

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



**“CARACTERIZACIÓN DE UN PACIENTE CON TRISOMÍA 13 Y
SUPERVIVENCIA PROLONGADA, ¿EL ORIGEN PARENTAL DEL
CROMOSOMA EXTRA INTERFIERE EN EL FENOTIPO ATÍPICO?”**

Por


DR. JOEL ARENAS ESTALA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

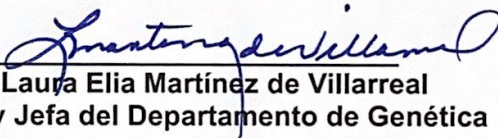
DICIEMBRE, 2023

“Caracterización de un paciente con trisomía 13 y supervivencia prolongada, ¿El origen parental del cromosoma extra interfiere en el fenotipo atípico?”

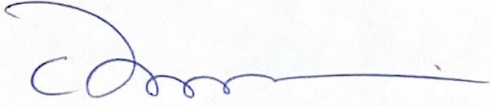
Aprobación de la tesis:



Dr. med. Luis Daniel Campos Acevedo
Director de la tesis



Dra. med. Laura Elia Martínez de Villarreal
Co. Directora y Jefa del Departamento de Genética



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

A mi familia, un pilar inquebrantable en mi vida. A pesar de la distancia, siempre estuvieron cerca de mí. Agradezco su apoyo incondicional, su escucha atenta, su preocupación constante, y su orgullo inmenso en cada uno de mis logros. Cada paso que he dado en este camino ha sido posible gracias a ustedes. Mi familia es la razón de quien soy hoy.

Al Dr. Daniel, por su paciencia y confianza al encomendarme un trabajo de tal relevancia, uno que involucra a un paciente importante. A la Dra. Marisol, por ser mi guía, consejera y un apoyo en mi desarrollo como médico y residente. Gracias por ser un ejemplo a seguir. A la Dra. Laura, por su exigencia, experiencia y sabiduría, y por creer en mí. A la Dra. Arelí, por su compromiso con la enseñanza y por transmitirme la importancia de la organización y la atención a los detalles. A la Dra. Bety, por inculcarme el compromiso con mis pacientes.

A mis compañeros de residencia, Meli, Berty, Santiago, David, Andy y Soto, quienes no solo fueron colegas, sino una segunda familia para mí. Agradezco su compañía, amistad, apoyo emocional, lealtad, empatía, aceptación incondicional y las diferentes perspectivas que compartimos. Gracias por ser parte integral de mi crecimiento personal y por todo el conocimiento que generosamente me compartieron.

A los médicos pasantes de servicio social y al personal de laboratorio y administrativo del departamento de genética, quienes contribuyeron significativamente a mi formación. En particular, agradezco a la Dra. Geo, Dr. José, Daniela y Chaday por su invaluable colaboración en la realización de esta tesis.

A mis pacientes, quienes han sido mis más importantes maestros, vehículos de conocimiento y fuente de inspiración. Todo lo que sé y he logrado es un reflejo de las lecciones que he aprendido a través de su confianza en mi atención.

Por último, agradezco a Dios, en quien he encontrado fuerza y orientación en cada paso de este camino.

Con gratitud y cariño, Joel.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESÚMEN	9
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	10
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	15
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	16
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	17
Capítulo VI	
6. RESULTADOS	28
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	36
Capítulo VIII	
8. CONCLUSIÓN	39

Capítulo IX

10.BIBLIOGRAFÍA 40

Capítulo XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO 43

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla	Página
1. Genes aparentemente improntados del cromosoma 13.	14
Figura	
1. Mecanismos de formación de translocaciones Robertsonianas ...	11
2. Obtención de muestras de piel y sangre periférica de los participantes	18
3. Siembra, cultivo e incubación de tejido de piel y sangre periférica	19
4. Levantamiento de cultivo de fibroblastos de piel	20
5. Arresto mitótico y prefijación	21
6. Fijación de muestra de sangre periférica	22
7. Goteo y secado de portaobjetos de muestra de sangre periférica	22
8. Tren de tinción para bandaje y análisis del cariograma	23
9. Extracción de DNA de cultivo de fibroblastos y sangre periférica	24
10. Proceso de MLPA	24
11. Marcadores diseñados para análisis de fragmentos	25
12. Flujograma de trabajo	27
13. FISH en metafase que muestra la T13 por translocación Robertsoniana	29
14. Cariograma de sangre periférica del padre	29
15. Cariograma de sangre periférica de la madre	30
16. Alteraciones cutáneas pigmentarias identificadas en el paciente ..	30

17. Idiograma que representa los puntos de corte de la translocación Robertsoniana identificada	31
18. Cariograma del tejido pigmentado	32
19. Cariograma del tejidoacrómico	32
20. Cariograma de sangre periférica	33
21. Electroferogramas obtenidos del análisis de fragmentos de los 5 marcadores diseñados	34
22. Electroferogramas obtenidos del análisis de fragmentos del marcador del perfil de paternidad	35
23. Porcentaje de metilación de los genes improntados en el caso y controles	35
24. Representación esquemática de la impronta de RB1 en el intrón 2	38

LISTA DE ABREVIATURAS

T13: Trisomía 13

DNA: Ácido desoxirribonucleico

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

STR: Short tandem repeats

MLPA: Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples

RPM: Revoluciones por minuto

FISH: Hibridación fluorescente in situ

UV/Vis: Ultravioleta/ Visible

KCl: Cloruro de potasio

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

GTG: Bando G con Tripsina y Giemsa

FR: Final ratio

MS-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa-Sensible a metilación

Ctl: Control

DNMT: DNA metiltransferasas

TET: Tet metilcitosina dioxigenasa

DMR: Regiones metiladas diferencialmente

CI: Centros de impronta

SNPs: Polimorfismos de nucleótido único

CO₂: Dióxido de carbono

1. RESUMEN

La trisomía 13 (T13) es una anomalía cromosómica asociada a una alta mortalidad, resultado de defectos congénitos en sistema nervioso central, urogenital y cardíacos, se debe a la presencia de un cromosoma 13 adicional. La trisomía regular es la causa más frecuentemente, consecuencia de una no disyunción en la meiosis I materna. La supervivencia promedio se estima en 10 días posterior al nacimiento, sin embargo, se han reportado casos de supervivencia hasta la segunda década de la vida y que generalmente se han asociado a mosaicismo y a la ausencia de anomalías graves como holoprosencefalia o cardiopatías complejas.

Existen genes improntados en el cromosoma 13 que aparentemente tienen expresión del alelo materno, lo que nos sugirió que cuando el cromosoma 13 adicional proviene del padre, estos genes en sobredosis se encontrarán inactivos y por lo tanto las manifestaciones clínicas de las personas con T13 con un cromosoma adicional de origen paterno, serán menos severas. El propósito de este estudio es caracterizar el fenotipo de un individuo con T13 atípica (supervivencia prolongada y ausencia de defectos cardíacos severos y/o holoprosencefalia, que pusieran en riesgo su vida desde el nacimiento), descartando la presencia de mosaicismo, determinando el origen parental del cromosoma 13 por análisis de fragmentos para marcadores de microsatélites (STRs) del cromosoma 13, comparándolo con el perfil de sus padres y el estado de activación de los genes improntados, que se determinará por análisis del estado de metilación.

Se determinó que el paciente no presenta un mosaico, que el cromosoma 13 adicional era de origen materno y 2 de los genes con supuesta impronta materna no presentaban un porcentaje de metilación diferente a la observada en los controles lo que sugiere una expresión bialélica. El fenotipo atípico del paciente puede deberse a aparente ausencia de la región crítica de la T13 en el cromosoma translocada, identificada en el reanálisis citogenético del cariograma del paciente. Es necesario continuar investigando los mecanismos de supervivencia en estos pacientes.

2. INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Patau o trisomía 13 (T13) es una anomalía cromosómica que se asocia a una alta mortalidad y morbilidad, resultado de anomalías congénitas severas que incluyen sistema nervioso central, cardíacas y urogenitales y se caracteriza por microftalmia o anoftalmia, labio y paladar hendido y polidactilia postaxial en el 70% de los casos. Es la tercera aneuploidía autosómica más frecuente en el humano y se debe a la presencia de tres copias del cromosoma 13, siendo la trisomía regular la causa más frecuente y que explica el 80% de los casos (consecuencia de una no disyunción en la meiosis I materna), seguido de alguna translocación desbalanceada (más común entre cromosomas acrocéntricos o translocaciones Robertsonianas, como: 13;14, 13;13) en aproximadamente 20% y finalmente mosaicismo en ~1%. En general se reconoce que el origen parental de la anomalía cromosómica en el 85% de los casos es materna y 15% paterna. Se estima una prevalencia de 1 en 10,000 a 20,000 nacidos vivos. El 90% de los casos se presentan de *novo*, no heredados y se asocian a edad materna de riesgo (≥ 35 años). El diagnóstico, ante la sospecha clínica, se confirma por medio del cariotipo. (1 – 4)

Aún se desconoce con exactitud cuál es la región crítica asociada al fenotipo característico de estos pacientes, sin embargo, se ha propuesto a través de estudio de transcriptomas placentarios en las aneuploidías, que la mayoría de los genes involucrados al fenotipo se localizan en 13q11-q14. (5)

Los pacientes con T13 generalmente tienen mal pronóstico, con una tasa de mortalidad muy alta, a pesar de esto, se han reportado casos de supervivencia a largo plazo ocasionalmente hasta la segunda década de la vida. La supervivencia promedio de recién nacidos con T13 se estima en 10 días posterior al nacimiento, se ha reportado que menos del 20% suelen sobrevivir al primer año de vida dependiendo de las malformaciones que presente y de los procedimientos médicos - quirúrgicos e intervenciones realizadas. La supervivencia prolongada se ha relacionado a la ausencia de anomalías graves como holoprosencefalia o defectos cardíacos, el sexo femenino, etnia afrocaribeña, casos de mosaicismo y translocaciones Robertsonianas. Además, se suele asociar a comorbilidades como discapacidad intelectual, convulsiones y retraso del crecimiento. (2, 3, 6, 7, 8)

Las translocaciones Robertsonianas comprenden los elementos del brazo largo de dos cromosomas acrocéntricos, y se deben a diversos mecanismos:

- a) Fusión céntrica (fusión del centrómero), posterior a unión después de rupturas en ambos brazos cortos. Se obtiene un cromosoma dicéntrico. Mecanismo más frecuente.
- b) Unión después de la ruptura en un brazo corto y otro largo (monocéntrico)
- c) Ruptura en ambos brazos cortos dando origen a un cromosoma dicéntrico y posterior supresión de uno de los centrómeros.

Esta heterogeneidad de formación no tiene ninguna importancia clínica que pueda discernirse actualmente.

Respecto a la translocación Robertsoniana de homólogos (13;13) se puede tratar de una translocación debida a la fusión de los 2 homólogos parentales o un isocromosoma derivativo de acrocéntrico. (9)

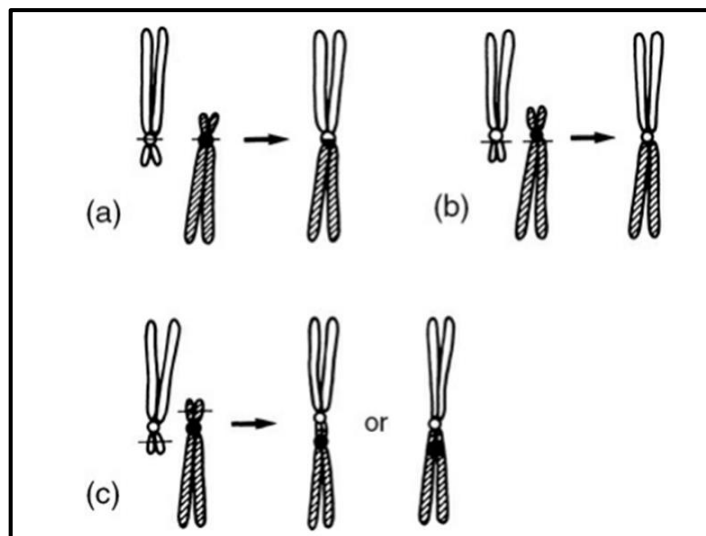


Figura 1. Mecanismos de formación de translocaciones Robertsonianas. (Gardner, et al. 2018)

Respecto al mosaicismo, es posible que, durante el desarrollo embrionario de un individuo, posterior a la primera división del cigoto, alguna de las células sufra una mutación de tipo génico o cromosómico, generando 2 o más líneas celulares con diferente genotipo originadas del mismo cigoto, que dependiendo del momento en que ocurra, se puede expresar, por ejemplo, en diferentes derivados de capas germinativas primordiales o tejidos específicos. Mientras más temprano ocurra, el impacto en el fenotipo del individuo puede ser mayor, aunque en algunos casos de aneuploidías en mosaico, puede atenuar las manifestaciones clínicas descritas en aquellos individuos que no son mosaicos.

