



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

RECOPIACIÓN DOCUMENTAL SOBRE EL CROMOSOMA "X" Y  
EL DIAGNÓSTICO DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES  
RELACIONADAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ANA LAURA MUÑOZ VELÁZQUEZ

ASESORA:

DRA. SANDRA DÍAZ BARRIGA ARCEO

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2012.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Art. 19 del Reglamento General de Exámenes, la Dirección de la Facultad, autoriza al alumno: Ana Laura Muñoz Velázquez  
 Con número de cuenta: 30205042-6 a presentar la Tesis :

Recopilación documental sobre el cromosoma X y el diagnóstico de las principales enfermedades relacionadas.

Bajo la asesoría de la: Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo  
 Para obtener el título de: Química Farmacéutica Bióloga

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

|                | NOMBRE                               | FECHA Y FIRMA                      |
|----------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| PRESIDENTE     | M. en D. Ma. Esther Revuelta Miranda | <i>Esther Revuelta</i> 14/Feb/2012 |
| VOCAL          | Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo       | <i>Sandra Díaz</i> 15/Feb/2012     |
| SECRETARIO     | QFB. Rosalba Bonilla Sánchez         | <i>Rosalba Bonilla</i> 23/Feb/2012 |
| 1er SUPLENTE   | QFB. Sara Hernández Matilde          | <i>Sara Hernández</i> 23/Feb/2012  |
| 2do SUPLENTE   | M. en C. Maritere Domínguez Rojas    | <i>Maritere Domínguez</i> 16/02/12 |
| *Lo sustituye  |                                      |                                    |
| **Lo sustituye |                                      |                                    |

Atentamente notificamos su participación para la revisión y evaluación, solicitando firme la presente al recibir la copia del trabajo y en un plazo no mayor a 20 días hábiles emita sus observaciones y/o su VOTO APROBATORIO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
 ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de febrero de 2012.

*L.A. Araceli Herrera Hernández*  
 L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
 JEFA DEL DEPARTAMENTO  
 EXÁMENES PROFESIONALES

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
 HHA/pm

# AGRADECIMIENTOS

A:

*La Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por permitirme estar en sus aulas y formarme como profesionalista.*

A:

*Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo por su ejemplo, su apoyo y paciencia para la realización de este proyecto.*

A:

*Mis padres por todo su apoyo y cariño incondicional, gracias por ser mi guía.*

A:

*Mis hermanos por su ejemplo de superación y amor a la profesión.*

A:

*Mis amigos por todos los momentos en que estuvieron conmigo.*

*No se nos ha escapado a nuestra atención que cuánto más exploramos el genoma humano, más nos queda por explorar. “No cesaremos de explorar. Pues al final de toda exploración llegaremos donde empezamos, y conoceremos cuál es nuestro lugar por primera vez”.*

T.S. Elliot

*No podemos comprender ni imaginar la belleza ilimitada que nos revelará el futuro gracias a la  
Ciencia.*

Isaac Asimov

## ÍNDICE

|   |     |
|---|-----|
| Índice de figuras .....   | iii |
| Índice de tablas .....  | v   |
| ABREVIATURAS .....  | vii |
| OBJETIVO .....  | 1   |
| 1. CARACTERÍSTICAS DEL CROMOSOMA SEXUAL X .....   | 2   |
| 1.1. Generalidades .....  | 2   |
| 1.1. Morfología de los cromosomas .....   | 3   |
| 1.2. Análisis cromosómico y técnicas de bandeo. ....  | 6   |
| 1.2.1. Método de obtención de preparaciones cromosómicas .....                                      | 7   |
| 1.2.2. Técnicas de bandeo. ....   | 8   |
| 1.3. Cromosoma X .....  | 12  |
| 1.3.1. Morfología del cromosoma X .....   | 12  |
| 1.3.2. Cantidad de DNA y número de genes del cromosoma X .....                                      | 14  |
| 2. DESARROLLO SEXUAL NORMAL EN EL SER HUMANO .....  | 17  |
| 2.1. El papel de los cromosomas sexuales X y Y .....  | 17  |
| 2.1.1. Determinación cromosómica .....  | 17  |
| 2.1.2. Diferenciación gonadal .....   | 18  |
| 2.1.3. Diferenciación fenotípica .....  | 19  |
| 2.2. Otros genes implicados en las alteraciones del desarrollo sexual .....                         | 23  |
| 2.2.1. Diferenciación masculina .....   | 23  |
| 2.2.2. Diferenciación femenina. ....  | 25  |
| 2.3. Algunos de los genes que participan en la diferenciación gonadal o conductos müllerianos. .... | 27  |
| 3. INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA X EN LAS HEMBRAS DE LOS MAMÍFEROS .....                               | 30  |
| 3.1. Corpúsculo de Barr .....   | 30  |
| 3.2. Postulados de Mary Lyon .....  | 33  |
| 3.3. Mecanismo de inactivación del cromosoma X: Inactivación al azar .....                          | 35  |
| 3.3.1. Inactivación del cromosoma X. ....   | 36  |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 3.3.2. | Otros elementos que intervienen en la inactivación. ....   | 37 |
| 3.4.   | Inactivación del cromosoma X en tejidos extraembrionarios.....   | 38 |
| 3.5.   | Genes que escapan de la inactivación. ....   | 39 |
| 4.     | CROMOSOMOPATÍAS DEL CROMOSOMA X .....  | 41 |
| 4.1.   | Síndrome de Turner y variantes. ....   | 41 |
| 4.1.1. | Diagnóstico .....  | 43 |
| 4.1.2. | Tratamiento .....  | 44 |
| 4.2.   | Trisomía y polisomía del cromosoma X. ....   | 44 |
| 4.2.1. | Trisomía del X.....  | 44 |
| 4.2.2. | Polisomía X .....  | 47 |
| 5.     | GENES LIGADOS AL CROMOSOMA X .....   | 49 |
| 5.1.   | Mapa Génico del cromosoma X.....   | 49 |
| 5.2.   | Enfermedades ligadas al cromosoma X .....  | 52 |
| 5.2.1. | Herencia Recesiva .....  | 52 |
| 5.2.2. | Herencia dominante.....  | 75 |
| 5.2.3. | Enfermedades raras ligadas al cromosoma X que aportan conocimiento a<br>mecanismos moleculares del funcionamiento génico. .... | 81 |
| 6.     | DETECCIÓN DE PORTADORAS .....  | 85 |
| 6.1.   | Portadoras .....   | 85 |
| 6.2.   | Diagnóstico molecular .....  | 87 |
| 6.2.1. | Southern Blot.....   | 88 |
| 6.2.2. | Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR). ....   | 90 |
| 6.2.3. | Diagnóstico Genético de Preimplantación (DGP). ....  | 91 |
| 6.3.   | Tratamiento de enfermedades ligadas al cromosoma X.....  | 92 |
| 7.     | CONCLUSIONES .....   | 93 |
| 8.     | REFERENCIAS .....  | 94 |

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Cariotipo humano (XY), por técnica de FISH-SKY. ....   | 11 |
| Figura 2: (a) Cromosoma X en metafase por bandeo G; (b) Ideograma de bandas G. ....  | 12 |
| Figura 3. Regiones del cromosoma X. ....   | 13 |
| Figura 4. Localización de algunos de los genes del cromosoma X y su repercusión. ....  | 16 |
| Figura 6. Diferenciación gonadal masculina. ....   | 20 |
| Figura 7. Diferenciación gonadal femenina. ....  | 21 |
| Figura 8. Diferenciación de los genitales externos. ....   | 22 |
| Figura 9. Otros genes que intervienen en la diferenciación sexual, se observa cómo se lleva a cabo la señalización para determinada diferenciación. ....                       | 29 |
| Figura 11. a) Herencia recesiva por mujeres portadoras; b) Herencia recesiva por hombres afectados. ....   | 53 |
| Figura 13. Esquema del complejo de proteínas asociadas a distrofina (DPC) en el músculo esquelético. ....  | 58 |
| Figura 14. Vía metabólica de las pentosas. ....  | 61 |
| Figura 15. Vía simplificada del metabolismo de las purinas. ....   | 71 |
| Figura 16. a) Herencia dominante por varones afectados; b) Herencia dominante por mujeres afectadas. ....  | 75 |
| Figura 17. Progresión de la enfermedad de Rett en los fenotipos clínicos. ....   | 80 |
| Figura 18: Análisis del gen FVIII en la familia CR-HA9a. (a) Resultados del análisis por Southern Blot. Los miembros II-1 y II-2 presentan un genotipo normal, el varón (II-3) |    |

presenta la inversión del intrón 22; la madre (I-2) presenta los fragmentos normales y la inversión 22. (b) Árbol genealógico de la familia. ....89

Figura 19. Análisis del PCR a través de electroforesis en gel de agarosa. (a) Controles: Normal (segundo carril), Portadora (tercer carril) y Positivo para inversión del intrón 22 (cuarto carril). (b) Resultados de dos familias con miembros afectados; hombres afectados (primer y tercer carril), mujer no portadora (segundo carril), mujer portadora (cuarto carril). ....91

## Índice de tablas

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Algunas de las abreviaturas utilizadas por ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, 1995..... | 6  |
| Tabla 2. Ejemplos de genes implicados en enfermedades ligadas al cromosoma X.....   | 15 |
| Tabla 3. Relación entre el número de corpúsculos de cromatina y el número de cromosomas X.....                                  | 31 |
| Tabla 4. Crecimiento y desarrollo en pacientes con trisomía X.....  | 46 |
| Tabla 5. Clasificación de las Mucopolisacaridosis.....  | 68 |

**ABREVIATURAS**

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**ARN:** Ácido riblonucleico

**CGH:** Hibridación genómica comparada

**CI:** Coeficiente intelectual

**CpG:** Islas dinucleótido CG

**d.p.c.:** Días post-coital

**DMD:** Distrofia muscular de Duchenn

**FISH:** Hibridación *in situ* fluorescente

**G6PD:** Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa

**GAG:** Glucosaminoglicanos

**HA:** Hemofilia A

**I2S:** Iduronato 2-sulfatasa

**IgA:** Inmunoglobulina A

**IgE:** Inmunoglobulina E

**IgG:** Inmunoglobulina G

**IgM:** Inmunoglobulina M

**LINEs:** Long Interspeed repeated sequences

**Mb:** Megabases

**MPS:** **Mucopolisacaradiosis**

**NADP:** Nicotinamida Adenina Dinucleótido

**PAR1:** Región pseudoautosómica 1

**pb:** Pares de bases

**SHOX:** Short stature Homeobox

**SINEs:** Secuencias cortas y dispersas

**ST:** Síndrome de Turner

**XIC:** Centro de inactivación

## OBJETIVO

Recopilar e integrar información actualizada sobre el cromosoma sexual X, utilizando los medios de información científica más comunes, brindando un panorama amplio sobre las funciones del cromosoma sexual X y su papel en la diferenciación sexual embrionaria, así como las patologías y su forma de segregación.

## 1. CARACTERÍSTICAS DEL CROMOSOMA SEXUAL X

### 1.1. Generalidades

La base de la vida es el ADN (ácido desoxirribonucleico), el cual fue aislado por Friedrich Miescher, en el año de 1869. En 1953, James D. Watson y Francis Crick demuestran que la estructura del ADN es una doble hélice. En 1956 Joen Hin Tjio y Albert Levan, demostraron que el número exacto de cromosomas en las células somáticas en la especie humana era de 46.

En organismos eucariontes a parte del ADN, existen las no histonas y las histonas, las cuales interactúan con el material genético. Las proteínas no histonas son un grupo heterogéneo, entre las funciones que desempeñan se encuentran: el control de expresión de genes, la replicación y la organización del cromosoma. Las histonas son proteínas básicas y que contienen altas cantidades de los aminoácidos lisina y arginina; su función más esencial es la estructural. Se clasifican en 5 tipos de histonas: H1 rica en lisina, H2A y H2B moderadamente ricas en lisina, H3 y H4 ricas en arginina. Estas forman un octámero (por dos copias de H2A, H2B, H3 y H4), alrededor de esta estructura se enrollan en 1.65 vueltas, 147 pares de bases de ADN y originando el nucleosoma; mientras que la histona H1 se asocia al ADN de unión, compactando más a los nucleosomas, y este el primer nivel de empaquetamiento. El segundo nivel de empaquetamiento se conoce como solenoide, esta estructura está formada por nucleosomas estrechamente enrollados. Después se produce otro empaquetamiento, y la estructura se torna en forma de lazo, el cual condensa más a la fibra de cromatina y a su vez formando la estructura del cromosoma (Klug, 2006).

Constituyéndose como el vehículo de transporte para los genes, es decir, la forma en que la información genética se transmite, de célula a célula y de generación en generación (Silva y Fonseca, 2008).

