del proteosoma tipo 1
2	PSMC4	subunidad reguladora del proteosoma 26S 6B;
2,3	PSMD8	subunidad reguladora 8 del proteosoma no ATPasa 26S
3	PTGDS	Prostaglandina-H2 D-isomerasa
2	PTGER4	Receptor de prostaglandina E2
3	PTGES3	Prostaglandina sintasa citosólica
1,3	RAB1A	Regula el tráfico de membranas intracelulares
1,2	RAB2A	Transporte de proteínas
1,2	RAC1	Regulador de respuestas celulares
1,2	RARRES2	Regula la adipogénesis, el metabolismo e inflamación
2,3	RBX1	ubiquitina-proteína ligasa
1,2,3	RHOA	Regula una vía de transducción de señales
3	RPL14	Proteína ribosomal 60S L14
3	RPL27	Proteína ribosomal 60S L27
3	RPL28	Proteína ribosomal 60S L28
3	RPL36A	Proteína ribosomal L39A
2	RPL39	proteína ribosómica L39
3	RPLP2	Proteína ribosomal P2 60S
3	RPN2	Subunidad 2 de la proteína glicosiltransferasa de dolichil- difosfooligosacárido
3	RPS10	Proteína ribosomal 40S S10
3	RPS12	Proteína ribosomal S12
2,3	RPS19	proteína ribosómica 40S S19
3	RPS2	Proteína ribosomal S2
3	RPS21	Proteína ribosomal S21

3	RPS29	Proteína ribosomal S29
2,3	RPS3	proteína ribosómica S3 40S
3	RPSA	Proteína ribosomal 40S SA
1,2,3	SBSPON	Metabolismo y glicosilación de proteínas
2,3	SDC2	Proteoglicano de la superficie celular que contiene heparán sulfato
2,3	SDC4	Proteoglicano de la superficie celular que contiene heparán sulfato
3	SEC61B	Proteína transportadora Sec61 subunidad beta
2,3	SEC61G	Proteína transportadora Sec 61 subunidad gamma
3	SEC62	Proteína de translocación
3	SEMA5A	Señal de guía axonal bifuncional regulada por proteoglicanos
1,2	SERPING1	Regulación de activación del complemento, fibrinólisis y generación de cininas
2,3	SKP1	proteína 1 asociada a quinasa de fase S;
1,2,3	SNCA	Liberación y transporte de dopamina
1, 2	SOD1	Destruye los radicales que son tóxicos para sistemas biológicos
2	SPARC	Regulación de crecimiento celular a través de interacciones con la matriz extracelular y las citocinas
3	SPARCL1	Crecimiento celular a través de interacciones con la matriz extracelular y las citocinas
3	SPCS1	Subunidad 1 del complejo de señal peptidasa
3	SPCS2	Subunidad 2 del complejo de señal peptidasa
1	SRGN	Formación de gránulos secretores
1,2,3	SRP14	Partícula de reconocimiento de señales.
3	SRP9	Partícula de reconocimiento de señales 9 kDa
3	ST3GAL6	lactosamina alfa-2,3-sialiltransferasa tipo II
3	SUMO2	Proteína similar a ubiquitina

2,3	TCEB2	factor de elongación de la transcripción
3	THSD7A	Proteína 7A que contiene el dominio de trombospondina tipo 1
1,2,3	TIMP1	Inhibidor de metaloproteinasas
1,3	TMED9	Tráfico de proteínas vesiculares
2,3	TXT	Desempeña un papel en la S-nitrosilación reversible de residuos de cisteína en proteínas diana
3	UQCR10	Subunidad 9 del complejo del citocromo b-c1
3	UQCR11	Subunidad 10 del complejo del citocromo b-c1;
3	UQCRQ	Subunidad 8 del complejo del citocromo b-c1
1,2	VAMP2	Direccionamiento y/o fusión de vesículas de transporte
2	VAPA	Proteínas de membrana asociada a vesículas
1	VEGFA	Inhibición apoptosis e induce la permeabilización de vasos sanguíneos
2	VGFA	Factor de crecimiento endotelial vascular A
2	VIM	Vimectina: filamentos intermedios de clase III especialmente en las células mesenquimales
3	VWA1	Proteína 1 que contiene el dominio del factor A de Von Willebrand

Red 1 = Exosomas y transporte mediado por vesículas.

Red 2 = Sistema inmune

Red 3 = Metabolismo