Los eventos que originan un mosaicismo cromosómico para una trisomía regular pueden incluir un rescate trisómico o una no disyunción postcigótica. (10)

En los casos de mosaicismo con T13, lo más frecuente es encontrar una línea celular con un complemento normal de cromosomas (euploide) y otra con un cromosoma 13 adicional en el mismo individuo. Se ha descrito una variabilidad fenotípica y citogenética (distribución tisular y el porcentaje de células afectadas), desde algunos con el fenotipo clásico de T13 regular, que generalmente mueren en el período neonatal, hasta otros con solo algunas características dismórficas y una supervivencia prolongada. En estos casos se observaron diferentes porcentajes de células trisómicas, en cariotipo de leucocitos en sangre periférica y fibroblastos en piel, y no se encontró correlación clínica con la gravedad del fenotipo. Es probable que aquellos con fenotipos más severos tengan un mayor porcentaje de células trisómicas en tejidos no analizados. Sin embargo, al considerar que el mosaicismo podría influir en el fenotipo de los pacientes con T13, es una condición que debe buscarse en aquellos con supervivencia prolongada. (3,11,12)

Los seres humanos somos disómicos biparentales y cuando ambos cromosomas homólogos, provienen del mismo origen parental, se llama disomía uniparental (materna o paterna). Si se heredaron ambos cromosomas homólogos de un solo padre, es heterodisomía, pero si son 2 copias (cromátides hermanas) de sólo uno de los homólogos, se le llama isodisomía. Como se ha comentado previamente, el origen de la T13 se debe principalmente a no disyunción en la meiosis I materna, que es la falta de separación de los cromosomas bivalentes homólogos durante la anafase en meiosis I, originando dos gametos disómicos y dos nulisómicos. Por lo tanto, de los tres cromosomas 13 que componen las células trisómicas, 2 tienen un mismo origen parental, de un gameto disómico. En los casos de translocación Robertsoniana en la que ambos brazos largos provienen del mismo cromosoma acrocéntrico, si la translocación se forma a partir de la fusión de los 2 homólogos parentales, el individuo presenta heterodisomía, por el contrario, si cada brazo largo es una copia exacta del otro, el reordenamiento es un isocromosoma y condiciona una isodisomía uniparental. La implicación clínica de esto es que la disomía uniparental favorece la presencia de condiciones autosómicas recesivas y de síndromes relacionados con alteraciones de la impronta. Sin embargo, en la T13, ya sea regular o por translocación, ellos además de su herencia biparental, poseen una copia adicional, generalmente de origen materno. (13, 9)

La impronta genómica es una marca, sello o huella de un grupo de genes, que, depende de su origen parental, determina la expresión génica. Hasta la fecha, se han descrito alrededor de 120 genes aparentemente improntados (<https://www.geneimprint.com>), es decir, que se expresan de manera monoalélica y no como es habitual, que se expresen bialélicamente. Este fenómeno está determinado por marcas epigenéticas, a través de la metilación del DNA, una modificación que ocurre en las citosinas de la secuencia de dinucleótidos CpG (islas CpG) por las DNA metiltransferasas (DNMT), que transfieren un grupo metilo de la S-adenil metionina al quinto carbono de un residuo de citosina para formar 5-metilcitosina y que es reversible mediante la desmetilación por las enzimas de translocación diez-once (TET o tet metilcitosina dioxigenasa) que oxidan y promueven la eliminación del grupo metilo. Las regiones genéticas improntadas, suelen mostrar diferencias en la metilación del DNA entre los alelos parentales y se conocen como regiones metiladas diferencialmente (DMR) y también tienden a organizarse en grupos, muchos de los cuales están bajo el control de regiones llamadas centros de impronta (IC). Este mecanismo desempeña diversas funciones en el control de la expresión génica, sobre todo durante la gametogénesis y la embriogénesis temprana. Las marcas de los padres deben "borrarse" y durante el desarrollo de las células germinales surgir nuevas huellas que reflejan el sexo del embrión. Después de la fertilización, estas marcas se "mantienen" a medida que la célula se divide, excepto en las células germinales donde las huellas se borran nuevamente y se restablecen para la siguiente generación. Este control de la dosis conferido por la impronta es esencial para diversos procesos biológicos, incluido el crecimiento fetal, el desarrollo y la función de la placenta, las funciones endocrinas y metabólicas, y el desarrollo del cerebro.

Se ha observado, que algunos de los genes en el cromosoma 13 (*ATP5F1EP2*, *HTR2A*, *RB1*, *FLJ40296*, *FAM70B*) tienen una aparente impronta y expresión preferencial de los alelos maternos. (14 – 18)

Gen	Locus	Estatus de impronta	Función
<i>ATP5F1EP2</i>	13q21.2	Improntado	Pseudogen. Pseudogen 2 épsilon de la subunidad F1 de la ATP sintasa. Se prevé que participe en la síntesis de ATP mitocondrial acoplada al transporte de protones. Ubicado en la mitocondria. (19)
<i>HTR2A</i>	13q14	Datos contradictorios	Receptor 2A de 5-hidroxitriptamina. Receptor de serotonina. Variantes en este gen están asociadas con susceptibilidad a la esquizofrenia y el trastorno obsesivo-compulsivo, y también con la respuesta al antidepresivo citalopram en pacientes con trastorno depresivo mayor. (20)
<i>RB1</i>	13q14.2	Improntado	Retinoblastoma. Gen supresor de tumores. Regulador negativo del ciclo celular. La forma activa hipofosforilada de la proteína se une al factor de transcripción E2F1. (21)
<i>FLJ40296</i> (<i>PRR20A</i>)	13q21.1	Predictivo	Proteína rica en prolina 20A, secuencias similares al receptor D4 de dopamina. Expresión testicular. (22)
<i>FAM70B</i> (<i>TMEM255B</i>)	13q34	Predictivo	Proteína transmembrana 255B, Se prevé que sea un componente integral de la membrana. Expresión mayoritaria en pulmón y vesícula biliar. (23)

Tabla 1. Genes aparentemente improntados del cromosoma 13.

Justificación

El fenotipo del Síndrome de Patau ya ha sido muy bien caracterizado y se explica por la dosis génica aumentada del cromosoma 13, sin embargo, en los casos atípicos exceptuando el mosaicismo, no se han podido explicar los mecanismos que modifican el fenotipo, por lo que determinar si influye la expresión preferencial dependiendo del origen parental de los alelos en los genes albergados en el cromosoma 13 además de la dosis génica es un área hasta el momento no estudiada y puede ser clave en el entendimiento de estos casos.

Capitulo III.

3. HIPOTESIS

El cromosoma 13 extra de origen paterno en la trisomía 13 modifica el fenotipo del síndrome de Patau debido a que los genes improntados de este cromosoma tienen una expresión materna.

Capítulo IV.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

La caracterización del fenotipo del paciente.

Objetivos específicos

- Descartar la presencia de mosaicismo para T13 en el caso índice
- Determinar el origen parental del cromosoma 13 adicional.
- Determinar el estado de metilación de los genes improntados (*ATP5F1EP2*, *HTR2A*, *RB1*, *FLJ40296*, *FAM70B*)

5. MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio

Es un estudio descriptivo, y observacional, que incluye la caracterización citogenética y molecular de un individuo con T13 y supervivencia prolongada determinando la presencia o ausencia de mosaicismo, el origen parental del cromosoma adicional y el estado de metilación de genes improntados del cromosoma 13.

Variables

Las variables independientes estudiadas son:

- Origen parental del cromosoma 13 extra (cualitativa, nominal; materno/paterno), determinado por el análisis de fragmentos.
- Estado de metilación del gen improntado (cualitativa, nominal; metilado/hipometilado), determinado por análisis del estado de metilación.
- Mosaicismo (cualitativa, nominal; si/no) determinado por el cariotipo realizado en 2 líneas celulares.

La variable dependiente es el fenotipo del paciente, que incluye la descripción clínica.

Criterios de inclusión del caso

- Paciente con diagnóstico de T13 confirmado por cariotipo en sangre periférica.
- Supervivencia prolongada.
- Los padres acepten participar en el protocolo de investigación y se obtenga el consentimiento informado.
- Los padres biológicos estén dispuestos a otorgar sus muestras para análisis de fragmentos para marcadores del cromosoma 13 y análisis del estado de metilación de los genes improntados en el cromosoma 13.

Obtención de muestras

- En condiciones de máxima esterilidad y bajo anestesia local se obtuvieron biopsias de piel en sacabocados (de 4 mm de grosor) de áreas de piel acrómica y pigmentada evidentes durante la exploración

física y que pueden ser asociadas a un mosaicismos pigmentario de la piel. Una vez recolectadas las muestras, se trasladaron al laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del Hospital Universitario “José E. González” de la UANL.

- A través de venopunción se recolectó un tubo de heparina con 4 ml de sangre periférica y la muestra se trasladó al laboratorio de citogenética del Departamento de Genética del Hospital Universitario “José E. González” de la UANL.
- También por venopunción se recolectó un tubo de EDTA con 4 ml de sangre periférica del paciente y ambos padres. Las muestras se trasladaron al laboratorio de genética molecular del Departamento de Genética del Hospital Universitario “José E. González” de la UANL.

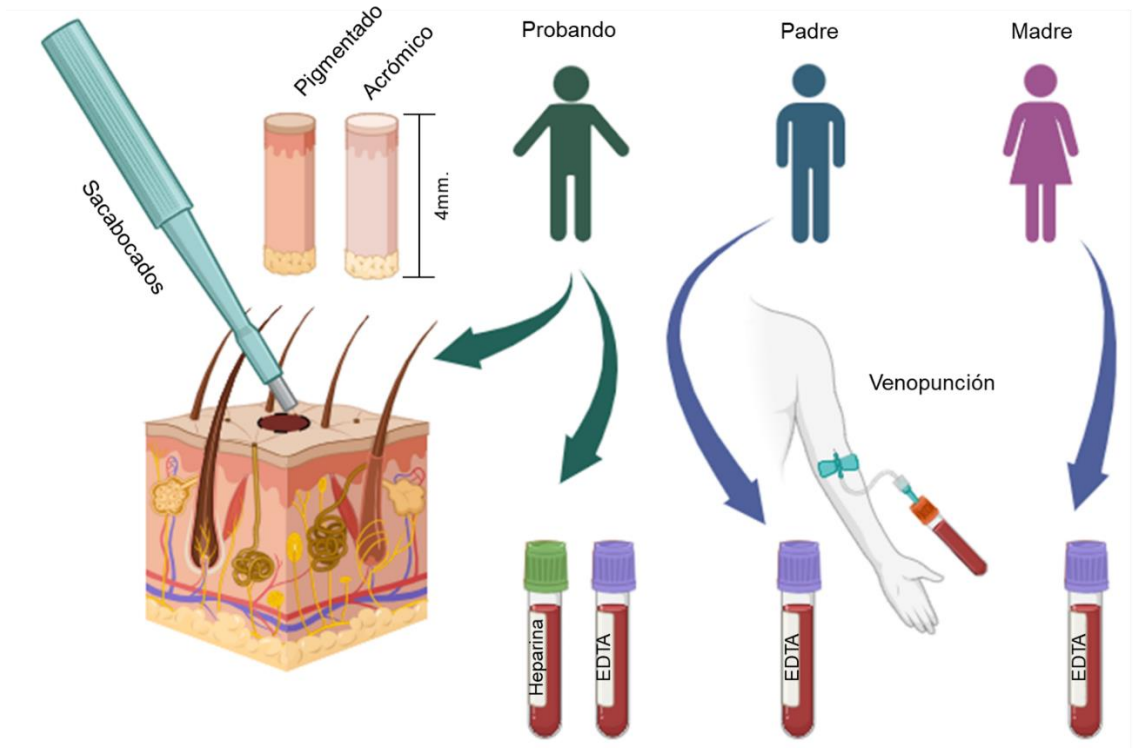


Figura 2. Obtención de muestras de piel y sangre periférica de los participantes.