## 1.1. Morfología de los cromosomas

El cromosoma se conforma por las siguientes partes:

- a. Constricción primaria (centrómero): Divide a las cromátides en dos segmentos, cada uno recibe el nombre de brazo cromosómico. Además, es el sitio de ensamblaje para los microtúbulos del huso.
- b. Telómeros: Son los extremos del cromosoma contienen secuencia de ADN altamente repetitivas y ricas en guanina. Mantienen estable a la estructura cromosómica, evitan mecanismos degenerativos, durante la meiosis facilitan el reconocimiento de cromosomas homólogos.
- c. Constricción secundaria: Contiene ADN no codificante, conocido como satélites. Además, tiene a la región organizadora del nucléolo (NOR), esta zona contiene la información para la síntesis del ARN ribosómico. Esta región se observa en los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22 (Welsch, 2009).

De acuerdo a la posición del centrómero los cromosomas se clasifican en 4 tipos:

- a. Metacéntricos: el centrómero se localiza aproximadamente a la mitad, siendo ambos brazos casi de la misma longitud.
- b. Submetacéntricos: el centrómero se sitúa excéntricamente, dividiéndolo en brazo corto (p) y brazo largo (q).
- c. Acrocéntrico: el centrómero separa al brazo largo, dejando un brazo extremadamente corto, formándose una constricción secundaria (NOR), terminando con la creación de los satélites.
- d. Telocéntrico: el centrómero se localiza en el extremo de los brazos, en la parte del telómero. Sin embargo, este no se observa en la especie humana.

El cariotipo es la organización de los cromosomas de acuerdo a su tamaño y a la posición del centrómero. Esto se obtiene cuando se observan los cromosomas en etapa de metafase (Pierce, 2006).

La clasificación básica de los cromosomas humanos, derivada de las conferencias en Denver, Londres y Chicago, entre 1960 y 1966, estableció la numeración de los autosomas en pares del 1 al 22 de acuerdo al tamaño decreciente y posición del centrómero, formando 7 grupos en orden alfabético de la letra A-G. A continuación se describen las características generales de cada grupo:

- Grupo A: Pares 1, 2, 3: Este grupo se caracteriza porque, son los más grandes en el cariotipo humano. El par 1, es el par metacéntrico más grande del grupo, presenta una constricción secundaria adyacente al centrómero, lo cual origina diferencia en la longitud del brazo (polimorfismo). En cuanto al par 2, es ligeramente submetacéntrico siendo, un poco más corto con respecto al cromosoma 1 y es relativamente fácil de distinguirlo, debido a la posición de su centrómero. Por último, el par 3, es un cromosoma metacéntrico, y en comparación con el par 1 es más pequeño y de distinguirlo.
- Grupo B: Incluye a los cromosomas 4 y 5, ambos pares son submetacéntricos. El par 4 es de 5-8% más largo que el par 5, y debido a que esta diferencia entra en lo normal, no se considera como una referencia para su diferenciación. Por lo tanto, en tinciones de rutina, son identificados sólo como el grupo B.
- Grupo C: 6 al 12: Los pares 6, 7, 8 y 11 se observan de forma metacéntrica, mientras que los demás pares 9, 10 y 12 son relativamente submetacéntricos. En cuanto a la longitud es variada en este grupo; mientras que, el cromosoma X se sitúa entre el 8 y el 9. El par 9 presenta una constricción secundaria cerca del centrómero, generando un polimorfismo. En cuanto al par 12, tiene sus brazos cortos más cortos, haciéndolo el par más pequeño con respecto a los demás del grupo.
- Grupo D: Pares 13-15: Son los cromosomas acrocéntricos más grandes del cariotipo humano, presentan brazos extremadamente cortos. Los tres pares

poseen satélites, tienen una forma de herradura y sus brazos cortos son extremadamente pequeños. Estos pares se diferencian por su tamaño, lo cual permite su acomodo en forma descendente de longitud pero, para un correcto arreglo sólo se logra con métodos de bandeo.

- Grupo E: Pares 16-18: Estos pares se clasifican como submetacéntricos pequeños. El par 16 tiende a ser metacéntrico, al igual que los pares 1 y 9, presenta una constricción secundaria, lo cual lo hace ver “más grande” en comparación con los otros pares de su grupo. El par 17, es de tamaño intermedio entre el 16 y 18, lo cual facilita la diferenciación dentro del grupo. El par 18, es submetacéntrico, además sus brazos cortos son tan pequeños, que puede dar la apariencia de ser un cromosoma acrocéntrico.
- Grupo F: Pares 19 y 20: Son los más metacéntricos del cariotipo, entre ellos sólo se diferencian por técnicas de bandeo, y como grupo se reconocen fácilmente.
- Grupo G: Pares 21 y 22: Son cromosomas acrocéntricos pequeños, presentan satélites, los cuales se observan como palillos de tambor. Se diferencian por técnicas de bandeo. El cromosoma sexual Y al ser acrocéntrico se incluye en este grupo, sus brazos largos permanecen paralelos y se diferencia de los pares 21 y 22 debido a la ausencia de satélites (Díaz y Bonilla, 2001).

Debido al continuo aporte de datos provenientes de las investigaciones, en 1971 se creó el Sistema Internacional para la Nomenclatura en la Citogenética Humana (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN). En este documento se unificó las reglas de la clasificación cromosómica, generadas en las conferencias de Chicago y Denver. Asimismo, se establecieron símbolos para la designación de los diferentes términos cromosómicos, así como, las anomalías que surgían con los cariotipos (Rodríguez, 2003).

Tabla 1. Algunas de las abreviaturas utilizadas por ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, 1995 (Hartl, 2009; Rodríguez, 2003).

| Símbolo     | Significado              | Símbolo    | Significado  |
|-------------|--------------------------|------------|--|
| <b>p</b>    | Brazo corto              | <b>()</b>  | Rodea al cromosoma con anomalía estructural  |
| <b>q</b>    | Brazo largo              | <b>+</b>   | Ganancia   |
| <b>pter</b> | Terminal del brazo corto | <b>prx</b> | Proximal   |
| <b>qter</b> | Terminal del brazo largo | <b>:</b>   | Rotura en  |
| <b>cen</b>  | Centrómero               | <b>.</b>   | Referido a subbandas   |
| <b>r</b>    | Anillo                   | <b>-</b>   | Pérdida  |
| <b>ter</b>  | Terminal                 | <b>;</b>   | Separa cromosomas alterados, puntos de ruptura en reordenamientos estructurales que impliquen varios cromosomas. |
| <b>del</b>  | Delección                | <b>,</b>   | Separa número de cromosomas, cromosomas sexuales y anomalías cromosómicas  |
| <b>t</b>    | Traslocación             | <b>/</b>   | Separa los cariotipos de los clones en los mosaicos  |
| <b>ins</b>  | Inserción                | <b>inv</b> | Inversión  |
| <b>dup</b>  | Duplicación              | <b>i</b>   | Isocromosoma   |

## 1.2. Análisis cromosómico y técnicas de bandeo.

Como ya se ha explicado, las células humanas somáticas poseen 22 pares de cromosomas y un par de gonosomas (XX o XY). Mientras que, en las células germinales existen 23 cromosomas (en su forma haploide), así que cuando existe la unión de las células germinales, obtenemos la dotación cromosómica normal. Sin embargo, en algunos casos suelen ocurrir alteraciones durante la división celular; estas son llamadas anomalías cromosómicas. Estas son responsables de entre 50-60% de los abortos espontáneos, así como, la principal causa de retraso mental. Las anomalías se dividen en numéricas, estructurales o mosaicos, las cuales afectan tanto a los autosomas como a los cromosomas sexuales.

- a. Anomalías numéricas: Afectan el número de los cromosomas, siendo las aneuploidías. Puesto que, presentan una ganancia (trisomía) o una pérdida (monosomía) de algún cromosoma, por ejemplo: El síndrome de Down, se genera por una trisomía en el cromosoma 21.
- b. Anomalías estructurales: Estas afectan a la morfología de los cromosomas, por ejemplo: traslocaciones, inversiones, cromosomas en forma de anillo, isocromosomas y cromosomas dicéntricos.
- c. Mosaicos: Esta anomalía se caracteriza por generar diferente carga cromosómica en las células. Es decir, puede presentar el número normal de cromosomas y una aneuploidía (trisomía o monosomía), por ejemplo: El síndrome de Turner, puede generarse por presentar un cariotipo 45, X/46, XX.

Debido a la posibilidad de que se genere una anomalía cromosómica, se realiza un estudio llamado análisis cromosómico, el cual tiene como finalidad ayudar en el diagnóstico (Galán, 2002; Aguinaga, 2005).

#### 1.2.1. Método de obtención de preparaciones cromosómicas.

La realización de un análisis cromosómico requiere de células en metafase, las cuales se pueden obtener de tejidos que contengan células que se dividan (sangre periférica, piel, médula ósea, líquido amniótico, vellosidades coriónicas y algunas células de tumores) cultivándolas bajo condiciones *in vitro*.

El análisis se inicia con la toma de muestra de tejido sanguíneo (1-3 ml), utilizando como anticoagulante a la heparina; el uso de este anticoagulante es porque mantiene a las células en condiciones semejantes al organismo. Se siembran alrededor de 10 gotas en un medio enriquecido, también se agrega fitohemaglutinina (PHA), la cual aglutina a los eritrocitos y leucocitos, asimismo estimula la división mitótica; se incuban a 37° C por 72 horas. Casi al finalizar el período de incubación (2 horas antes aproximadamente) se agrega 1 gota de colchicina al 0.04%, la cual actúa como

inhibidor del huso mitótico, deteniendo las células en metafase. Sin embargo, la exposición excesiva ya sea por tiempo o por cantidad, puede provocar acortamiento exagerado de los cromosomas o fragmentar las cromátides o rupturas de centrómero, lo cual puede contribuir a que los cromosomas no se entrecrucen. Completado el tiempo de incubación, se realiza una centrifugación y se retira el sobrenadante. A continuación se agrega al cultivo una solución hipotónica (cloruro de potasio 0.075 M) incubándose a 37°C, esto es para que las células se “hinchén” y se lisen. De esta forma, los cromosomas se liberan pero, permanecen intactos los centrómeros. Después de esto, se realiza la fijación cromosómica con metanol - ácido acético en una proporción de 3:1, la cual debe ser de reciente preparación y estar fría, ayudando a la conservación de la estructura de los cromosomas. El cultivo se gotea en las laminillas, y debido a la solución hipotónica permite la dispersión de las metafases de forma adecuada. Para su visualización se procede a realizar una tinción con Giemsa, siendo el colorante más utilizado (Díaz y Bonilla, 2001; Galán, 2002).

### 1.2.2. Técnicas de bandeo.

Actualmente se realizan las técnicas de bandeo, las cuales permiten obtener imágenes de estructuras transversales (bandas), siendo éstas de diferente tamaño en cada cromosoma. De esta forma, es posible un adecuado análisis e identificación de cada uno de los cromosomas humanos. Las cuales se dividen en:

#### 1.2.2.1. Morfológicas.

Las cuales corresponden a la heterogeneidad de la cromatina, siendo: bandas Q, bandas G, bandas C, bandas R, bandas T y bandas NOR.

- a. Bandas Q: Fue la primera técnica de bandeo descrita por Caspersson. Utilizó la quinacrina como agente fluorocromico y la mostaza como la fracción alquilante. Esto permitió la observación de bandas fluorescentes, las cuales corresponden a los segmentos ricos en Adenina-Timina, y las opacas para aquellas zonas ricas en Guanina-Citosina.

- b. Bandas G: Este tipo de bandas se obtiene por la acción de la enzima proteolítica tripsina, la cual tiñe de oscuro las regiones ricas en Adenina-Timina. Estas zonas son transcripcionalmente inactivas, pobres en genes pero, ricas en secuencias LINEs, las cuales son de replicación tardía. Este método se popularizó en su empleo, en diagnósticos médicos; debido a que no se utilizaba microscopio de fluorescencia, y por el hecho de que los fluorocromos son mutagénicos.
- c. Bandas C: Detecta las regiones heterocromáticas de los cromosomas, utilizando hidróxido de bario e incubando en solución salina, para posteriormente teñir con Giemsa. A través de esta técnica se tiñen las zonas ricas en heterocromatina, como es el caso de las regiones centroméricas, pericentroméricas y gran parte del cromosoma largo del cromosoma Y.
- d. Bandas R: Estas se obtienen como patrón inverso de las Bandas G; es decir, las bandas oscuras son ricas en Guanina-Citosina, en genes y en secuencias Alu, siendo zonas de replicación temprana y se condensan tardíamente durante la mitosis.
- e. Bandas T: Este método es una variante del bandeo R, debido a que las preparaciones se incuban con el mismo buffer pero, durante un período de tiempo más largo. Se tiñen con Giemsa y se obtienen cromosomas débilmente teñidos, sin embargo, en las regiones distales (Telómeros), la tinción continúa siendo intensa.
- f. Bandas NOR: Las regiones cromosómicas específicas que forman y mantienen el nucléolo en el núcleo interfásico se llaman Regiones Organizadoras Nucleolares (NORs), las cuales se encuentran en las constricciones secundarias de los cromosomas con satélites. Consisten de múltiples copias de genes que transcriben a un ARN ribosomal de 28s y 18s. Estas regiones se pueden teñir diferencialmente en la metafase cromosómica con una solución de nitrato de plata.

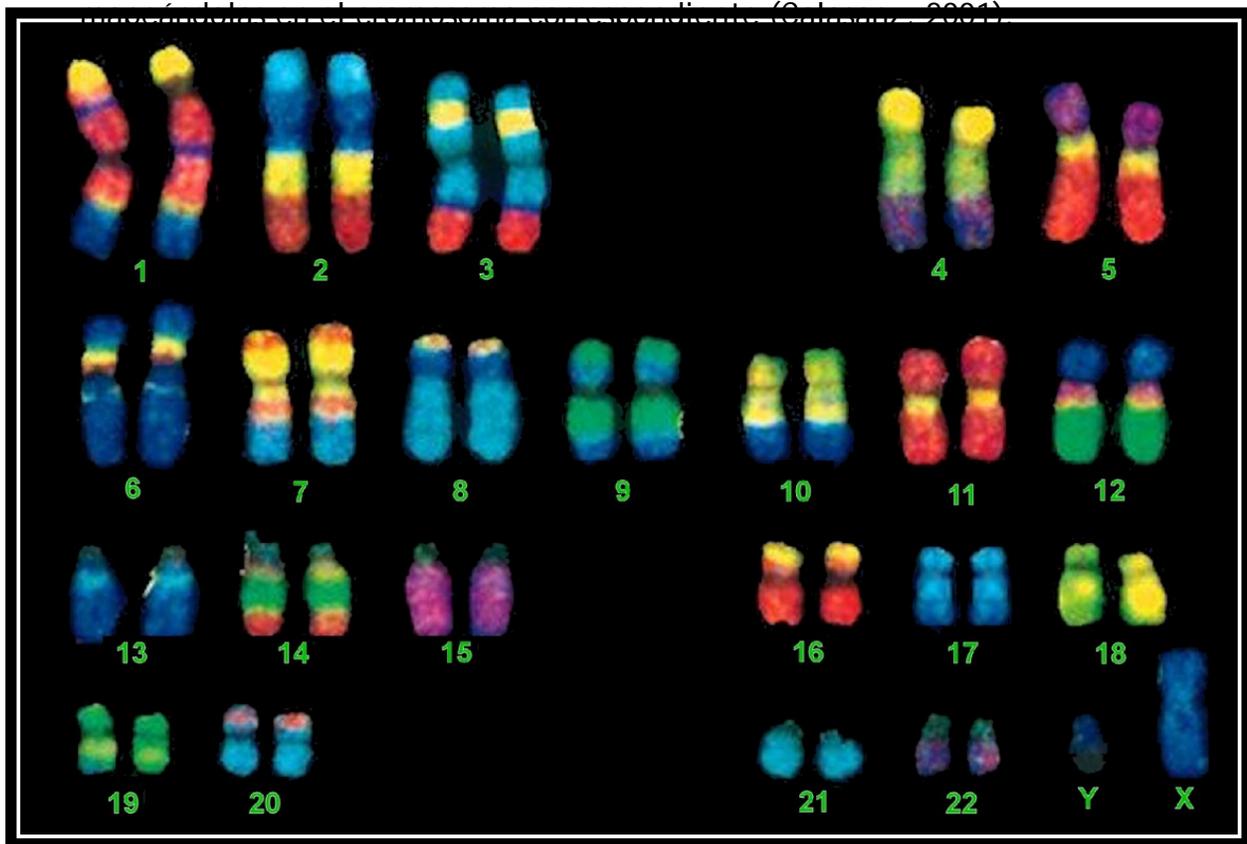
### 1.2.2.2. Bando dinámico.

Este método utiliza a un análogo de base, la cual se incorpora al ADN durante su replicación, por ejemplo: la 5-Bromo-2'-desoxiuridina (5-BrdU), siendo una base análoga de Timina. (Drets, 2002; Silva y Fonseca, 2008).

Asimismo, también se diagnostica a través del uso de métodos moleculares como: FISH, CGH o SKY-FISH.

- a. FISH (Hibridación *in situ* fluorescente): Esta metodología proporciona una ayuda a las técnicas citogenéticas clásicas ya que, puede evaluar la información citogenética como molecular. Asimismo, permite determinar el número y localización de ciertas secuencias de ADN. La técnica se basa en la complementariedad entre las 2 cadenas de la doble hélice; utiliza sondas de ADN marcadas con un nucleótido modificado químicamente, el cual es detectado por otra molécula, la cual está marcada con un fluorocromo. La gran ventaja que ofrece el FISH es que, se pueden ocupar preparaciones cromosómicas tanto en metafase como en interfase; además, permite detectar y caracterizar anomalías cromosómicas en un período de tiempo menor (24-48 horas) en comparación con las técnicas citogenéticas clásicas (Galán, 2002).
  
- b. SKY-FISH (cariotipo espectral) y el M-FISH (multi-FISH): Son técnicas moleculares que se utilizan más en el campo de investigación. Este método consiste en marcar el ADN con uno o con varios fluorocromos, haciendo que el espectro de emisión de cada cromosoma sea único, permitiendo diferenciarlos. En la figura 1, se muestra el cariotipo humano mediante la técnica de SKY-FISH. Esta técnica ha ayudado a caracterizar traslocaciones complejas, o a detectar anomalías en cariotipos aparentemente normales; es por esta razón que comienza a aumentar su aplicación en los diagnósticos (Calasanz, 200).

- c. CGH (Hibridación Genómica Comparada): Esta técnica permite la identificación de ganancia o pérdida cromosómica por rastreo completo del genoma humano, en una sola etapa. Se basa en la hibridación *in situ* del ADN genómico total marcado específicamente de una muestra, con un ADN humano normal (ADN de referencia) de una metafase. La hibridación de estos se distinguen por los colores fluorescentes, y por medio de la relación de los colores fluorescentes se puede calcular las cantidades relativas del ADN muestra y del ADN de referencia. Permitiendo la detección de ganancias o pérdidas de material cromosómico,



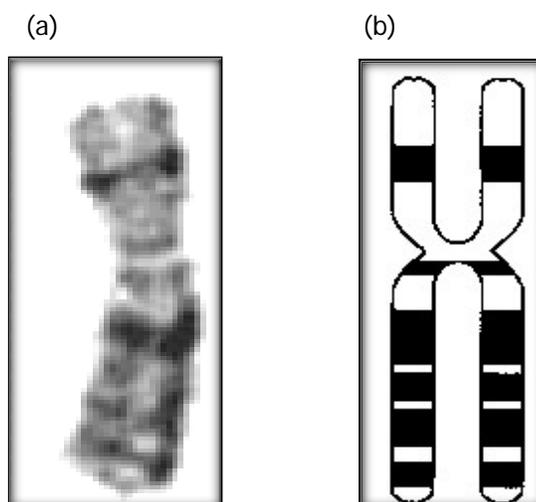
### 1.3. Cromosoma X

La especie humana posee 44 autosomas y 2 cromosomas sexuales (X-Y), estos últimos son los que determinan el sexo cromosómico, es decir, se establece un dimorfismo sexual de los cromosomas, XX en el caso de la mujer o XY en el caso del hombre.

#### 1.3.1. Morfología del cromosoma X

El cromosoma X es de tipo submetacéntrico y se clasifica en el grupo C, su tamaño está entre los cromosomas 8 y 9. Teñido con Giemsa, no posee características suficientes para que sea identificado pero, a través de alguna técnica de bandeo se puede observar sus diferencias con respecto a los demás cromosomas del grupo C (Díaz y Bonilla, 2001: p.36). En la figura 2, del lado izquierdo se muestra el cromosoma X proveniente de un cariotipo por bandas G, y del lado derecho se muestra el ideograma del cromosoma X para el cromosoma X.

Figura 2: (a) Cromosoma X en metafase por bandeo G (Citogenética clínica, 2009); (b) Ideograma de bandas G (Universidad Complutense de Madrid, 2011).

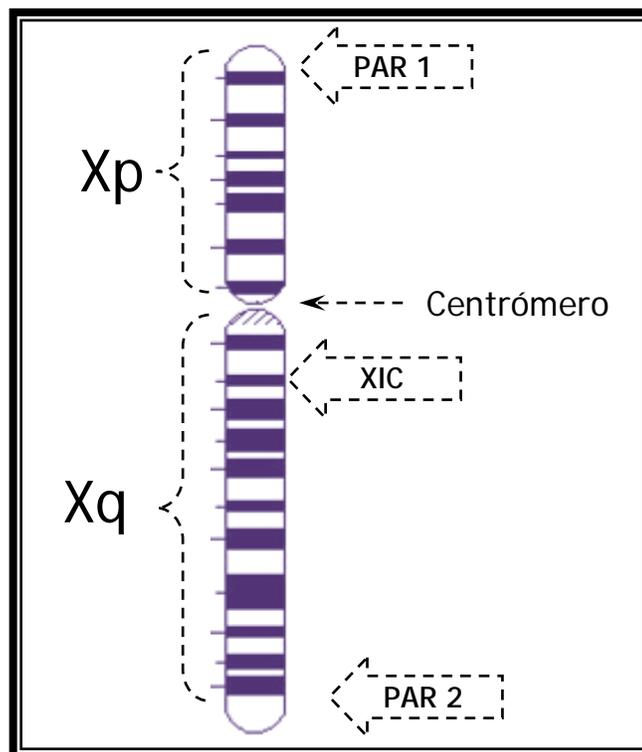


Los cromosomas sexuales sólo poseen una pequeña región homóloga, la cual es la llamada Región Pseudoautosómica (PAR). La región pseudoautosómica se localiza casi

al final de los brazos cortos de ambos cromosomas sexuales y tiene aproximadamente 2.7 Mb; se le identifica como PAR1, es la región para los intercambios entre ambos gonosomas, durante la meiosis. Además, en PAR1 han sido identificados al menos 7 genes, los cuales codifican proteínas para: estatura, crecimiento de células sanguíneas y energía metabólica, entre otras funciones. De este modo, la dosis de los genes pseudoautosómicos es usualmente la misma en ambos cromosomas. La segunda región pseudoautosómica (330 Kb), se localiza en los brazos largos de los gonosomas, se le conoce como PAR2. Sin embargo, esta región no interviene en el intercambio entre los cromosomas sexuales durante la meiosis, y no todos sus genes son expresados en ambos cromosomas.

Como se observa en la figura 3, están localizadas PAR1 y PAR2; también se muestra otra región conocida como el centro de inactivación (XIC), en esta parte es desde donde inicia la inactivación del cromosoma X, esto con el fin de compensar la dosis génica entre él y el cromosoma Y (Migeon, 2007).

Figura 3. Regiones del cromosoma X (Modificado de Genetic Home Reference, 2011).