Cariotipo de tejido (fibroblastos en piel) y sangre periférica

Para evaluar el complemento cromosómico del participante, en al menos 2 líneas celulares, se realizó el cariotipo en sangre periférica y tejido de piel.

1. Siembra

- En campana de flujo laminar, se fragmentó el tejido de piel con bisturí en una caja Petri y se sembró en medio de cultivo AminoMax® + 100 µl de antibiótico en una caja T-25, por duplicado, estuvo en incubación a 37° C con 5% de CO₂, hasta una vez que hubo crecimiento celular suficiente. Se aisló una alícuota del cultivo para realizar extracción de DNA.
- Se colocaron 0.5 ml de sangre periférica en 5 ml de medio de cultivo PBMax® + 100 µl de fitohemaglutinina, por duplicado (Tubo A y B) y se incubó por 72 horas a 37° C con 5% de CO₂.

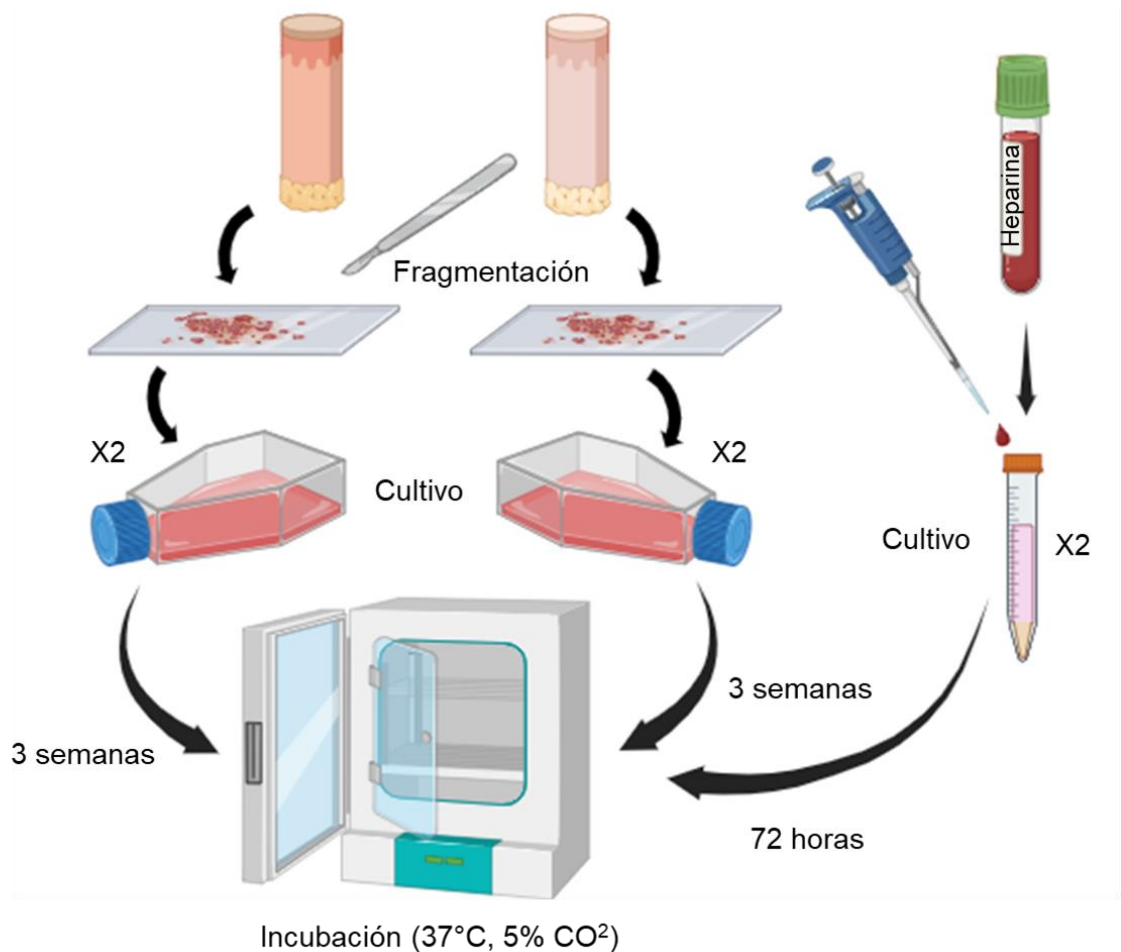


Figura 3. Siembra, cultivo e incubación de tejido de piel y sangre periférica.

2. Cosecha

- a. Logrando una confluencia adecuada del cultivo de fibroblastos se levantó el tejido adherido a la caja, desechando el sobrenadante e incubando durante 5 minutos con 4 ml de tripsina EDTA 0.25%, verificando el desprendimiento de las células en el invertoscopio y deteniendo la acción de la tripsina agregando de 3 - 5 ml de AmnioMax®. El contenido de la caja se vació a un tubo cónico y se centrifugó 10 minutos a 1500 rpm, desechando el sobrenadante y resuspendiendo el botón en 2.5 ml de AmnioMax®. La muestra se distribuyó sobre 6 cubreobjetos, cada uno colocado en una caja Petri. Las 6 cajas se incubaron a 37° C con 5% de CO₂ durante 18 horas, posteriormente se agregaron 2.5 ml de Amniomax® y 1 gota de Colcemid a cada caja, dejando actuar por 8 minutos en incubadora y extrayendo el contenido con pipeta, luego se agregaron 3 ml de solución hipotónica (citrato de sodio), dejando durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se hace una prefijación colocando 2 ml de solución de Carnoy (metanol y ácido acético 3:1) a cada caja durante 2 minutos y se extrae todo el contenido. Luego la fijación consiste en 3 lavados con solución de Carnoy durante 20, 15 y 10 minutos respectivamente, se extrae la solución de la tercera fijación y se seca el cubreobjetos con secadora y mechero, se extraerá el cubreobjetos de la caja Petri y se mantendrá en incubadora a 37° C durante 48 horas.

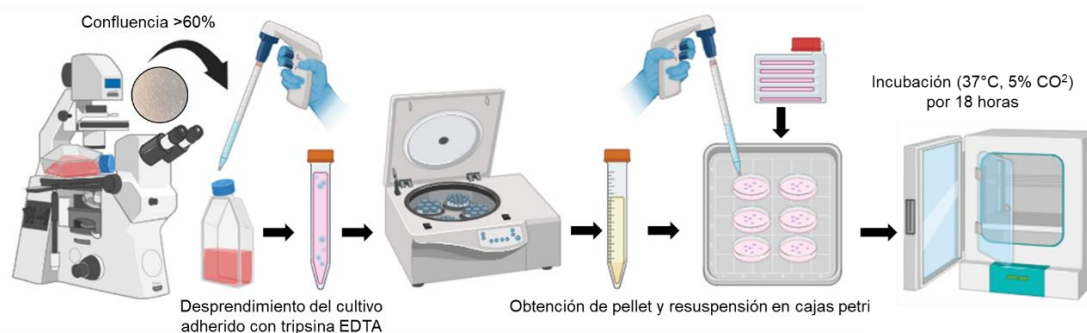


Figura 4. Levantamiento de cultivo de fibroblastos de piel.

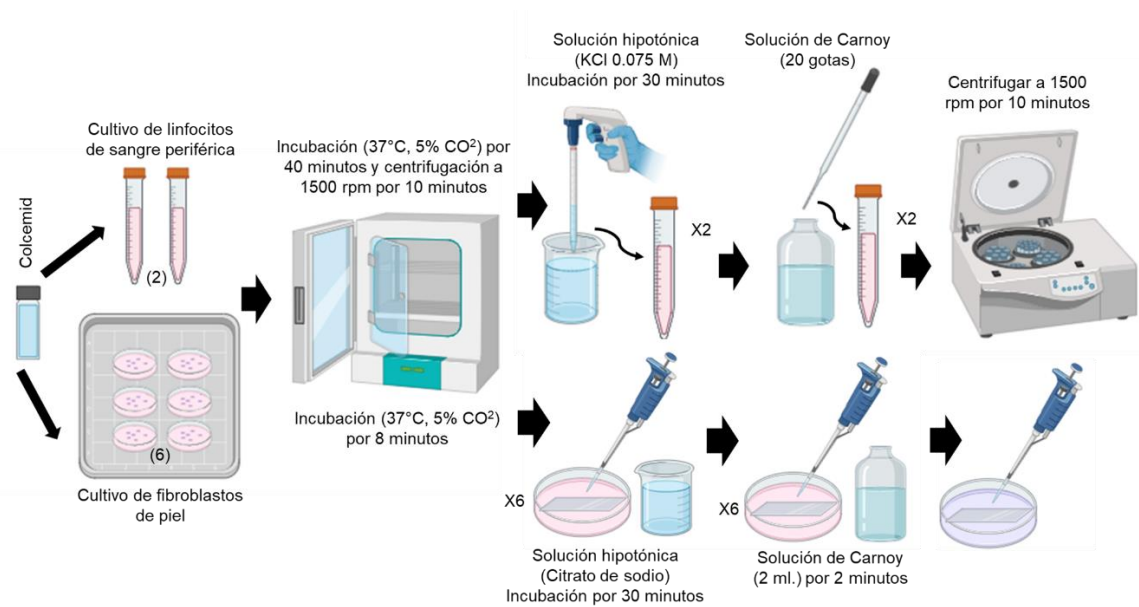


Figura 5. Arresto mitótico y prefijación.

- b. Respecto al cultivo de linfocitos, una vez transcurridas las 72 horas, se colocaron 100 μ l de colcemid, se incubó por 40 minutos, luego se centrifugó 10 minutos a 1500 rpm, posteriormente se agregan 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M) y se incuba 30 minutos a 37°C, después para la prefijación se adicionaron 20 gotas de solución de Carnoy fría y se centrifugó por 10 minutos a 1500 rpm y se extrajo el sobrenadante y para la fijación se realizan 3 lavados con 5 ml de solución de Carnoy y se centrifuga 10 minutos a 1500 rpm y se extrae el sobrenadante y finalmente el botón obtenido se resuspende en solución de carnoy y se gotea en portaobjetos en condiciones adecuadas de humedad y temperatura y se deja secar en horno.