### 1.3.2. Cantidad de DNA y número de genes del cromosoma X.

En 2005, se publicó la secuencia final del cromosoma X. De acuerdo a esto, tiene cerca de 155 MB de longitud, lo cual consiste en 51 Mb de genes, el resto son secuencias repetitivas de DNA intercalado. Hay cerca de 1,100 genes de los cuales 699 ya eran conocidos; el gen más "largo" es de 2.2 MB que corresponde a la distrofina, mientras que el más pequeño es de 114 pares de base. En su DNA existen un poco más de 153, 000 nucleótidos, de los cuales no todos son los mismos en todos los cromosomas X. Estas diferencias en un solo nucleótido se producen con una frecuencia de 1% en los individuos. Estos sitios son llamados como polimorfismos de nucleótido único (SNPs); cada uno de estos se encuentra en cada kilobase del cromosoma X; aún así, en el cromosoma X estos sitios son aproximadamente la mitad que en los autosomas. Además de los 57 genes que son homólogos entre el X y Y, 24 de ellos se encuentran en la región pseudoautosómica. Sólo 1.7% del ADN son genes codificantes de proteínas, 56 % son secuencias repetitivas y de las cuales el 29% son LINEs. (Ross y cols. 2005)

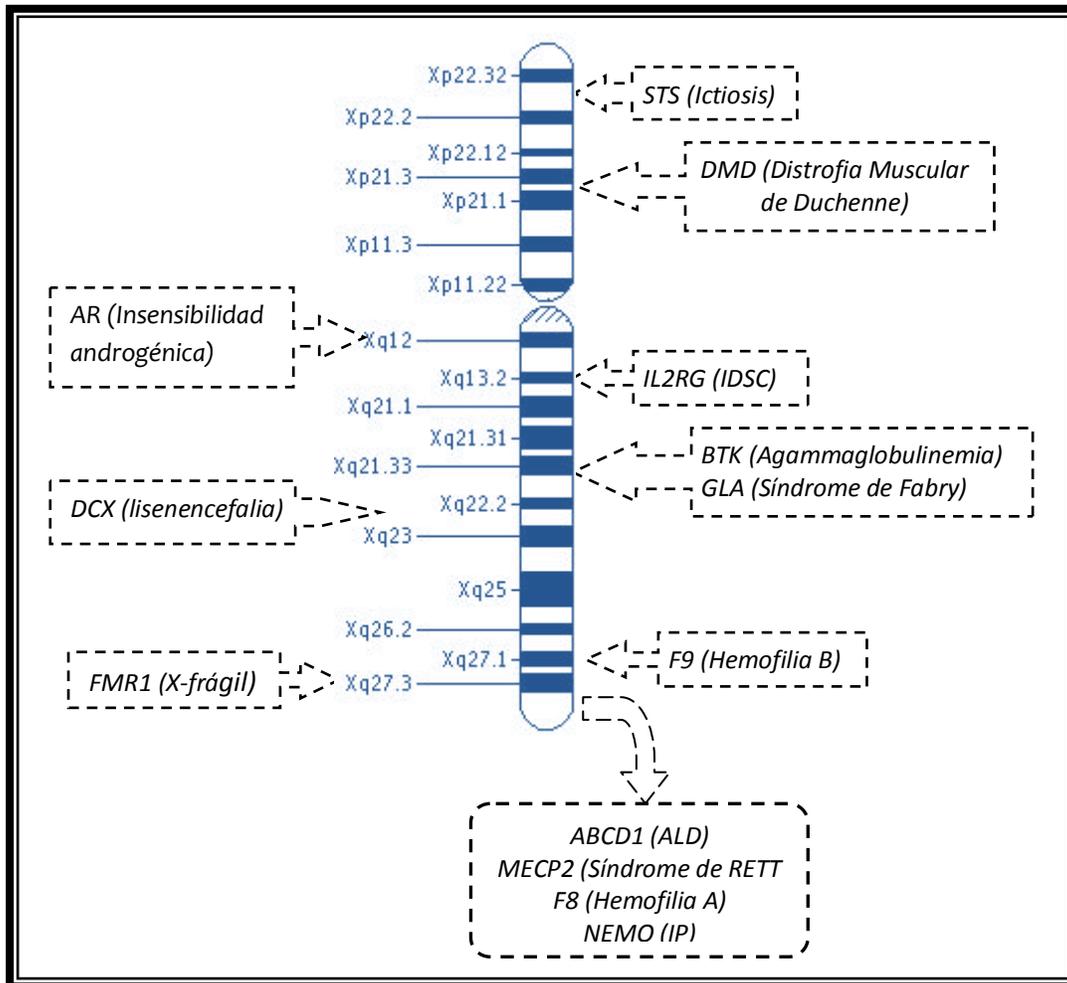
La secuenciación también reveló, 168 enfermedades ligadas al X atribuidas a 113 genes, a pesar de que clínicamente son diferentes, pertenecen al mismo gen por ejemplo: síndrome de Gout y Lesch-Nyhan, ambas enfermedades se muestran diferentes pero, son causadas por mutaciones en el gen HPTP (Hipoxantina fosforribosiltransferasa en Xq26) (Migeon, 2007).

En la tabla 2 y en la figura 4, se enlistan enfermedades y se muestra su localización en el cromosoma X. La nomenclatura indica en primer término al cromosoma, después el brazo (corto p o largo q) seguido de los números, los cuales indican la región de la banda correspondiente.

Tabla 2. Ejemplos de genes implicados en enfermedades ligadas al cromosoma X (Modificado de Balderas, 2009).

| Localización | Gen   | Nombre   | Función  | Enfermedad                                 |
|--------------|-------|--|--|--|
| Xp21.2       | DMD   | Distrofina                                     | La distrofina junto con otras proteínas, fortalecen las fibras musculares y las protege de lesiones en aquellos que se contraen y relajan.   | Distrofia Muscular de Duchenne.            |
| Xp22.3       | STS   | Esteroidesulfatasa                             | Codifica a una enzima que remueve el grupo sulfato del colesterol y otros esteroides.  | Ictiosis.                                  |
| Xq11-12      | AR    | Receptor de andrógeno                          | Produce la proteína dihidrotestosterona o receptor de andrógeno, la cual se encarga de llevar a la DHT del citoplasma al núcleo (lugar de síntesis), esta forma parte la diferenciación masculina. | Síndrome de insensibilidad androgénica     |
| Xq13.1       | IL2RG | Interleucina 2 receptor gamma.                 | Codifica la cadena gamma común, componente de varios receptores del sistema inmune.  | Inmunodeficiencia combinada severa (IDSC). |
| Xq21.33-q22  | BTK   | Tirosina cinasa de Bruton                      | Regula el desarrollo de linfocitos que originan en médula ósea a las células B.  | Agammaglobulinemia de Bruton.              |
| Xq22         | GLA   | $\alpha$ -galactosidasa A                      | Es una enzima que se localiza en los lisosomas, se encarga de "romper" a los glicosfingolípidos, componente de la mayoría de las membranas celulares.  | Síndrome de Fabry                          |
| Xq22.3-q23   | DCX   | Doblecortina                                   | El gen DCX provee la información a la proteína doblecortina. Su función se relaciona con la migración de las neuronas al cerebro.  | Lisencefalia                               |
| Xq27.1-q27.2 | F9    | Factor de coagulación IX                       | El FIX es una de las proteínas involucradas en la cascada de coagulación.  | Hemofilia B                                |
| Xq27.3       | FMR1  | Retraso mental X frágil 1                      | Codifica la proteína FMRP, la cual está presente en varios tejidos, especialmente en cerebro y testículos.   | Síndrome del X-frágil                      |
| Xq28         | ABCD1 | ATP-binding cassette, subfamily (ALD) member 1 | Produce la proteína ALD que lleva a proteínas a través de las membranas celulares. Se encuentra en los perioxosoma, las cuales contienen las enzimas que oxidan los ácidos grasos.                 | Adrenoleucodistrofia (ALD)                 |
| Xq28         | F8    | Factor de coagulación VIII                     | El FVIII es una de las proteínas involucradas en la cascada de coagulación.  | Hemofilia A.                               |
| Xq28         | NEMO  | NF-kappa B-modulador esencial                  | Es una proteína involucrada en el desarrollo de los dientes, piel y cerebro. Es decir, protege de la muerte prematura a las células de la piel (queratinocitos) durante su diferenciación.         | Incontinencia pigmentaria (IP).            |
| Xq28         | MECP2 | Metil-CpG-proteína ligadora 2                  | Esta proteína nuclear une específicamente dinucleótidos CG metilados al DNA.   | Síndrome de Rett.                          |

Figura 4. Localización de algunos de los genes del cromosoma X y su repercusión  
 (Modificado de Genetic Home Reference, 2011).



## 2. DESARROLLO SEXUAL NORMAL EN EL SER HUMANO

En humanos se observan diferencias entre los sexos. En nuestra especie, las características sexuales se desarrollan debido a una serie de eventos que inician desde la fecundación, los cuales se deben mayoritariamente a los cromosomas sexuales. Asimismo, el sexo de un individuo se genera a través de “niveles” los cuales son: determinación cromosómica, diferenciación gonadal y diferenciación sexual, siendo esto en la mayoría de los casos consistente o normal (Klug, 2006).

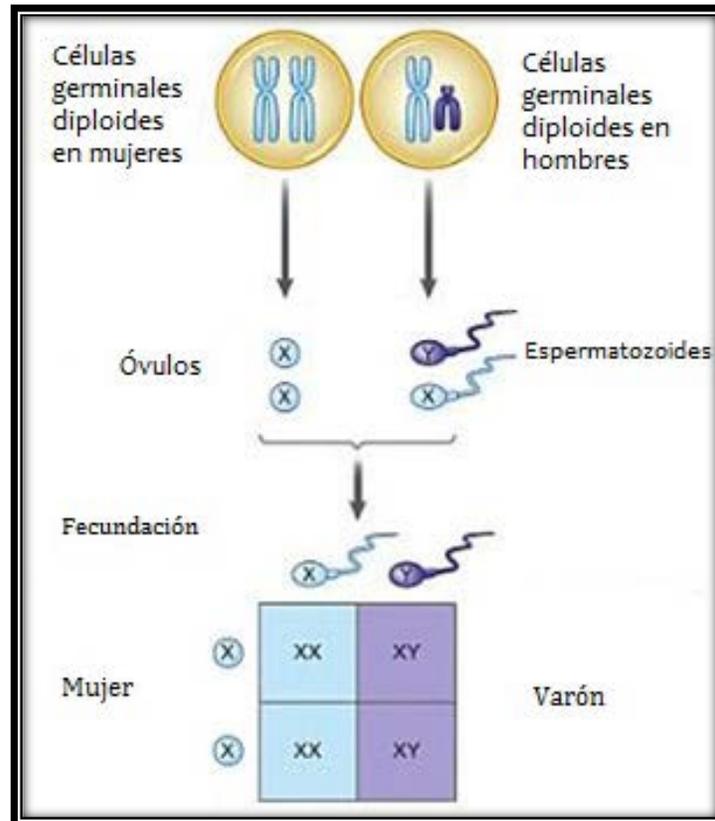
### 2.1. El papel de los cromosomas sexuales X y Y

#### 2.1.1. Determinación cromosómica

En condiciones normales, un óvulo tiene 22 cromosomas con un gonosoma X, por lo tanto el complemento cromosómico final dependerá del espermatozoide ya sea 22 autosomas con un gonosoma X o Y.

Entonces el embrión puede ser XX dando como resultado un individuo del sexo femenino o XY dando lugar a un ser del sexo masculino, como se observa en la figura 3.

Figura 5. Determinación del sexo cromosómico (Modificado de Cummings, 2009).



### 2.1.2. Diferenciación gonadal

En el momento de la unión del óvulo y del espermatozoide queda establecido el sexo cromosómico del embrión pero, durante un período de 5 semanas es imposible distinguir un individuo de sexo masculino o femenino, debido a sus características anatómico-histológicas. Esta etapa se denomina período indiferenciado del desarrollo sexual. (Rey, 2001).

El sistema urogenital se forma a partir del mesodermo intermedio, este se recubre por el epitelio celómico, formando las crestas urogenitales, las cuales se dividen en: crestas gonadales localizadas al centro y las crestas urinarias ubicadas lateralmente; las crestas gonadales son bipotenciales, es decir, podrán evolucionar hacia testículos u ovarios. En cuanto a las células germinales se originan en el tejido extraembrionario y migran a las gónadas entre la 5ª y 6ª semana, estas son necesarias para la fertilidad pero, no para todo el proceso de diferenciación masculina; sin embargo, en las

mujeres al no estar presentes las células germinales, no se formará tejido ovárico (Calzada y cols., 2000; Rey, 2001).

Los conductos de Wolff y los conductos de Müller, coexisten durante el período de indiferenciación. Los primeros, se desarrollan a partir del mesonefro, dirigiéndose en sentido caudal para desembocar en la cloaca del seno urogenital (4<sup>a</sup>-5<sup>a</sup> semana). Mientras que los conductos de Müller se desarrollan paralelamente a los conductos de Wolff, en un sentido más lateral. Otra diferencia entre ambas gónadas es el tiempo, mientras que histológicamente el testículo comienza a diferenciarse entre la 6<sup>a</sup>-7<sup>a</sup> semana, el ovario permanece indiferenciado hasta la 12<sup>a</sup> semana (Calzada y cols., 2000).

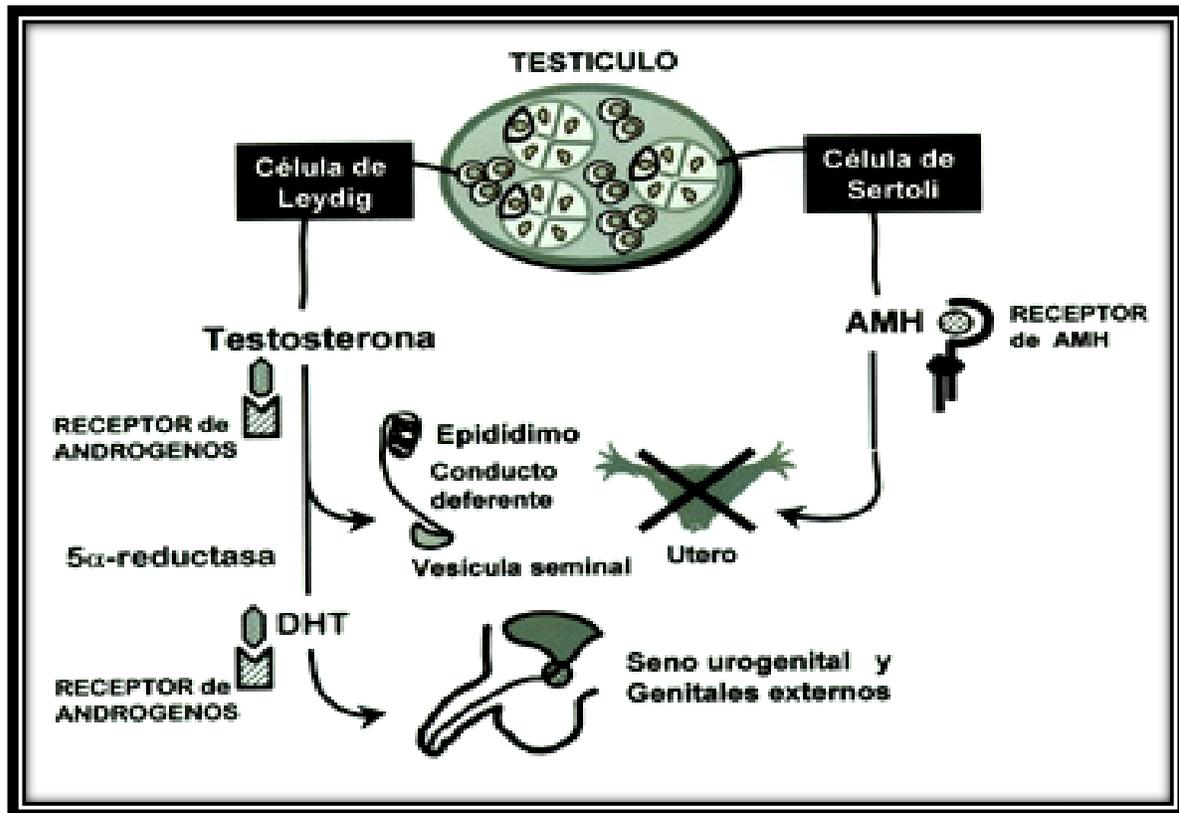
### 2.1.3. Diferenciación fenotípica

#### 2.1.3.1. Diferenciación sexual masculina

En la 7<sup>a</sup> semana de gestación debido al complemento cromosómico XY, comienza a actuar el gen SRY situado en Yp11.3, este codifica al FDT (Factor Determinante Testicular) el cual comienza la diferenciación gonadal hacia el testículo. Entonces las células de Sertoli comienzan a segregar la Hormona Anti-Mülleriana (AMH), entre la 8<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> semana aparecen las células de Leyding las cuales comienzan a secretar andrógenos y mayormente la testosterona, la cual induce el desarrollo de los conductos de Wolff a las estructuras internas masculinas: epidídimo, vesícula seminal, conducto deferente, como se muestra en la figura 6 (Calzada y cols., 2000).

Asimismo, la testosterona es convertida a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT) alcanzando su pico máximo (semana 16) y comienza la diferenciación genital externa, los pliegues genitales y el tubérculo genital forman al pene, y las prominencias genitales el escroto, como se observa en la figura 6.

Figura 6. Diferenciación gonadal masculina (Rey, 2001).



#### 2.1.3.2. Diferenciación sexual femenina.

En la 8ª semana en ausencia del gen SRY y por la presencia del gen DAX1 el cual se localiza en Xp21, al tener la función de inhibir la diferenciación masculina, los ovarios se definen.

Debido a que el nivel de andrógenos es mínimo, los conductos de Wolff involucionan y ante la ausencia de la hormona anti-Mülleriana, los conductos de Müller comienzan a evolucionar (Calzada y cols., 2000).

En la figura 7 se muestra la diferenciación de los genitales internos femeninos: útero, trompas de falopio y el tercio superior de la vagina. Así como, los genitales externos en ausencia de la DHT se feminizan: el tubérculo genital forma el clítoris; los pliegues

y las prominencias genitales generan a los labios menores y labios mayores respectivamente, como se observa en la figura 8.

Figura 7. Diferenciación gonadal femenina (Fundación Ginebrina para la formación y la investigación médica, 2011).

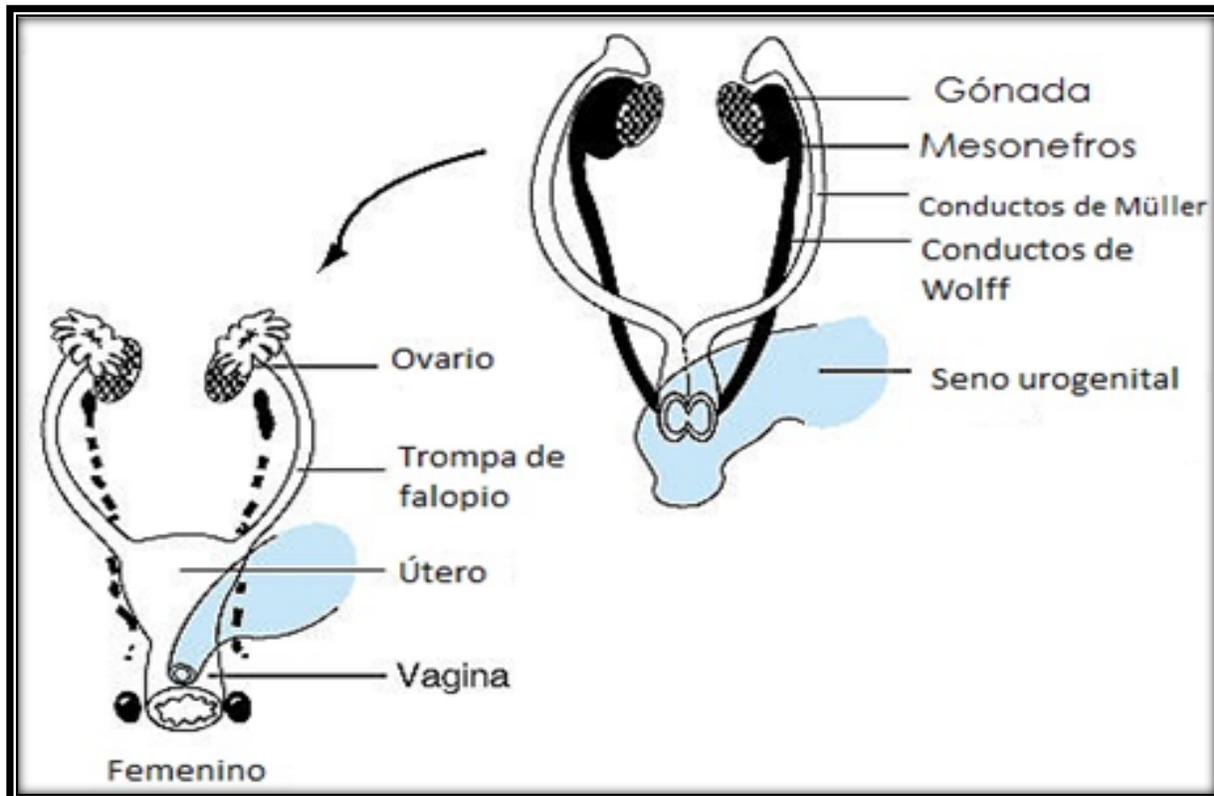
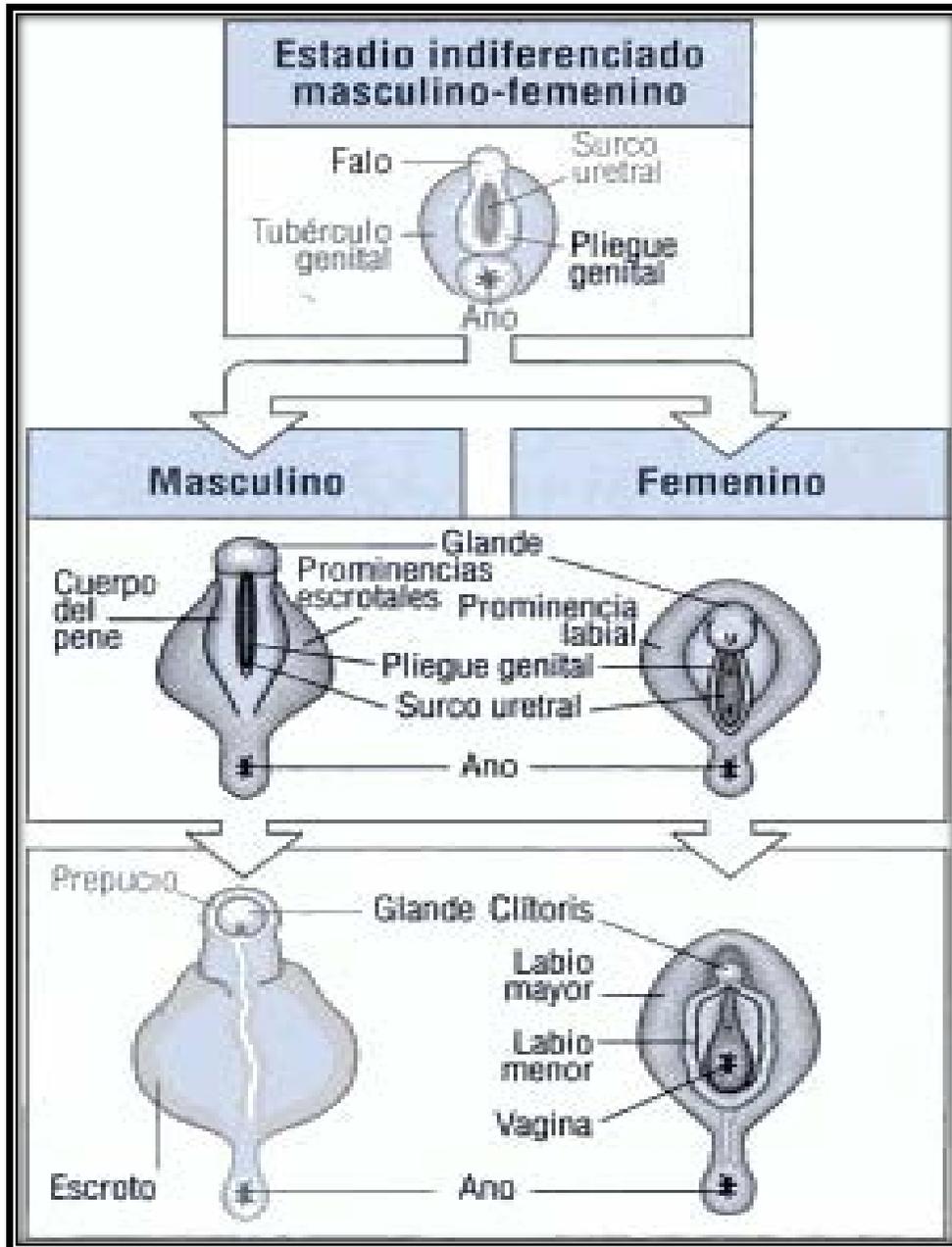


Figura 8. Diferenciación de los genitales externos (Wolpert, 2010).



## 2.2. Otros genes implicados en las alteraciones del desarrollo sexual

Además de los genes que normalmente actúan sobre la diferenciación sexual, existen otros genes que actúan previamente a la acción del SRY, como el desarrollo y mantenimiento de la cresta urogenital y de los demás órganos.

### 2.2.1. Diferenciación masculina.

#### 2.2.1.1. SRY

Se ubica en Yp11.3 en la región pseudoautosómica, estructuralmente tiene un solo exón, expresa a una proteína que contiene un dominio llamado *proteínas de alta movilidad* (HMG) el cual le permite unirse al DNA, siendo la región que más se ha conservado entre las especies.

Anteriormente se le conocía como el Factor de Diferenciación Testicular (TDF), porque actúa como un factor en la diferenciación masculina. A través de varios experimentos con ratones XX que portaban un transgen SRY, se observó reversión sexual de hembras a machos, demostrando que el gen SRY era el mismo TDF. Asimismo se observó que en los ratones se expresa en los precursores de las células de Sertoli y cesa poco después, siendo así un período de expresión relativamente corto iniciado en el día 10.5 y finalizando en el día 12.5 postcoital. Mientras que en los humanos no sólo se expresa en células de Sertoli, también participa en la diferenciación de células germinales (Sekido, 2010).

En el ratón el gen SRY actúa sinérgicamente con SF1 para regular la expresión de SOX9, promoviendo la diferenciación de las células de Sertoli; sin embargo, en los humanos la función de los genes SRY y SOX9, aún no está definida. La existencia de mutaciones en este gen, causa en individuos 46, XY disgenesia gonadal (Knower y cols., 2011).