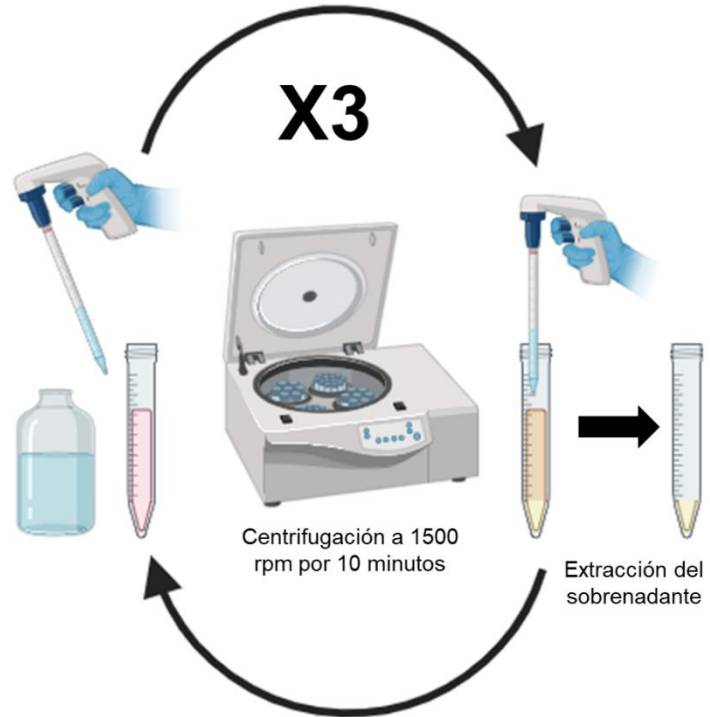


Figura 6. Fijación de muestra de sangre periférica.

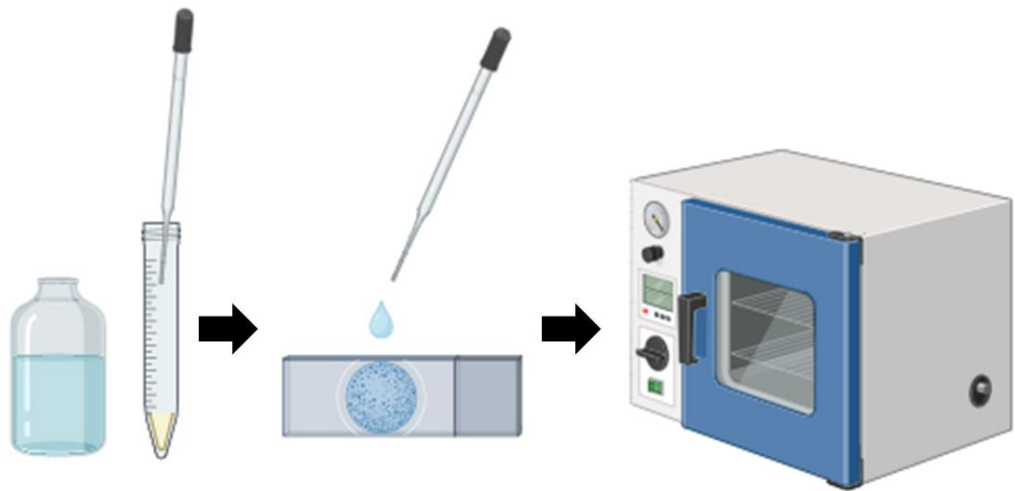


Figura 7. Goteo y secado de portaobjetos de muestra de sangre periférica.

3. Bando y análisis

- a. Para la tinción de los cromosomas, se realizó un bandeo GTG, de bandas G utilizando tripsina y colorante Giemsa y Wright. Una vez teñidas las laminillas, se realizó un montaje con resina y colocación de cubreobjetos. 2 citogenetistas capturaron y analizaron 30 metafases por tejido por tejido buscando descartar la presencia de 2 o más líneas celulares.

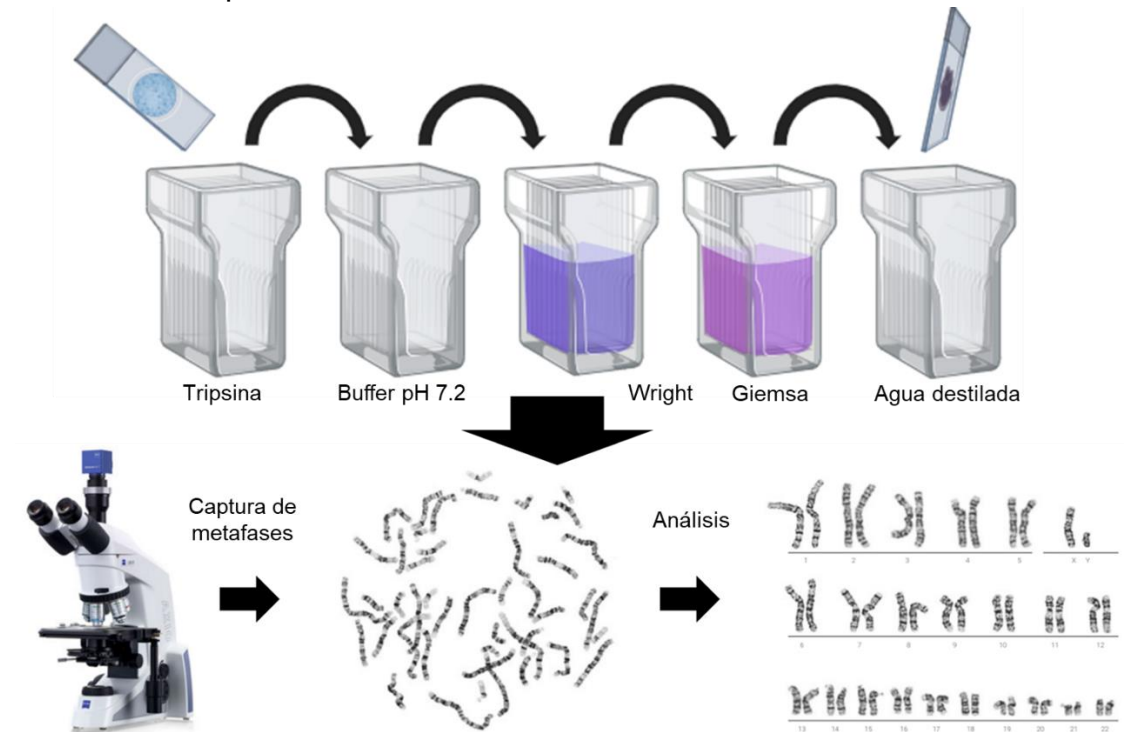


Figura 8. Tren de tinción para bandaje y análisis del cariotipo.

Extracción de DNA

Se realizó extracción de DNA de muestras de sangre periférica del paciente y sus padres, fueron obtenidas a través de venopunción, recolectadas en un tubo con EDTA, así como de alícuotas de los cultivos de fibroblastos de piel del paciente. La extracción fue utilizando el kit comercial Gentra® Puregene® (Qiagen) de forma automatizada con el uso del equipo QIAcube® (Qiagen). Se verificó la calidad y concentración por espectrofotometría (UV/Vis) con el nanodrop 8000. Para considerar adecuada la muestra debía contener 10-100 ng/μl de DNA total con una pureza mínima de 1.80 de absorbancia en una relación de longitudes de onda de entre 260/280 nm.

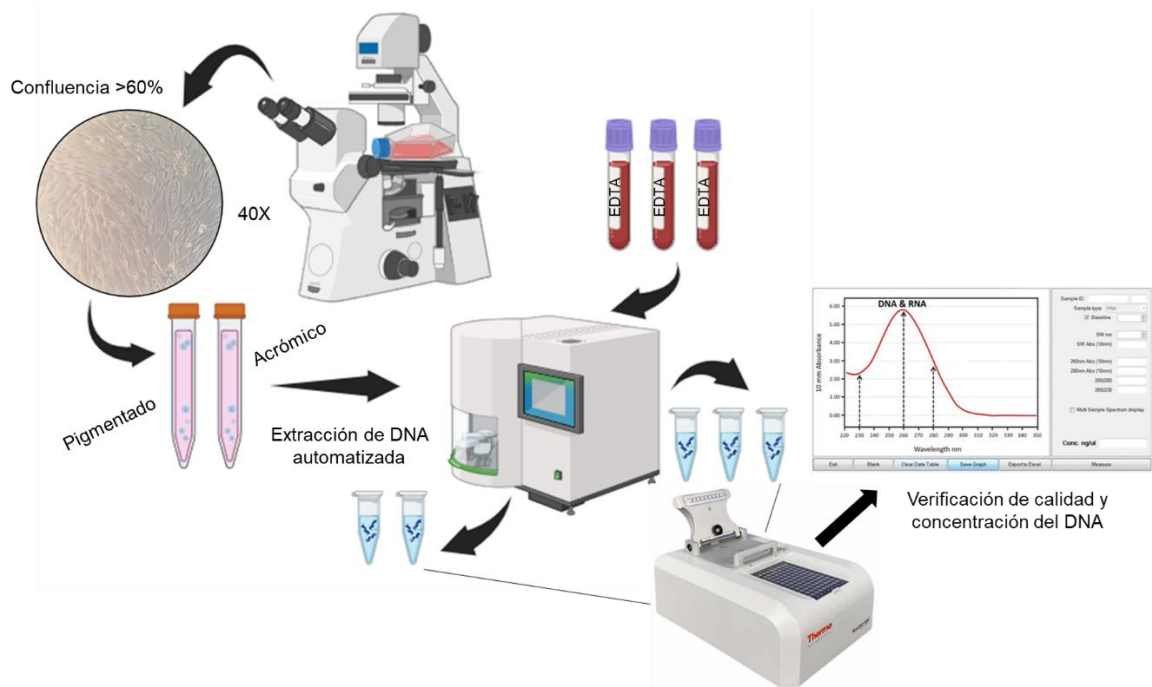


Figura 9. Extracción de DNA de cultivo de fibroblastos y sangre periférica.

MLPA de aneuploidías

Se realizó un MLPA (amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples) de DNA extraído de alícuotas de los cultivos de fibroblastos de piel y sangre periférica del paciente. Se utilizó el Kit SALSA® MLPA® Probemix P095-A4 Aneuploidy que incluye 8 sondas para el cromosoma 13 de 136 a 454 nucleótidos, distribuidos a lo largo de todo el cromosoma (en los loci: 13q13.1, 13q13.3, 13q14.2, 13q14.3 13q21.33, 13q32.1, 13q34, 13q34), que permite identificar (de acuerdo al ratio obtenido) si se trata de una trisomía completa ($FR \geq 1,30$ en 4/8 o $\geq 1,20$ 4/6), parcial ($FR \geq 1,30$ en 2 o más) o en mosaico ($FR 1,10 - 1,20$).

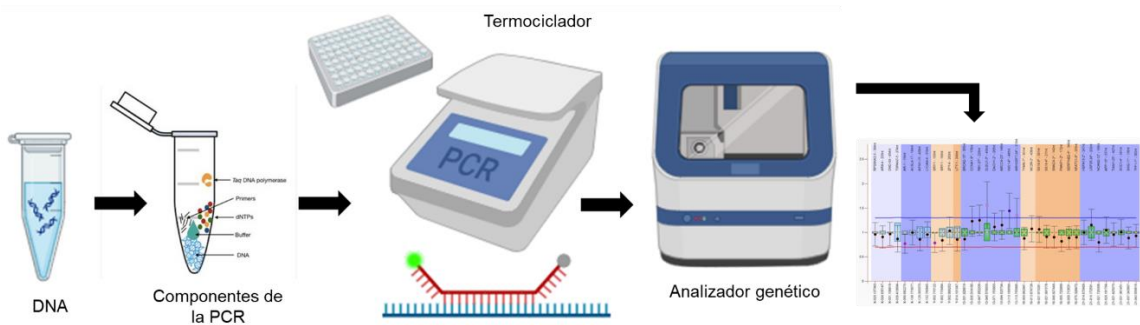


Figura 10. Proceso de MLPA.

Análisis de fragmentos para marcadores de microsatélites (STRs) del cromosoma 13

Se investigaron secuencias cortas y repetitivas (Short tandem repeats o STR's) presentes en el cromosoma 13 que sirvieran como marcadores genéticos para identificación de individuos y que nos permitieran distinguir si el cromosoma 13 adicional es de origen paterno o materno. Se identificaron 5 secuencias, para las cuales se diseñó un par de cebadores forward y reverso, además se utilizó uno de los marcadores establecidos en el perfil de paternidad VeriFiler® (D13S317). Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en Termociclador de PCR punto final se amplificó el fragmento de DNA de interés y posteriormente se adicionó una cola M13 que permitió incorporar un fluoróforo, el análisis se realizó a través del Genetic Analyzer 3500, a través de electroforesis capilar, obteniendo los perfiles genéticos, las diferentes señales y el número de repetidos por alelo (del marcador D13S317). Se compararon los electroferogramas obtenidos de los padres y el paciente, así como el número de repetidos de cada alelo (si aplica) y se determinó el origen parental del cromosoma.

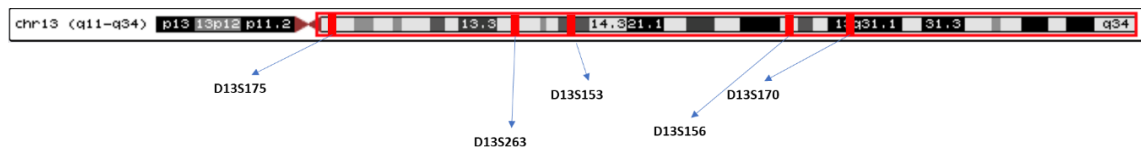


Figura 11. Marcadores diseñados para análisis de fragmentos.

Análisis del estado de metilación de los genes improntados en el cromosoma 13

Se diseñaron cebadores forward y reverso dirigidos a las regiones promotoras de los genes *ATP5F1EP2*, *HTR2A*, *RB1*, *FLJ40296*, *FAM70B*. Se realizó una PCR sensible a metilación (MS-PCR), el DNA previo a la MS-PCR se trató con enzimas de restricción sensibles a metilación, que cortan de manera preferencial DNA metilado, no metilado y sin digerir, posteriormente la muestra se amplificó en termociclador de PCR punto final, se comparó el estado de metilación de DNA tratado y no tratado con los controles (2 mujeres y un hombre) y se determinó el porcentaje de metilación.

Análisis estadístico

Estudio descriptivo y observacional de un solo caso. Los datos obtenidos del análisis de fragmentos para marcadores de microsatélites (STRs) del cromosoma 13 serán utilizados para obtener Índice de Paternidad. A través del análisis de metilación se obtendrá el porcentaje de metilación génica.

Aspectos éticos

Con apego a los principios de beneficencia, no maleficencia, autonomía y justicia, se obtuvo Consentimiento Informado de los padres del participante del estudio. Así mismo, para evitar la coerción o influencia indebida se ofreció información detallada de los procedimientos a realizar, objetivos, beneficios, confidencialidad y riesgos, así como la posibilidad de retirarse del estudio si así se desea. Se contó con presencia de testigos. En caso de negativa se respetó su decisión.

Mecanismos para proteger la confidencialidad de la información

El manejo de los datos se llevó conforme al acuerdo de confidencialidad de los datos personales del Departamento de Genética y La ley Federal de Protección de Datos Personales de los Particulares.

Los datos personales de los involucrados fueron utilizados para generación de claves de identificación de las muestras obtenidas, para el procesamiento de estas. La identidad de los sujetos solo fue conocida por los investigadores autorizados.

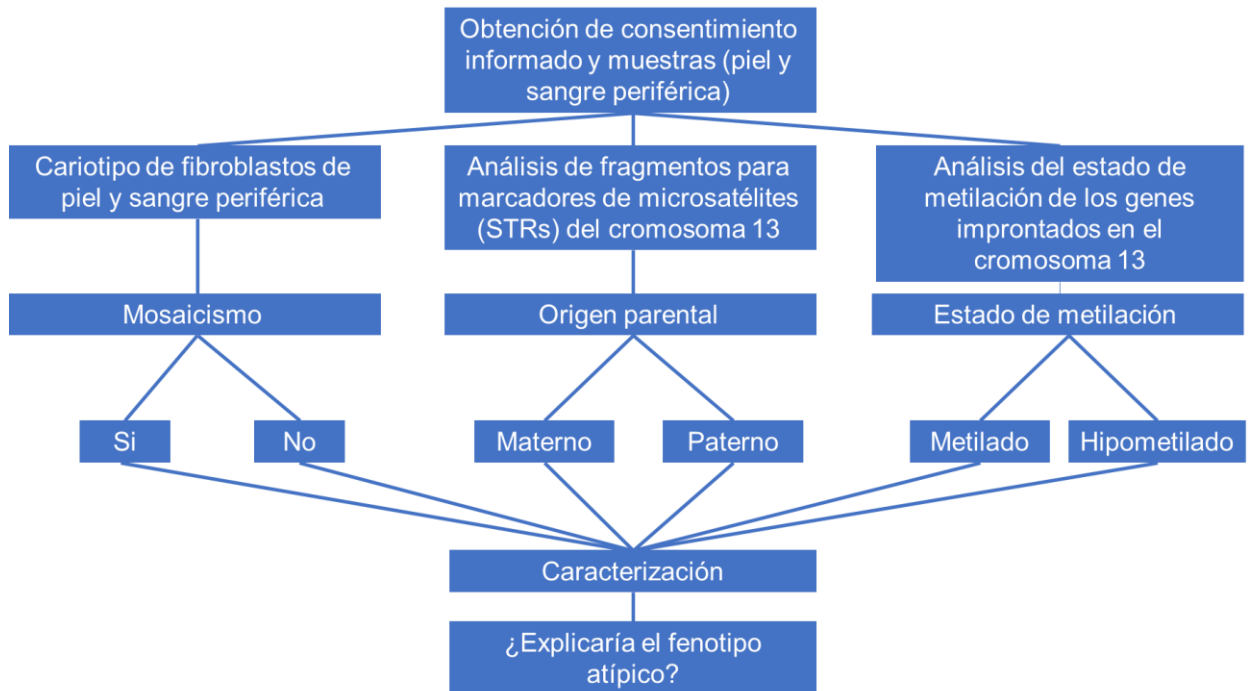


Figura 12. Flujograma de trabajo.

6. RESULTADOS

Presentación del caso

Masculino de 22 años de edad referido desde hace 11 años (2009) al Departamento de Genética Médica de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, por retraso del neurodesarrollo y presentar múltiples defectos menores. Padre de 30 años y madre de 31 años de edad al nacimiento del propósito. Producto de la primera gesta de ambos. Sin antecedentes heredofamiliares de relevancia para el caso. Control prenatal adecuado. Se realizaron 7 USG obstétricos donde se reportó un feto pequeño para la edad gestacional en 2° trimestre. Es obtenido por cesárea secundaria a presentación pélvica, a término de 38 SDG, presenta circular de cordón, APGAR al minuto de 4, peso y talla adecuados para la edad gestacional. Se mantiene en incubadora en observación por 24 horas. Tamiz metabólico ampliado normal. Presentó retraso en los hitos del desarrollo, sostén cefálico a los 8 meses, sedestación sin ayuda a los 17 meses, marcha sin ayuda a los 3 años 11 meses, dice frases hasta los 8 años 6 meses. Antecedente de hernioplastia umbilical a los 4 meses, orquidopexia a los 12 meses, adenoamigdalectomía a los 4 años, colocación de tubos de ventilación a los 9 años

A la exploración física ambulante, obedece órdenes sencillas, con lenguaje limitado pero entendible, muy cariñoso, braquicéfalo, fisuras palpebrales cortas, nariz ancha, puente prominente, columnela ancha, filtrum largo y plano, paladar alto, microretrognatia, pabellones auriculares de baja implantación y acopados, ausencia de pliegues en falanges distales, pliegues palmares aberrantes, limitación a la extensión del codo, pie plano bilateral, 1° dedos espatulados. Se le solicitó cariotipo el cual reportó 46,XY,+der(13;13)(q10;q10). Se confirma hallazgo citogenético con FISH, mostrando 3 señales para el cromosoma 13. Cariotipo de ambos padres normal.

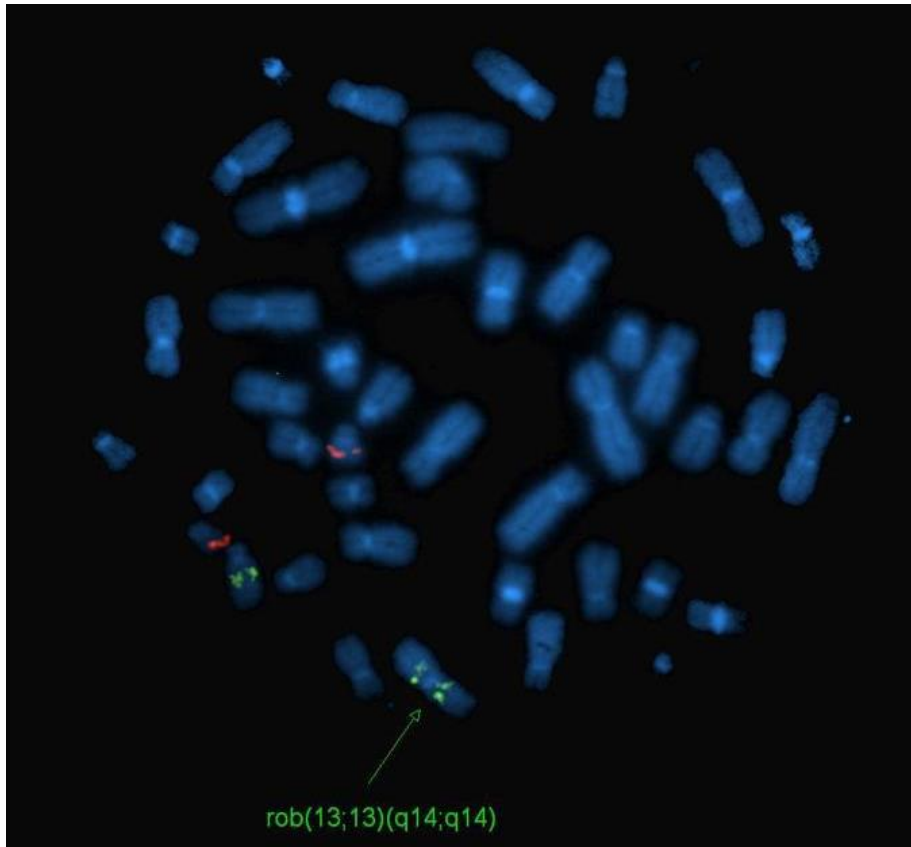


Figura 13. FISH en metafase que muestra la T13 por translocación Robertsoniana.

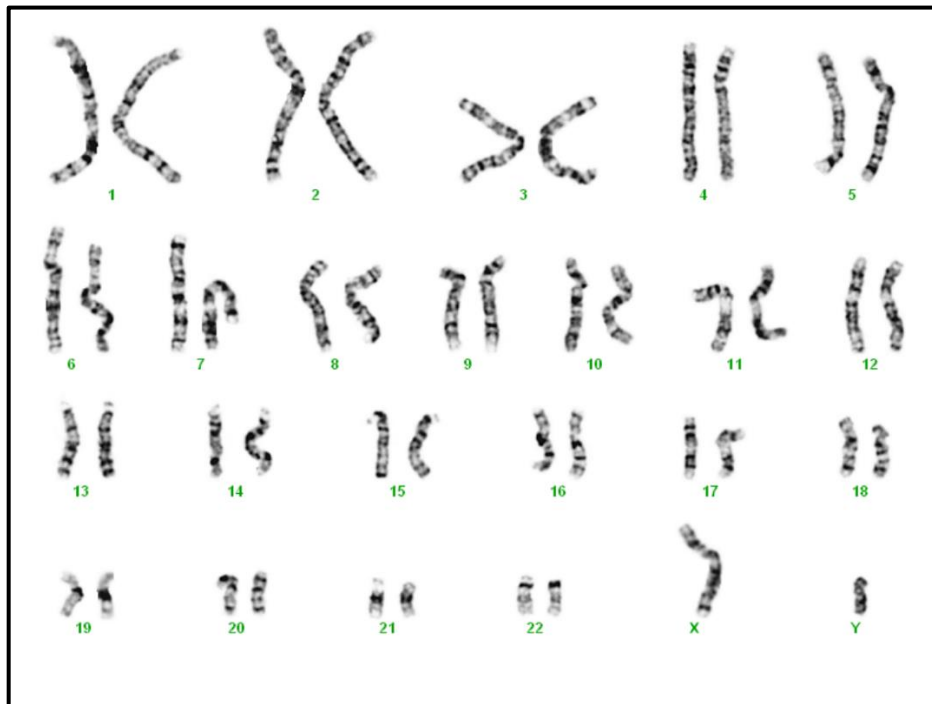


Figura 14. Cariograma de sangre periférica del padre.