#### 2.2.1.2. SOX9

Se localiza en 17q23 y pertenece a los genes relacionados con SRY. Se expresa en cresta urogenital, y se encuentra en ambos sexos. Cuando inicia la expresión de SRY, en la gónada femenina cesa su actividad; mientras se incrementa en el testículo, (especialmente en células de Sertoli). Participa en los conductos Mülllerianos para la formación del epidídimo. Cuando el gen SRY está ausente, SOX9 es silenciado y esto permite el desarrollo de los órganos femeninos (Jakob y Lovell, 2011).

#### 2.2.1.3. SF1 (NR5A1: receptor nuclear subfamilia tipo 5 grupo A miembro 1)

Localizado en 9q33, es el factor esteroideogénico 1, el cual interviene en la evolución de la cresta urogenital a gónada indiferenciada, es decir, se expresa en aquellos tejidos productores de esteroides (Koopman y Wilhelm, 2006).

#### 2.2.1.4. DAX1 (Receptor Nuclear subfamilia 0, grupo B, miembro 1).

Se ubica en Xp21.3 y es regulado positivamente por WT1 y SF1. Es miembro de la familia de Receptores Hormonales Nucleares (NHR). Se expresa primariamente en el desarrollo de la cresta urogenital, ovario, testículo, y en hipotálamo e hipófisis (Xu y cols., 2009). Es necesario en el desarrollo testicular temprano, de lo contrario las células de Sertoli no evolucionarán y se vería afectada la espermatogénesis. Sin embargo, cuando el gen se encuentra duplicado suprime la acción de SRY, SF1 y SOX9. De esta forma, convierte a la cresta urogenital a gónada indiferenciada, de ésta a ovario, evitando así la masculinización. Sin embargo, al existir una mutación se origina la Hipoplasia Adrenal Congénita (HAC) e Hipogonadismo Hipogonadotrópico, también se han reportado que en existencia de duplicaciones del gen puede originar disgenesia gonadal (Barbaro y cols., 2011).

## 2.2.2. Diferenciación femenina.

### 2.2.2.1. WNT4

Su ubicación es 1p36.23-p35.1, es producido en células somáticas (pre-granulosas) y es regulado por DAX1. Estimula la actividad de  $\beta$ -catenina, interviene en la diferenciación de los conductos de Müller, regula la apoptosis de los oocitos en el desarrollo del ovario y antagoniza a FGF9 e interfiere en la expresión de SOX9 (Biason-Lauber, 2010)

### 2.2.2.2. FOXL2

Su locus es 3q23, es un gen que se manifiesta desde el desarrollo embrionario hasta la vida adulta. Desde el inicio de la diferenciación gonadal se expresa, y más adelante su función es mantener a las células granulosas del ovario aún en la vida adulta, asimismo en esta etapa se expresa en la glándula pituitaria (manteniendo el nivel de gonadatropina en células). Cuando este gen muta, genera el síndrome Blefarofimosis-ptosis-epicantos-inverso, presentando una malformación en los párpados y otras anormalidades craneofaciales (Uhlenhaut y Treier, 2006)

### 2.2.2.3. RSP01

R-spondin1 (RSP01) pertenece a una familia R-spondin que secreta proteínas (R-spondin1-4) y todas contienen dos dominios de furina. Se encuentran involucradas en la activación y regulación de WNT, así como en la estabilización intracelular de  $\beta$ -catenina (Kim, 2008).

En 2006 Parma y colaboradores demostraron que cuando este gen se altera, provoca el síndrome de reversión del sexo. Observándose ausencia de conductos de Müller y en ambos genitales externos e internos presentaban masculinización sin embargo, los pacientes son estériles (Parma y cols., 2006).

En estudios recientes se realizó una delección de R-spondin1, esto generó un desarrollo testicular en los ratones hembra.

Así mismo, se ha reportado una mutación homocigota en R-spondin1, causando una deleción en el primer dominio de furina de la proteína, esto se observo en un paciente 46, XX ovotesticular DSD (Desorden en el Desarrollo del Sexo), anteriormente conocido como hermafroditismo verdadero; proporcionando información sobre su función crítica en el desarrollo sexual en el humano.

A pesar del avance presentado por las investigaciones, aún se sabe relativamente poco sobre la expresión de R-spondin1 en el desarrollo temprano del ovario humano (Tomaselli, 2011).

#### 2.2.2.4. $\beta$ -catenina

Es una proteína de 78 aminoácidos, una de sus funciones en general es el establecimiento y regulación de las adhesiones entre células. En estudios recientes se ha demostrado que la proteína interviene en el desarrollo gonadal temprano, y que es indispensable para la formación testicular. Sin embargo, en presencia de RSPO1/WNT4 mediante la regulación positiva de SF1 suprime la vascularización y la producción de andrógeno mientras que, mantiene el crecimiento de las células germinales femeninas (Chia-Feng y cols., 2009).

### 2.3. Algunos de los genes que participan en la diferenciación gonadal o conductos müllerianos.

En la figura 9, se muestran otros genes involucrados con la diferenciación sexual en las gónadas, a continuación se describen brevemente algunos de estos genes.

#### 2.3.1. WT1 (Tumor de Wilms 1)

Es un gen de 10 Kb ubicado en 11p13, este se encarga de codificar una proteína de que contiene “dedos de zinc” y se compone de 449 aminoácidos, la cual regula la transcripción del DNA, durante las etapas de interacción de tejido mesenquimatoso y epitelial. Se expresa simultáneamente con SF1 en las células de Sertoli y en las células granulosas de la mujer, además controla la expresión de SRY. Durante la formación gonadal activa a WNT4, DAX1 y AMH. Se han identificado mutaciones de este gen en pacientes con enfermedad renal, tumor de Wilms, entre otras enfermedades (Biason-Lauber, 2010).

#### 2.3.2. GATA4

Ubicado en 8p23.1, pertenece a la familia de factores de transcripción GATA, interviene en la formación del corazón. En la gónada masculina se expresa en células somáticas, al igual que en las de Sertoli y Leyding, interviniendo en el desarrollo testicular. Mutaciones de este gen en humanos se relaciona con genitales ambiguos en individuos 46, XY (Biason-Lauber, 2010).

#### 2.3.3. FOG2

Se localiza en 8q23, se expresa paralelamente con GATA4 al inicio son esenciales para la expresión de SOX9 y AMH sin embargo, disminuye en lo que resta del desarrollo embrionario.

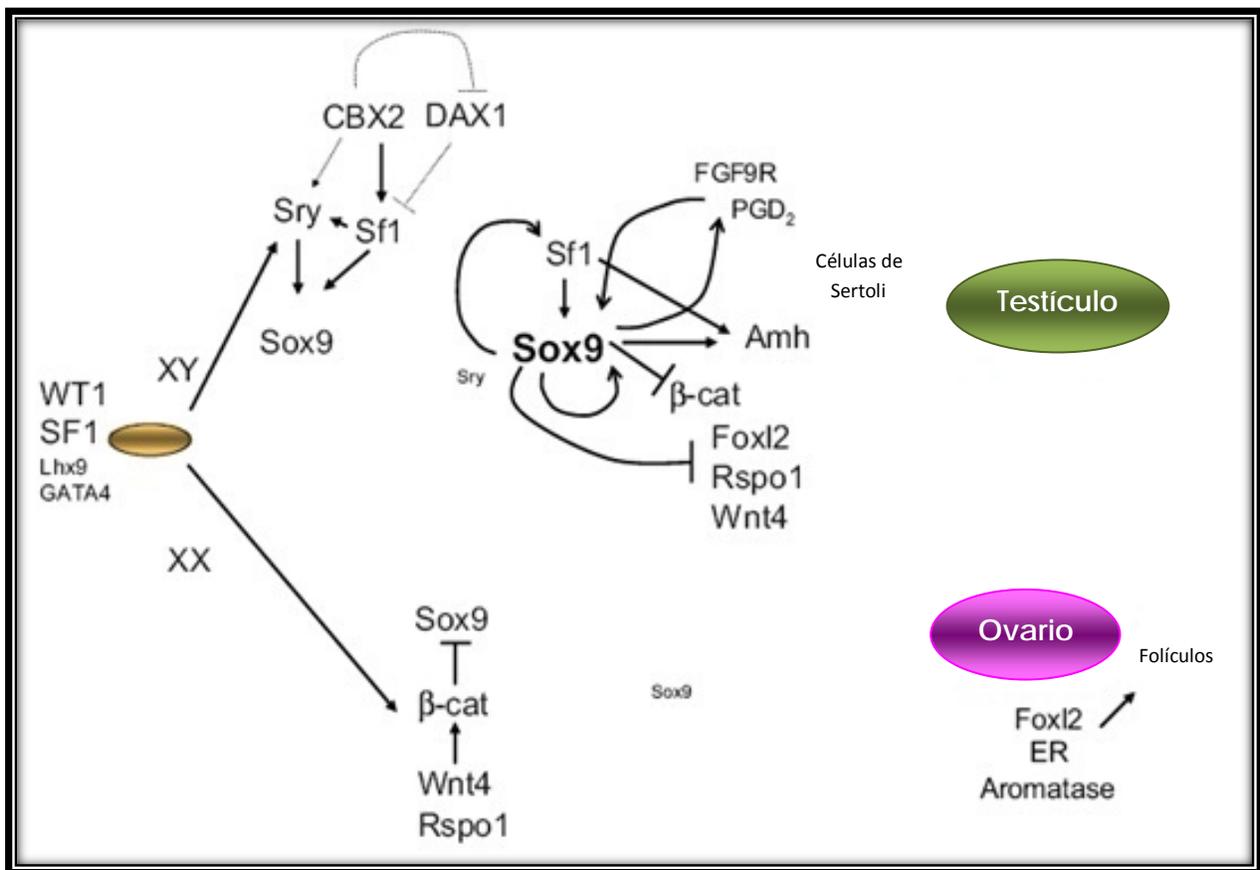
#### 2.3.4. Familia HOX (Homeobox): Producen factores de transcripción:

- ➡ EMX2: Ubicación en 10q26.1. Es un homólogo de espiráculos vacíos en *Drosophila melanogaster* (participa en la formación de la cabeza), se expresa en células epiteliales para el desarrollo del sistema urinario. Mutaciones de este gen se han observado en pacientes que presentan esquizencefalia y en algunos casos de cáncer endometrial (Noonan y cols., 2001).
- ➡ LHX9: Su ubicación es 1q31.11, se expresa en el desarrollo de la cresta urogenital. Se ha observado que cuando los ratones carecen de este gen, las células germinales migran pero las células de la cresta urogenital no proliferan y la formación de la gónada es anómala.
- ➡ LIM1: Se localiza en 17q12, codifica una proteína que contiene 2 dominios ricos en cisteína unidos por zinc y un dominio de caja, regulando la transcripción del DNA. Se involucra en la diferenciación del mesonefro intermedio.
- ➡ M33 (cromobox homólogo 2, CBX2): Se ubica en 17q25.3. Es un factor cooperativo de SRY para activar a SOX9.
- ➡ POD1 (factor de transcripción 1): Se ubica en 6q23-24. Interviene en la vascularización de los testículos y en el desarrollo de las gónadas de ambos sexos (Wilson y Davies, 2007).

2.3.5. FGF9 (Factor de crecimiento de fibroblasto 9)

Se localiza en 13q11-q12. Los efectos de este gen suprimido en ratones, indica que interviene en la proliferación de las células de Sertoli y el aumento de las células de Leyding (Wilson y Davies, 2007: p. 333).

Figura 9. Otros genes que intervienen en la diferenciación sexual, se observa cómo se lleva a cabo la señalización para determinada diferenciación (Modificado de Bignon - Lauber, 2010).



### 3. INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA X EN LAS HEMBRAS DE LOS MAMÍFEROS

En todos los organismos vivos que presentan un dimorfismo en los cromosomas sexuales tienen en común un mecanismo de compensación de dosis, esto con el fin de garantizar el equilibrio de los niveles de expresión génica, entre ambos sexos.

En el caso de la especie humana, debido a que el cromosoma Y tiene un menor número de genes en contraste con el cromosoma X, el cual cuenta con más de 1,000 genes, esto representa un desbalance entre los sexos. Los efectos de esta diferencia en la expresión génica resultan en letalidad embrionaria o severos defectos del desarrollo.

Consecuentemente la expresión de los genes está de una forma equilibrada, esta compensación se logra a través de la inactivación de un cromosoma X. (Clerc y Avner, 2010: p. 62; Pontier y Gribnau, 2011)

#### 3.1. Corpúsculo de Barr

En 1949, Murray Barr y Evert Bertram durante sus investigaciones neurofisiológicas observaron un pequeño cuerpo que se teñía oscuro en la interfase de células nerviosas de las gatas, a diferencia de los machos que no lo presentaban. El corpúsculo mide alrededor de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, se encuentra adherido a la superficie interna de la membrana nuclear. Se tiñe de manera positiva en la reacción de Feulgen, una prueba citoquímica para ADN (Klug, 2006).