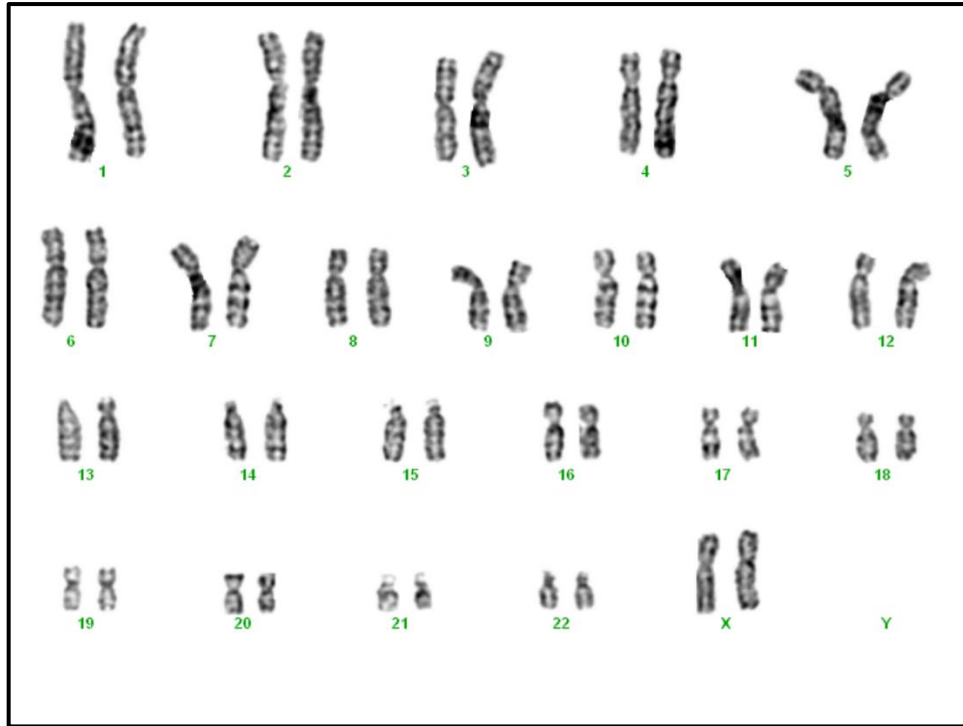


Figura 15. Cariograma de sangre periférica de la madre.

Actualmente presenta manchas y parches acróxicos bien delimitados en piel del rostro, tronco anterior y posterior, y extremidades, de manera bilateral y simétrica, siguiendo las líneas de Blaschko, con evolución aparentemente crónica, estos hallazgos pueden ser asociados a un mosaicismo pigmentario de la piel.



Figura 16. Alteraciones cutáneas pigmentarias identificadas en el paciente. A. Brazo derecho. B. Región dorsal.

OBJETIVO 1. Descartar la presencia de mosaicismo para T13 en el caso índice

A través del análisis de las metafases obtenidas del cariotipo de sangre periférica y de tejido de piel (tejido pigmentado y acrómico) a través de técnica de bandas GTG, se identificó que el paciente presenta el mismo complemento cromosómico: 46,XY,+der(13;13)(q10;q13) en las tres diferentes muestras, lo cual nos permitió descartar el mosaicismo, al analizar 2 diferentes líneas celulares y estudiar 2 áreas de piel diferencialmente pigmentadas (mosaico pigmentario)

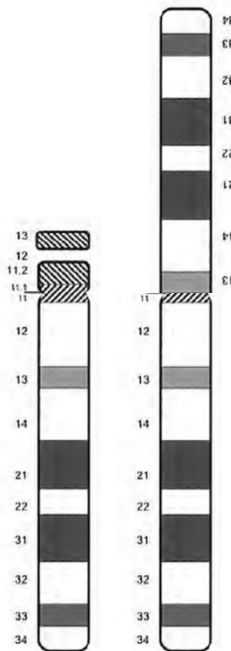


Figura 17. Idiograma que representa los puntos de corte de la translocación Robertsoniana identificada.

Este resultado es compatible con una T13 debido a una translocación Robertsoniana. El cromosoma 13 adicional translocado muestra un punto de ruptura en q13 lo que sugiere que se trata de una trisomía parcial debido a que según lo observado, no se incluye el segmento cromosómico de la citobanda q10 (centrómero) a q13.

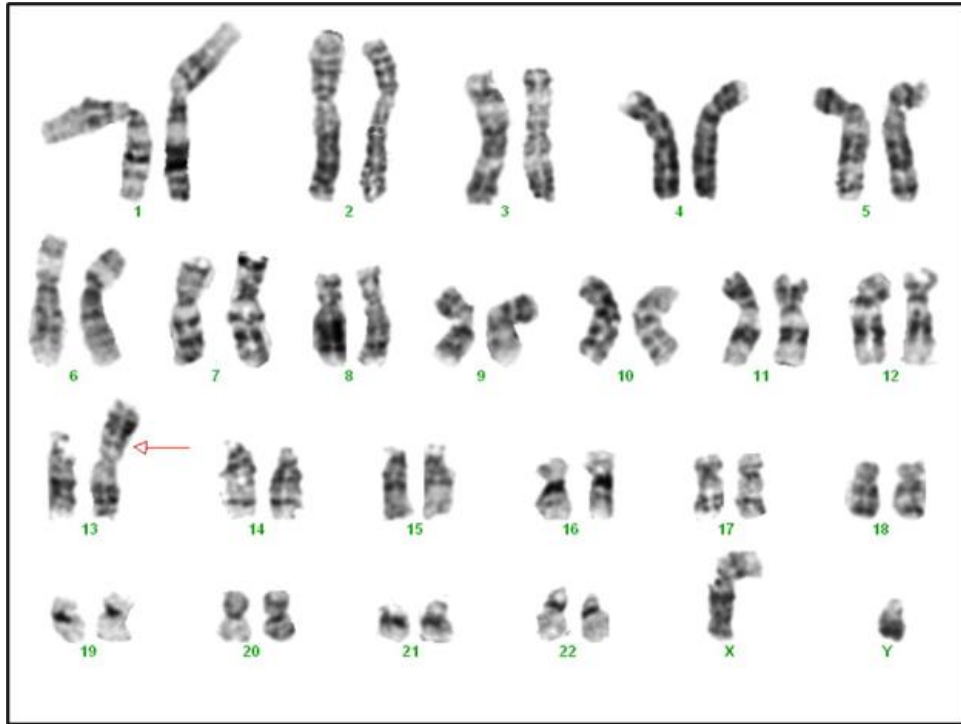


Figura 18. Cariograma del tejido pigmentado. Resolución: 400 – 450 bandas.

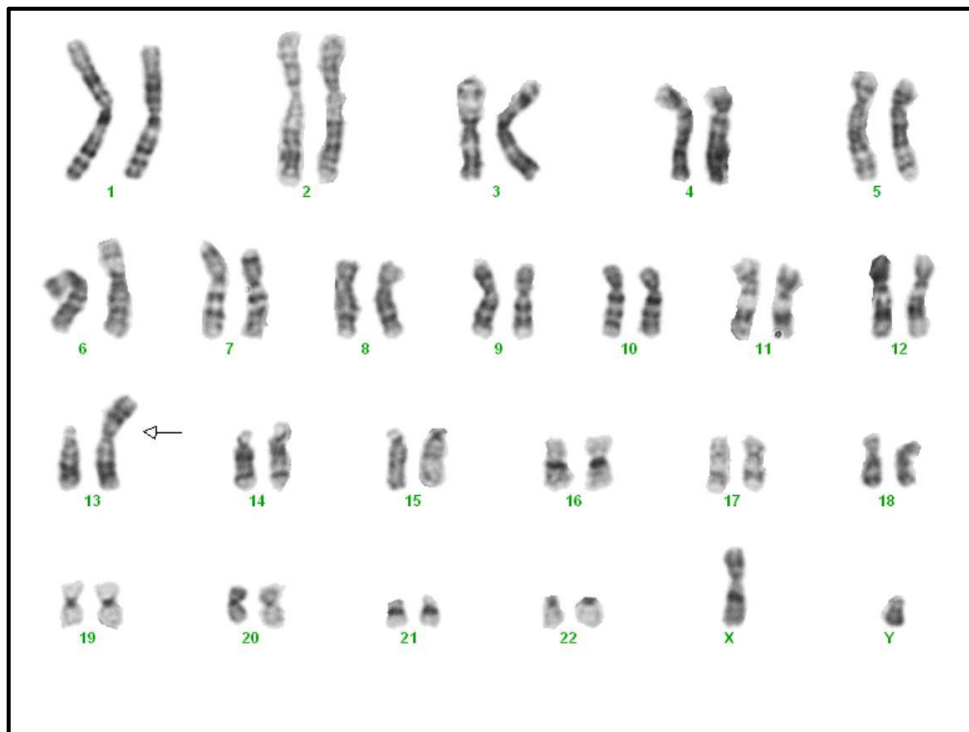


Figura 19. Cariograma del tejido acrómico. Resolución: 400 – 450 bandas.

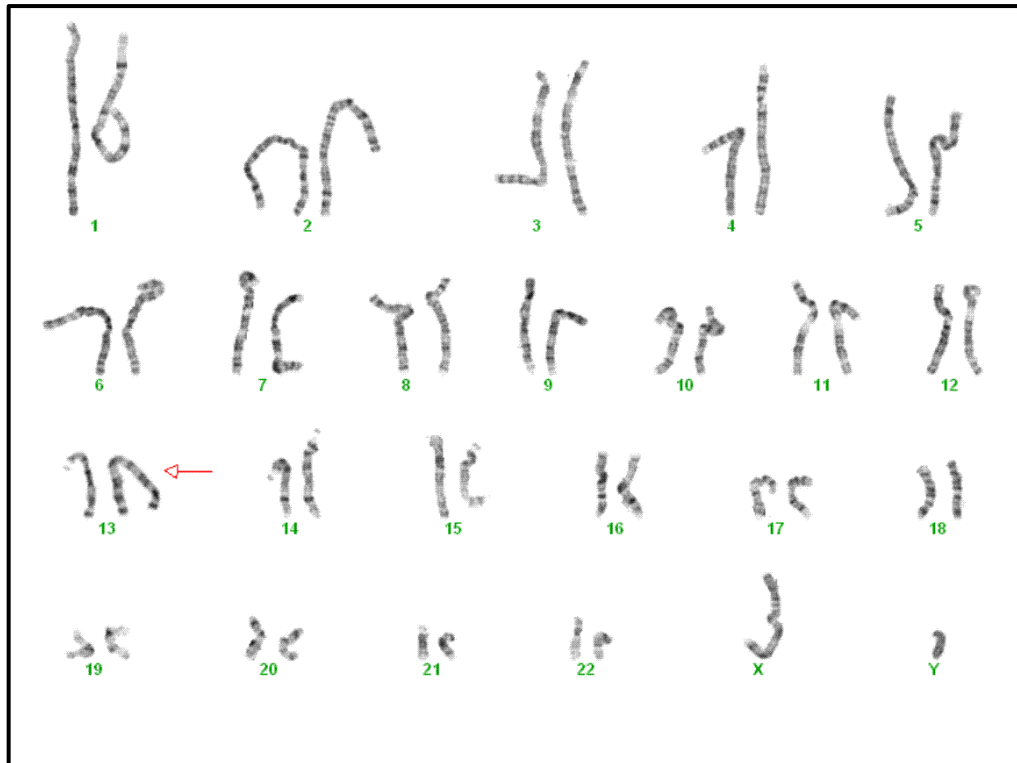


Figura 20. Cariograma de sangre periférica. Resolución: 450 – 500 bandas.

MLPA de aneuploidías

De las 8 sondas para el cromosoma 13 presentes en el Kit de MLPA empleado, se obtuvo amplificación de 7/8 con un Final Ratio $\geq 1,30$, que se puede interpretar como una trisomía completa no mosaico. La sonda que no amplificó se localiza en 13q32. Algunas sondas pueden no amplificar, esto es un resultado esperado de acuerdo a lo descrito en la metodología del proveedor.

OBJETIVO 2. Determinar el origen parental del cromosoma 13 adicional.

Posterior al análisis de fragmentos, se obtuvieron los perfiles genéticos del paciente y ambos padres. Se estudiaron inicialmente 5 diferentes marcadores (D13S153, D13S156, D13S170, D13S175, D13S263), obteniendo los electroferogramas que se observan en la Figura 21. No fue posible obtener el número de repetidos presentes en el fragmento de cada marcador analizado, sin embargo, por la intensidad de la señal y el tiempo en el que se observó, se pudieron determinar los diferentes alelos presentes en cada individuo. En el caso de los marcadores D13S153, D13S156, D13S170 se identificaron 3 alelos en el paciente, de los cuales 2 corresponden a ambos alelos encontrados en la madre y uno en el padre. Para los marcadores D13S175, D13S263 solo se

observaron 2 alelos en el paciente, uno materno y otro paterno, sin embargo, ambos padres solo mostraban una señal para el marcador D13S175 y, la madre solo mostraba una señal para el marcador D13S263, lo cual nos indica que los padres son homocigotos para esos alelos en particular y que el paciente puede tener dos alelos idénticos provenientes de uno de los padres o incluso que uno de los alelos este ausente o deletado.

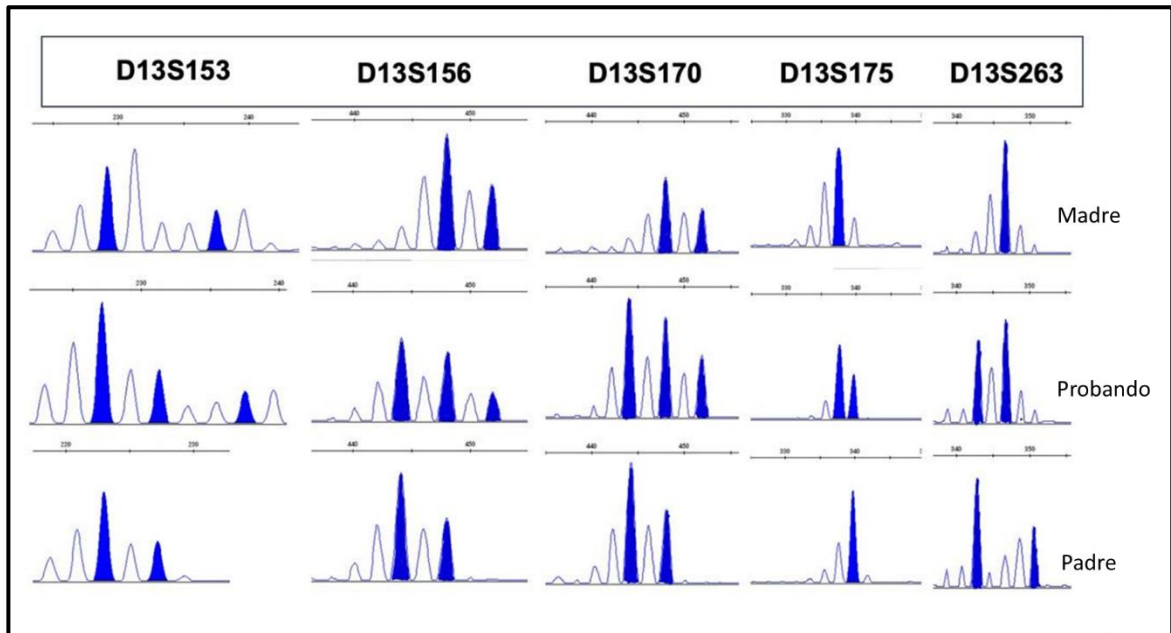


Figura 21. Electroferogramas obtenidos del análisis de fragmentos de los 5 marcadores diseñados.

Adicionalmente se incluyó el análisis del marcador D13S317, contenido en el perfil de paternidad. Obteniendo los electroferogramas observados en la Figura 22. Debido a que este marcador ya ha sido previamente estandarizado, fue posible determinar el número de repetidos presentes en los diferentes alelos del paciente y sus padres. Se identificaron 3 diferentes señales en el paciente, de 8, 9 y 10 repetidos respectivamente, 2 señales en su madre de 9 y 10 repetidos y 2 señales en el padre de 8 y 12 repetidos. Por lo que se pudo establecer que 2/3 alelos son de origen materno.

Estos hallazgos fueron consistentes con lo observado en los otros 5 marcadores previamente evaluados, por lo que se determinó que el cromosoma 13 adicional es de origen materno y la translocación se debe a partir de la fusión de los dos homólogos parentales (maternos) o heterodisómicos.

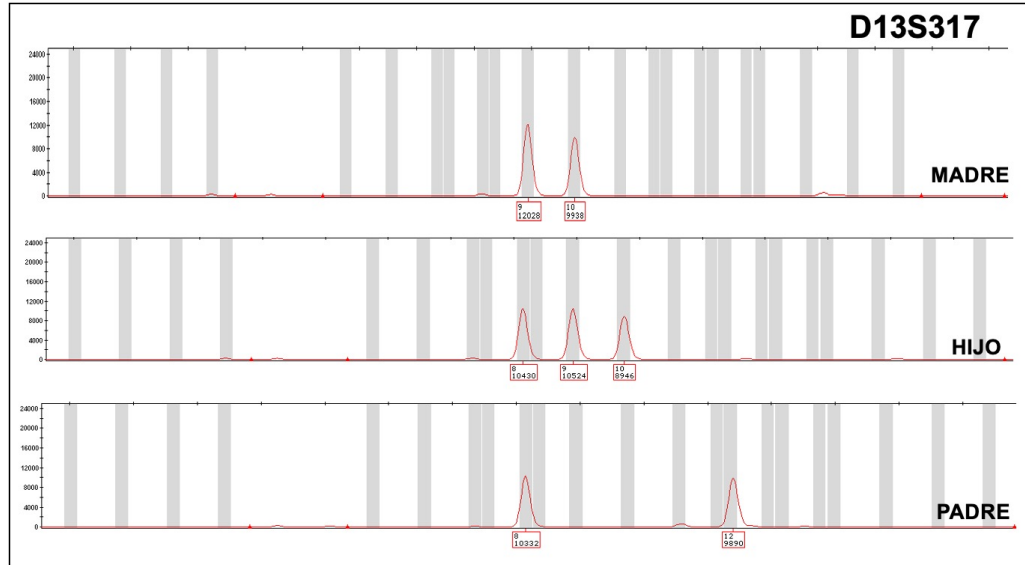


Figura 22. Electroferogramas obtenidos del análisis de fragmentos del marcador del perfil de paternidad.

OBJETIVO 3. Determinar el estado de metilación de los genes improntados.

No fue posible realizar el análisis de uno de los genes propuestos (*ATP5F1EP2*) debido a que se trataba de un pseudogen. Para el resto de los genes no se observó metilación en el caso ni en los controles, a excepción del gen *FLJ40296*, en donde se observó mayor porcentaje de metilación en los controles que en el caso.

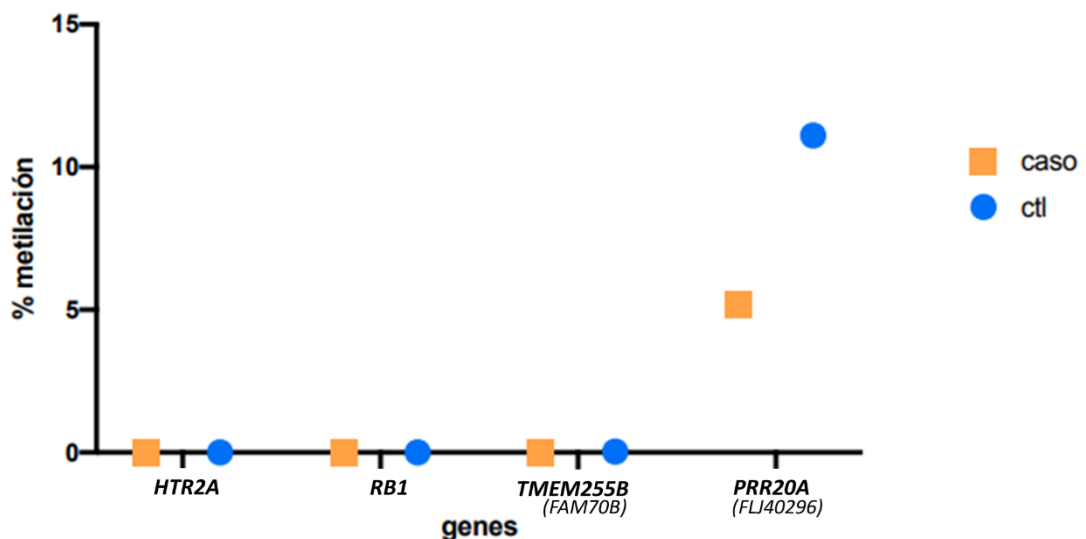


Figura 23. Porcentaje de metilación de los genes improntados en el caso y controles (ctl).

7. DISCUSIÓN

En el presente trabajo fue posible caracterizar citogenética y molecularmente a un paciente con T13 y supervivencia prolongada. Se determinó que no se trataba de un mosaico, al identificar el mismo complemento cromosómico en 2 diferentes líneas celulares (sangre periférica y piel) en 30 metafases analizadas de cada tejido y en sangre periférica en 2 diferentes periodos de su vida, también nos permitió descartar la presencia de mosaico pigmentario al revisar tejido pigmentado y acrómico obtenido de las biopsias de piel, el cual se había sospechado durante la exploración física al observar un patrón de pigmentación cutáneo característico. Además, se evidenciaron puntos de corte de la translocación Robertsoniana diferentes a los previamente reportados: 46,XY,+der(13;13)(q10;q10) en el centrómero, puesto que en el reanálisis del cariograma, no se identificó el segmento cromosómico 13q10-q13 del cromosoma 13 adicional, reportándose un complemento cromosómico 46,XY,+der(13;13)(q10;q13), lo cual representa un punto de ruptura en el brazo largo y evidencia que se trata de una trisomía parcial, que involucra la región propuesta como crítica de la T13 (13q11-q14).

El MLPA de aneuploidías contiene 2 sondas en los loci (13q13.1, 13q13.3), proximales a la región no incluida en la translocación, en las cuales se observó amplificación en triple dosis, lo que indica que dichas regiones están presentes en el rearrreglo cromosómico, sin embargo, al estar adyacentes al punto de ruptura observado en el cariograma y no situadas dentro de la región, solo nos aportan información para delimitar adecuadamente el punto de corte en el brazo largo.

De igual forma, con el análisis de STRs es posible inferir la dosis génica siempre y cuando el paciente presente 3 alelos diferentes para el marcador en específico. Uno de los marcadores proximales al centrómero se localiza en 13q11 (D13S175), se esperaba que al revisar las señales obtenidas para este marcador en el electroferograma nos permitiría establecer si la región 13q10-q13 estaba presente o ausente en el cromosoma adicional, sin embargo, resultó que ambos padres eran homocigotos para ese marcador (1 señal), en el paciente solo se observaron 2 señales (una materna y otra paterna), pero no fue posible determinar a través de la intensidad de las señales obtenidas, si igual a sus padres, tenía 2 alelos idénticos o si uno de los alelos estaba ausente.