En 1954, a partir de células provenientes de la mucosa oral se podía observar el corpúsculo, aplicándose a pacientes con estados intersexuales. Asimismo, al realizarse el estudio de sexocromatina en pacientes que presentaban el Síndrome de Turner, éstos no presentaban el corpúsculo; pero, en los pacientes con Klinefelter mostraban una sexocromatina. Cuando se hizo posible la realización del cariotipo, hallaron que el número de cromosomas X presentes en las células correspondía a uno

más que el número de corpúsculos de Barr en la célula. Es decir, en individuos con un cariotipo 47, XXY presentaban un cromosoma X; mientras que, los pacientes con Síndrome de Turner (45, X) no presentaban un corpúsculo. En 1959, cuando Susumu Ohno a partir de los estudios que realizaba con células de hígado provenientes de rata hembra, reportó que el corpúsculo era un solo cromosoma condensado. Consecuentemente, realizó las mismas observaciones en células de ratones hembra mientras que, en las células de los machos no se hallaba, de ésta forma propuso que era un cromosoma X (Migeon, 2007).

En la tabla 3 se muestra la relación entre el corpúsculo de Barr y los cromosomas X extras y como se ve reflejado en el fenotipo sexual de los pacientes. En la figura 10 se muestra, una célula proveniente de una mujer 46, XX; y una célula proveniente de un paciente masculino 49, XXXY.

Tabla 3. Relación entre el número de corpúsculos de cromatina y el número de cromosomas X (Nussbaum, 2008).

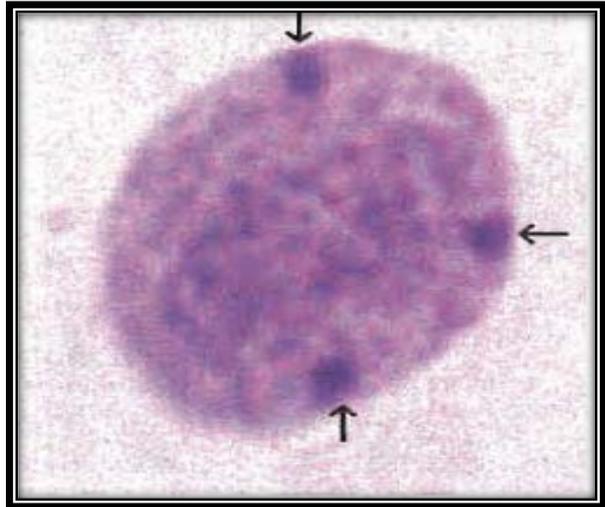
| Cromosomas sexuales y el corpúsculo de Barr |                     |                     |
|---|---------------------|---------------------|
| Fenotipo sexual                             | Cariotipo           | Corpúsculos de Barr |
| Masculino                                   | 46, XY; 47, XYY     | 0                   |
|   | 47, XXY; 48, XXYY   | 1                   |
|   | 48, XXXY; 49, XXXYY | 2                   |
|   | 49, XXXXY           | 3                   |
| Femenino                                    | 45, X               | 0                   |
|   | 46, XX              | 1                   |
|   | 47, XXX             | 2                   |
|   | 48, XXXX            | 3                   |
|   | 49, XXXXX           | 4                   |

Figura 10. (a) Una célula de una mujer XX, mostrando un corpúsculo de Barr (señalado con la flecha);  
(b) Una célula proveniente de un paciente masculino 49, XXXY, éste presente 3 corpúsculos de Barr (señalados con las flechas) (Cummings, 2009; Strachan, 2010).

(a)



(b)



### 3.2. Postulados de Mary Lyon

En 1961, Mary Lyon propuso que el corpúsculo de Barr era un cromosoma X inactivo y que este se producía al azar, dejando a las células un sólo cromosoma X activo, una vez inactivado, las células hijas tendrían el mismo cromosoma X inactivado. La hipótesis de Mary Lyon surgió a partir, de sus observaciones realizadas en las hembras de ratón heterocigotas para genes del color de pelaje ligados al X. En aquellas hembras heterocigóticas mostraban una pigmentación moteada, debido a que aproximadamente el 50% de sus células expresarán un alelo y el 50 % el otro alelo (Klug, 2006; Migeon, 2007).

Este tipo de patrón también fue observado en los gatos carey y calicó, los machos son hemicigóticos y su pelaje podría ser negro o naranja. Sin embargo, las hembras pueden ser presentar un pelaje negro, naranja o tener un pelaje con parches negros-naranja. Por lo tanto, cada parche naranja es debido a que el alelo negro es inactivado, así como los parches negros se observan porqué el alelo naranja se inactiva (Pierce, 2006).

En 1962, Beutler y colaboradores de forma independiente, se basaron en estudios sobre la deficiencia de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), sugirieron la existencia de dos poblaciones de células rojas sanguíneas en mujeres heterocigotas, proponiendo así la inactivación de un cromosoma X (Harper, 2011).

Durante 1963, Davidson y colaboradores, realizó un estudio con clones celulares de fibroblastos humanos, provenientes de 14 mujeres heterocigotas. Siete presentaban una forma de la enzima de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y los otros siete otra forma. Siendo así que ninguno de los clones presentaron ambas formas de la enzima, lo cual proporcionó que la inactivación sucedía de manera aleatoria y de forma permanente de un cromosoma X materno o paterno (Klug, 2006).

A pesar de que fueron varios científicos llegaron a la misma conclusión de que el corpúsculo de Barr, era un cromosoma X altamente condensado; fue Mary Lyon quien estableció que este cuerpo presente en las células de las hembras, era un cromosoma

X inactivado, estableciendo las bases de este proceso, de ahí a que se llame **Hipótesis de Mary Lyon**, la cual se resume en tres puntos:

- ▶ En las células somáticas de los mamíferos hembra, sólo un cromosoma X es activo para la transcripción. El otro cromosoma X se mantiene heterocromático e inactivo, y aparece en las células en interfase como cromatina sexual: Corpúsculo de Barr.
- ▶ La inactivación se produce al inicio de la vida embrionaria, pero no se completa en la masa celular interna que formará el embrión, hasta alrededor del final de la primera semana de desarrollo.
- ▶ En cualquier célula somática femenina, el X inactivo puede ser materno o paterno, siendo completamente aleatorio su inactivación. Sin embargo, cuando un cromosoma X se ha inactivado en una célula, todas sus descendientes de ella tienen el mismo cromosoma X inactivo, es decir, es permanente (Nussbaum, 2008).

En 1998, Mary Lyon propuso que el cromosoma X está enriquecido con elementos específicos repetitivos como los LINEs, los cuales facilitarían la inactivación del cromosoma X (Payer y cols., 2011).

### 3.3. Mecanismo de inactivación del cromosoma X: Inactivación al azar

El cromosoma X inactivo se puede distinguir del cromosoma activo, esto se debe por algunas características que el primero presenta:

- ✿ En la interfase, el cromosoma inactivo es relativamente más condensado y además se observa más cerca de la membrana nuclear.
- ✿ Mientras que el cromosoma X activo se replica relativamente tarde en comparación a los autosomas, el X inactivo es el último en iniciar su replicación.
- ✿ El cromosoma X presenta una cromatina que transcripcionalmente se mantiene inactiva, debido a que la histona H4 se encuentra acetilada.
- ✿ El gen *Xist* (transcripto-específico del cromosoma X inactivado) es totalmente transcrito por el cromosoma X inactivo, el cual “produce” un RNA regulador (Migeon, 2007).

El cromosoma X posee un **centro de inactivación (XIC)**, se encuentra en Xq13.2, siendo la región donde inicia y se propaga bidireccionalmente la inactivación en el cromosoma. La longitud del segmento es cerca de 1 MB, es relativamente pobre en genes de codificadores de proteínas pero, tiene un elevado número de secuencias repetidas de DNA, y posee el gen *Xist*. El gen codifica un RNA de 17 Kb, carece de la información necesaria para la traducción a una proteína, es decir, es un elemento no codificante. Se ha descrito que su función principal es “cubrir” al cromosoma X, lo cual induce su inactivación, siendo su mecanismo en forma *cis* (Ringo, 2004; Migeon, 2007).

También existe un región llamada *Tsix* (el cual es la forma de decir *Xist* pero a la inversa) en los ratones, se sobrepone enteramente en el locus de *Xist* e inhibe su expresión en células placentarias maternas y en las células con cromosoma X activo (Pontier y Gribnau, 2011). Siendo esta región expresada por el X-activo maternal para prevenir su inactivación, actuaría de manera complementaria con *Xist* mediando la elección del cromosoma a inactivar. Además, su mecanismo de acción puede servir para establecer el epigenotipo maternal en los oocitos (Kalantry, 2011).

Sin embargo, en los humanos este gen se “perdió” durante la evolución de los mamíferos. Los transcritos de TSIX humano no se superpone (como sucede en el cromosoma X del ratón), en cambio se co-transcribe en *cis* desde el cromosoma X inactivo. Significando que su acción no es reprimir la expresión de Xist, quizás actúa de manera *trans* para dar soporte en la comunicación entre los X homólogos (Migeon, 2007).

### 3.3.1. Inactivación del cromosoma X.

La inactivación comienza aproximadamente en el día 6 d.p.c. en embriones femeninos, la elección del cromosoma a inactivar se da al azar, es decir, ambos cromosomas tiene el mismo porcentaje de oportunidad para ser silenciados, generando de esta forma que las mujeres sean “mosaicos” (Kalantry, 2011).

Elegido el cromosoma a inactivar, se transcribe al RNA no codificante, el cual es esencial para iniciar y propagar el estado inactivo en el cromosoma, cuando se activa su función, cubre al cromosoma X. Sin embargo, estudios recientes sugieren la presencia de elementos LINEs, los cuales tienen una alta densidad en el cromosoma X, sugiriendo que su posible función sería promover y expandir la función de Xist (Pontier y Gribnau, 2011).

Después de la formación de la “capa” se forma un compartimiento represivo, el cual “guarda” al RNA Pol II y otros factores de transcripción. Es decir, la alta densidad de LINEs provee al cromosoma X un ambiente para la generación del compartimiento nuclear, así como, la heterocromatización de los genes. También intervienen SAF-A/SATB1, las cuales contribuyen a la formación del compartimiento nuclear para el silenciamiento del cromosoma, el cual es independiente del DNA; expresándose en conjunto con Xist (al inicio de la inactivación) permitiendo así el evento de silenciamiento. (Pontier y Gribnau, 2011).

Inmediatamente comienzan las modificaciones de histonas, los cuales son cambios en la estructura de la cromatina la cual pasa de estado de transcripción activo a uno

inactivo; a este proceso se le denomina **heterocromatización**, la cual es inducida por Xist para silenciar al cromosoma X.

### 3.3.2. Otros elementos que intervienen en la inactivación.

- ⊗ PCR2 (policomb represivo complejo 2): es reclutado por Xist para el evento de inactivación, se compone de las subunidades SUZ12, EED y EZH2. Su función es trimetilar a lisina 27 de la histona 3 (H3K27me3). Debido a que su función es cooperar con el mantenimiento de la inactivación, aún en su ausencia PCR1 seguiría con el proceso de silenciamiento (Pontier y Gribnau, 2011; Lucchesi y cols., 2005).
- ⊗ PCR1 (policomb represivo complejo 1): las proteínas de esta son H2A ubiquitina ligasa y los productos Rnf2/Ring1b, se encargan de incrementar la presencia de la histona H2A monoubiquitinada, es decir, contribuyendo a mantener la inactivación mediante la metilación de H3K9 y H3K27 (Lucchesi y cols., 2005).
- ⊗ Rnf12: codifica proteínas que estimulan la expresión de Xist, de forma dosis-dependiente. Actúa de manera *trans* y activa Xist en ambos cromosomas pero, una vez iniciado la inactivación, este es silenciado de forma *cis*. En estudios con ratones se ha observado que en ausencia de Rnf12, genera letalidad, debido a que los embriones son incapaces de mantener la inactivación (Pontier y Gribnau, 2011).
- ⊗ SmcHD1: en mutaciones de este gen, genera defectos en placenta y embrión y mueren. Se ha sugerido que su función es el mantenimiento de la inactivación y de la hipermetilación de las islas de CpG (Hasegawa, 2010).
- ⊗ Macro H2A: tiene un dominio similar al H2A fusionado a una región larga no-histona. Reprime la función de RNA Pol II, y además se ha observado que está en

una alta concentración durante la fase S, sugiriendo que puede ser un mecanismo para asegurar el estado inactivo (Escamilla y cols., 2011).