Por lo que para confirmar si se trata de una trisomía parcial y delimitar adecuadamente el punto de corte asociado a la translocación, es necesario realizar un estudio de microarreglos de SNPs que evalúa pérdidas o ganancias de material genético.

A partir del análisis de STRs se determinó que el cromosoma 13 adicional es de origen materno, lo cual concuerda con lo más frecuentemente reportado en la literatura (85% de los casos) y nos permite refutar lo propuesto en nuestra hipótesis. Es decir, el fenotipo del paciente, hasta este momento no puede ser atribuido al origen parental.

En el análisis de metilación de los genes improntados, se esperaba encontrar una metilación diferencial entre el caso y los controles, puesto que la impronta génica implica una expresión preferencial materna sobre aquellos genes no expresados (paternos) que regularmente están metilados. Si se trataba de un cromosoma 13 adicional de origen paterno, lo esperado era identificar un mayor porcentaje de metilación, pero al tratarse de un cromosoma de origen materno, los genes no se encontrarían metilados y se identificaría un porcentaje de metilación menor. Sin embargo, es necesario aclarar que no todos los genes aparentemente improntados del cromosoma 13 tienen un estatus de impronta confirmado (a excepción de *ATP5F1EP2* y *RB1*), algunos de ellos se encuentran en situación predictiva o con datos contradictorios como es el caso de *HTR2A*, *FLJ40296*, *FAM70B*, por lo que quizá ese fue el motivo por el cual no se identificó metilación en *HTR2A* y *FAM70B* y que por lo tanto estos genes tengan expresión biparental, una impronta genómica polimórfica (dependiente del tejido estudiado) o que las regiones con impronta no se encuentran en la región promotora 3'UTR. Aunque si se observó metilación en *FLJ40296*, con mayor porcentaje en los controles que en el caso, quizá esto se puede explicar por la proporción de alelos maternos, es decir 2:1 en el caso, hay menor cantidad de alelos metilados (1) y en los controles 1:1, la misma proporción de alelos metilados y no metilado.

Es importante mencionar que si bien, no se pudo analizar *ATP5F1EP2* por tratarse de un pseudogen. En el caso de *RB1*, el motivo por el cual no se identificó metilación es por que la región de *RB1* que se ha reportado con impronta es únicamente una isla CpG metilada diferencialmente en el intrón 2 y los cebadores que se habían diseñado para este análisis iban dirigidos a la región promotora 3'UTR, por lo que será necesario diseñar nuevos cebadores para esa región en específico.

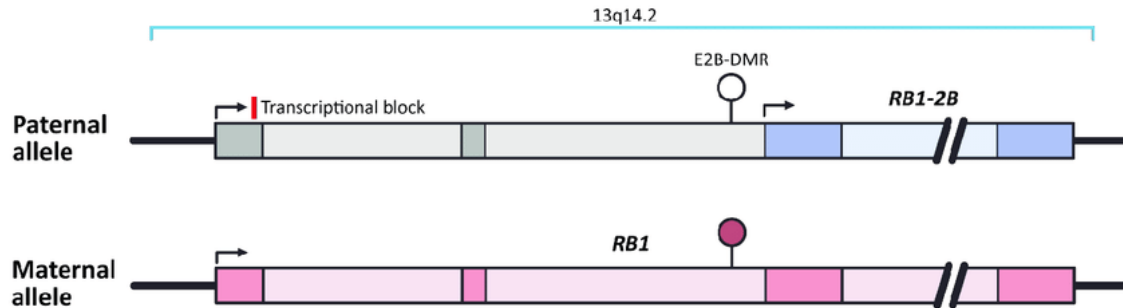


Figura 24. Representación esquemática de la impronta de *RB1* en el intrón

2. El E2B-DMR no metilado en el alelo paterno activa la expresión de *RB1-2B*, que actúa como un obstáculo para la transcripción regular de *RB1* en el mismo alelo, mientras que la metilación de E2B-DMR en el alelo materno permite la expresión normal de *RB1*. El círculo rosa representa E2B-DMR metilado y el círculo blanco representa DMR no metilado. Los cuadros oscuros y claros indican exones e intrones del gen *RB1*, respectivamente. (23)

Hasta este momento no tenemos evidencia plausible que sustente que dichos genes están improntados, y que esto pueda contribuir al fenotipo de la T13, sin embargo, es necesario realizar más estudios para comprobarlo.

Si bien la supervivencia prolongada en este paciente puede ser explicada además de la ausencia de cardiopatía compleja y defectos congénitos severos en sistema nervioso central, también se ha descrito que los casos de T13 por translocación Robertsoniana pueden presentar una mayor sobrevida, aunque no en todos los casos. En este paciente el fenotipo incluso puede atribuirse a que uno de los puntos de corte de la translocación se localiza en el brazo largo, en q13, que sugiere una trisomía parcial que excluye algunos de los genes presentes en la región crítica propuesta para el síndrome. El microarreglo de SNPs nos permitiría identificar con certeza si se trata de una trisomía parcial.

Este es un caso interesante del cual aún no se ha podido explicar en su totalidad el motivo de la sobrevida prolongada, por lo que es necesario continuar investigando los mecanismos de supervivencia en estos pacientes.

8. CONCLUSIÓN

- Se determinó que el paciente con trisomía 13 y supervivencia prolongada presenta el mismo genotipo (complemento cromosómico) en al menos 2 líneas celulares (sangre periférica y piel), que el cromosoma adicional es de origen materno y que 2 de los genes con supuesta impronta materna no presentaban un porcentaje de metilación diferente al observado en los controles lo que nos indica que probablemente no exista una expresión preferencial materna de estos genes y que por lo tanto el origen parental del cromosoma adicional puede que no modifique el fenotipo.
- La trisomía parcial puede ser la explicación del fenotipo observado en el paciente.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Williams, G. M., & Brady, R. (2021). Patau Syndrome. [Updated 2021 July 18]. In: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538347>
2. Peroos S, Forsythe E, Pugh JH, et al. (2012). Longevity and Patau syndrome: what determines survival? *BMJ Case Rep.* Dec 6;2012:bcr0620114381. doi: 10.1136/bcr-06-2011-4381.
3. Morán-Barroso VF, Cervantes A, Rivera-Vega MDR, et al. (2021). Mosaic proximal trisomy 13q and regular trisomy 13 in a female patient with long survival: Involvement of an incomplete trisomic rescue and a chromothripsis event. *Mol Genet Genomic Med.* Sep;9(9):e1762. doi: 10.1002/mgg3.1762.
4. Peter D. Turnpenny, Sian Ellard, Ruth Cleaver. Cromosomas y división celular. Emery Elementos de genética médica y genómica. 16º edición. Elsevier.
5. Bianco K, et al. Placental transcriptomes in the common aneuploidies reveal critical regions on the trisomic chromosomes and genome-wide effects. *Prenat Diagn.* 2016 Sep;36(9):812-22. doi: 10.1002/pd.4862.
6. Wu J, Springett A, Morris JK. (2013). Survival of trisomy 18 (Edwards syndrome) and trisomy 13 (Patau Syndrome) in England and Wales: 2004-2011. *Am J Med Genet A.* Oct;161A(10):2512-8. doi: 10.1002/ajmg.a.36127.
7. Meyer, R. E., Liu, G., Gilboa, S. M., et al. (2016). National Birth Defects Prevention Network. Survival of children with trisomy 13 and trisomy 18: A multi-state population-based study. *American journal of medical genetics.* Part A, 170A(4), 825–837. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37495>
8. Iliopoulos D, Sekerli E, Vassiliou G, et al. (2006). Patau syndrome with a long survival (146 months): a clinical report and review of literature. *Am J Med Genet A.* Jan 1;140(1):92-3. doi: 10.1002/ajmg.a.31056. PMID: 16333832.
9. Gardner, R. J. M., & Sutherland, G. R. (2018). Robertsonian Translocations. Chromosome abnormalities and genetic counseling. New York: Oxford University Press.
10. Campbell, I. M., Shaw, C. A., Stankiewicz, P., & Lupski, J. R. (2015). Somatic mosaicism: implications for disease and transmission genetics. *Trends in genetics.* TIG, 31(7), 382–392. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.03.013>
11. Griffith CB, Vance GH, Weaver DD. (2009). Phenotypic variability in trisomy 13 mosaicism: two new patients and literature review. *Am J Med*

- Genet A.* Jun;149A(6):1346-58. doi: 10.1002/ajmg.a.32883. PMID: 19449431.
12. Fogu G, Maserati E, Cambosu F, et al. (2008). Patau syndrome with long survival in a case of unusual mosaic trisomy 13. *Eur J Med Genet.* Jul-Aug;51(4):303-14. doi: 10.1016/j.ejmg.2008.03.004.
 13. Yamazawa K, Ogata T, Ferguson-Smith AC. (2010). Uniparental disomy and human disease: an overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* Aug 15;154C(3):329-34. doi: 10.1002/ajmg.c.30270.
 14. Soellner L, Begemann M, Mackay DJ, et al. (2017). Recent Advances in Imprinting Disorders. *Clin Genet.* Jan;91(1):3-13. doi: 10.1111/cge.12827.
 15. Farhadova, S., Gomez-Velazquez, M., & Feil, R. (2019). Stability and Lability of Parental Methylation Imprints in Development and Disease. *Genes*, 10(12), 999. <https://doi.org/10.3390/genes10120999>
 16. Jin, Z., & Liu, Y. (2018). DNA methylation in human diseases. *Genes & diseases*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.01.002>
 17. Bajrami, E., & Spiroski, M. (2016). Genomic Imprinting. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 4(1), 181–184. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.028>
 18. Ishida, M., & Moore, G. E. (2013). The role of imprinted genes in humans. *Molecular aspects of medicine*, 34(4), 826–840. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.06.009>
 19. U.S. National Library of Medicine. (n.d.). *ATP5F1EP2* ATP synthase F1 subunit epsilon pseudogene 2 [homo sapiens (human)] - gene - NCBI. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/432369>
 20. U.S. National Library of Medicine. (n.d.-b). *HTR2A* 5-hydroxytryptamine receptor 2A [homo sapiens (human)] - gene - NCBI. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3356>
 21. U.S. National Library of Medicine. (n.d.-c). *RB1* Rb transcriptional corepressor 1 [homo sapiens (human)] - gene - NCBI. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5925>
 22. U.S. National Library of Medicine. (n.d.-c). *PRR20A* proline rich 20A [homo sapiens (human)] - gene - NCBI. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=122183>
 23. U.S. National Library of Medicine. (n.d.-e). *TMEM255B* transmembrane protein 255B [homo sapiens (human)] - gene - NCBI. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=348013>

24. Baulina, N., Kiselev, I., & Favorova, O. (2021). Imprinted Genes and Multiple Sclerosis: What Do We Know?. *International journal of molecular sciences*, 22(3), 1346. <https://doi.org/10.3390/ijms22031346>

Capítulo X.

10. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Mi nombre es Joel Arenas Estala. Nací en Torreón, Coahuila, el 25 de junio de 1996. Soy el tercer hijo de mis padres, tengo dos hermanos mayores.

Mis estudios básicos los realicé en Torreón, Coahuila. Cursando la primaria en la “Escuela Antonio de Juambelz y Bracho”, la secundaria en la “Escuela Secundaria Técnica #92” y la preparatoria en la “Escuela de Bachilleres Venustiano Carranza”.

Posteriormente cursé mi licenciatura en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez del Estado de Durango, en Gómez Palacio, Durango, donde obtuve mi título como “Médico Cirujano y Partero”. Realizando mi internado médico de pregrado en el Hospital General de Zona No. 46 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Gómez Palacio, Durango y mi servicio social en investigación en el Departamento de Biomedicina molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV, IPN) en Ciudad de México, donde fue mi primer acercamiento al estudio de las ciencias básicas, la inmunología y biología molecular, y ahí descubrí los errores innatos de la inmunidad que me abrieron el mundo hacia la genética.

Actualmente estoy por finalizar la residencia de Genética Médica en el Departamento de Genética en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.