- Ⓢ CpG (islas dinucleótidos CG): la metilación de estos nucleótidos crea una marca epigenética, la cual regula la expresión de los genes a través del cromosoma. Es decir, se transmite desde la primera célula metilada a toda su progenie, siendo el mecanismo de transmitir y mantener el estado inactivo, el cual se da en la mayoría de los animales.
- Ⓢ DNA metilación: es un evento considerado importante, para la inactivación y mantenimiento del estado silente. Debido a la actividad de las DNA-metiltransferasas, las cuales reconocen y metilan los sitios CpG durante la replicación. A pesar, de que el mecanismo de la DNA metilación aún no está totalmente explicado, es una marca que juega un papel importante en el mantenimiento del estado inactivo en las células somáticas de los mamíferos (Escamilla y cols., 2011).

#### 3.4. Inactivación del cromosoma X en tejidos extraembrionarios.

En algunos casos la elección del cromosoma X activo depende del origen parental de este. Los estudios han revelado que el cromosoma X maternal en tejidos y tejidos placentarios, es el que se mantiene siempre activo (marsupiales, bovinos, ratones) y el que se inactiva es de origen paterno (Migeon, 2007).

La primera señal de inactivación del cromosoma X, inicia con la expresión de Xist-RNA dada por el X paterno, lo cual comienza en la etapa pre-implantacional (Payer y cols., 2011).

La segunda etapa, en el día 4.5 se reactiva al X paterno en las células de la masa interna y mantiene el proceso de inactivación en el trofoectodermo (contribuye a la formación de las capas de trofoblásticos de la placenta) y en el primitivo ectodermo.

En los estudios recientes revelan que el silenciamiento de un X marcado es un hecho más de tipo *novo*, que ser heredado a través de la línea germinal paterna. A través de un estudio independiente se demostró, que el cromosoma X de origen paterno se mantiene activo hasta la etapa celular 2 y gradualmente se inactivan durante el desarrollo de la preimplantación. Asimismo se ha observado que el cromosoma de origen paterno tiene un trato diferente en sus zonas LINEs y SINEs, es decir, los elementos repetitivos ligados al X son preinactivados y heredados a través de la línea paterna, a pesar de que el silenciamiento es de tipo *novo*. Lo cual sugiere que los eventos dados del lado paternal sirven para la inactivación del X marcado mientras que, el modelo de *novo* favorecería el lado maternal, aludiendo que ambos contribuirían a establecer la inactivación de cromosoma X en el embrión (Payer y cols., 2011).

A pesar de que ciertos estudios sugieran que en los humanos la inactivación comienza en estadios tempranos del desarrollo fetal, aún se sigue investigando el mecanismo de silenciamiento tanto en tejidos embrionarios como en tejidos extraembrionarios.

### 3.5. Genes que escapan de la inactivación.

La mayor parte de los genes ligados al X son silenciados, y cerca del 15 % de los genes del cromosoma logran escapar de la inactivación, siendo que algunos se encuentran en el brazo corto y unos pocos en la zona del brazo largo.

Los genes ligados al cromosoma X son de tres clases:

- ④ Genes localizados en la región pseudoautosómica, los cuales son transcritos por ambos cromosomas sexuales, por ejemplo: PAR1.
- ④ Genes localizados fuera de la región pseudoautosómica tanto del brazo pequeño como del largo. Las copias de estos genes tienen copias relacionadas en el cromosoma Y, por lo tanto hombres y mujeres tienen las dos copias activas.

- ⊙ Genes localizados fuera de la región pseudoautosómica del X y que *no* tienen una copia en el cromosoma Y, por ejemplo: el gen de sulfatasa de esteroides (Nussbaum, 2008).

La mayor parte de los genes que escapan, pierden su copia correspondiente en el cromosoma Y. Esto sugiere que el establecimiento de la inactivación puede atrasar la degeneración de Y, o podría ser un mecanismo para mantener la expresión de ciertos genes del cromosoma inactivo como resultado de ventajas selectivas.

El hecho de que la mayoría de los genes se encuentren en el brazo p, la posible causa sea que recientemente estos genes de manera evolutiva perdieron a su homólogo en el cromosoma Y (Berletch y cols., 2010).

Como ya se ha mencionado la presencia de LINEs, podría servir como factor para la propagación de la inactivación (Chow y cols., 2010), siendo observado que estos genes tienen poca presencia de elementos LINEs; sin embargo, están enriquecidos con secuencias Alu (Berletch y cols., 2011).

Además, se ha observado la presencia de áreas discretas que “escapan de la heterocromatización” sugiriendo la presencia de elementos de unión, es decir, como secuencias aislantes; que bloquean la expansión de la heterocromatina. El dominio CTCF (Factor CCCTC-ligando) ha sido identificado entre los genes que escapan y las regiones inactivadas, considerando que juega un papel importante para facilitar el escape, evitando la propagación de la inactivación (Chow y cols., 2010; Berletch y cols., 2010).

## 4. CROMOSOMOPATÍAS DEL CROMOSOMA X

Las anormalidades cromosómicas, pueden ser numéricas o estructurales, y pueden estar presentes en todas las células o en forma de mosaico. Asimismo, son uno de los factores importantes en la morbilidad y mortalidad, durante el período perinatal. Ciertas anomalías permiten la supervivencia del producto pero, causando un retraso en el desarrollo mental y motor.

En México, con mayor frecuencia se presentan las alteraciones de los cromosomas sexuales (3.9%), seguido de las trisomías de los autosomas 13, 18 y 21 (1.4%) (Aguinaga y cols., 2005).

### 4.1. Síndrome de Turner y variantes.

El síndrome de Turner (ST) fue descrito por primera vez en 1938 por Henry Turner, observado en un grupo de mujeres que presentaban características de infantilismo sexual, talla baja, cuello alado. En 1958, Ford realizó el primer análisis cromosómico en pacientes con ST, comprobando que presentaban un cariotipo de 45, X (Albisu, 2001; Mendoza, 2009).

El ST a nivel mundial tiene una incidencia de 1:4000 nacidos vivos. En el año 2005, en México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía estimó que existían aproximadamente 26,500 casos de ST. Además, en el período de 1998-2008 se reportaron 64 defunciones, siendo el 63 % de individuos menores de 1 año (CENSIA, 2009). Se estima que cerca del 99% de las concepciones con cariotipo 45, X resultan en aborto espontáneo, durante el primer trimestre (Gersen, 2005).

El ST es causado por la pérdida total de un cromosoma sexual (X o Y) o una porción del cromosoma X, ya sea, durante la gametogénesis parental o en el desarrollo embrionario (Davenport, 2010).

El síndrome presenta letalidad en el primer trimestre del embarazo. Esto puede deberse a un defecto en la diferenciación de la placenta, apoyándose en el hecho de una sobreexpresión de genes en células con 46, XX que en aquellas con 45, X (Urbach y Benvenisty, 2009; Berletch y cols., 2010).

De entre los genes de PAR1 (los cuales escapan de la inactivación) que codifican proteínas involucradas en varios procesos entre ellos, en la dentadura y estatura, en esta última es expresada por el gen SHOX (Short stature Homeobox). El gen es el causante de la baja estatura, debido a la pérdida de su homólogo, ya sea por una anomalía estructural o numérica, asimismo, ha sido relacionado con otros padecimientos (Urbach y Benvenisty, 2009; Davenport, 2010). También se ha observado que la deficiencia de SHOX en mujeres es más alta en comparación con los hombres.

La posible explicación sería: que la delección de SHOX en cromosoma X es más frecuente en comparación con su homólogo en Y, indicando que el gen tiene más probabilidades de ser eliminado en X que en Y (Binder, 2011).

Asimismo, se caracteriza por una amplia variación en los cariotipos, siendo la más frecuente la monosomía (45, X) en 50% de los casos; otras variedades incluyen: inversiones, anillos, delecciones, duplicaciones, mosaicos, entre otros (Saldarriaga y cols., 2011). Debido a estas variaciones, se hace difícil la identificación de los genes involucrados que causan el fenotipo del síndrome. Además, los genes *imprinted* ligados al X, muestran diferencias de su expresión entre hombres y mujeres; por esta razón el cromosoma X en pacientes con 45, X, es de origen materno en 70-80% de los casos (Yang y cols., 2011).

Del mismo modo, las diferencias clínicas varían dependiendo del cariotipo de cada paciente. Por ejemplo: pacientes que presenten un isocromosoma en Xq, su fenotipo será muy similar a aquellos con 45, X. Pacientes con delección en Xp presentarán malformaciones congénitas y estatura corta; a diferencia de aquellas que presenten delección en Xq, que suelen tener disfunción gonadal (Galan, 2010).

El ST presenta ciertas características clínicas clásicas como son: talla baja, linfedema de manos y pies, cuello alado, línea de implantación del cabello baja en el cuello, cúbito valgo.

Otras características son: paladar angosto con arco elevado, tórax ancho con amplio espacio entre los pezones, displasia de uñas, amenorrea, infertilidad, orejas deformes, defectos cardíacos, problemas de aprendizaje, entre otros (Morgan, 2007; Galán, 2010).

#### 4.1.1. Diagnóstico

El diagnóstico es considerado cuando durante el ultrasonido, se observe al feto con presencia de hidropesía, higroma cístico o linfedema. Una prueba prenatal para confirmar la presencia de ST, es la realización de un análisis de cariotipo: amniocentesis (3-4 semanas) o vellosidades coriónicas (7-10 días), aunque si se desea un resultado urgente, se realizaría la técnica de FISH específico-X, la cual confirma en aproximadamente 24 horas (Morgan, 2007).

Además, existe la posibilidad de que sea durante la niñez y la adolescencia cuando se realice el diagnóstico. Aparte de realizar un examen enfocado en buscar los signos clásicos del ST, también se debe de observar si existe desarrollo anormal de los caracteres sexuales secundarios y/o signos de androgenización. Asimismo, se realiza un análisis cromosómico con tejido sanguíneo o si existe sospecha de un posible mosaico, tomar muestra de piel (Síndrome de Turner: Una guía para familias, 2005).

Sin embargo, para dar positivo a ST, se debe analizar 30-células del cariotipo y tener al menos la mitad de estas para confirmar 45, X; o 20-30% para considerar el mosaico. Asimismo, se debe de realizar estudios moleculares para descartar presencia del cromosoma Y o material de este, porque cuando está presente, incrementa de 7-10% el riesgo de padecer gonadoblastoma y desgerminoma en la glándula disgenésica (Davenport, 2010).

#### 4.1.2. Tratamiento

Teniendo un diagnóstico confirmado, los pacientes deben de iniciar lo más pronto posible el tratamiento, así como la valoración y el seguimiento periódico; y dependiendo de la edad se sugiere lo siguiente:

- ❖ Apoyo psicológico
- ❖ Tratamiento hormonal, como ayuda para desarrollar los caracteres sexuales secundarios.
- ❖ Tratamiento con hormona del crecimiento (GH)
- ❖ Vigilar dieta y control de peso, a fin de evitar obesidad en el paciente.
- ❖ Chequeo de nivel de glucosa tanto en sangre como orina, para descartar la enfermedad de diabetes mellitus.
- ❖ Si el paciente presentara existencia de cromosoma Y, se extirparía la glándula disgenésicas, debido al riesgo de desarrollar gonablastoma (Galán, 2010).

### 4.2. Trisomía y polisomía del cromosoma X.

#### 4.2.1. Trisomía del X.

En 1959, se describió como la “supermujer” por Jacobs y colaboradores, quienes observaron el caso de una mujer de 35 años con habilidades normales pero, presentando amenorrea secundaria a los 19 años. (Hall y cols., 2006; Tartaglia y cols., 2010).

Tiene una incidencia de 1 en 1,000 mujeres nacidas vivas, siendo que aproximadamente el 10 % de los casos son diagnosticados. El cariotipo más frecuente es 47, XXX, aunque también ocurren mosaicos en un 10% de los casos y las combinaciones pueden ser: 47, XXX/48, XXXX; 46, XX/47, XXX; o con Síndrome de Turner: 45, X/47, XXX; 45, X/46, XX/47, XXX.

La trisomía se origina por una no disyunción en meiosis I materna (58-63%), en meiosis II paterna (16-17.4%) o post-cigótico (18-19.6%).

Debido a la presencia de 3 cromosomas X, genera una variabilidad en el fenotipo. Lo cual puede deberse a la inactivación de dos cromosomas X, causando un mosaico en los tejidos; aunque también se presume a una sobreexpresión de los genes que escapan de la inactivación. Por ejemplo: SHOX, el cual sería el generador de la alta estatura (Goldschmidt y cols., 2010; Tartaglia y cols., 2010).

El síndrome presenta dificultades de estudio, debido a que, las características fenotípicas “escapan” del diagnóstico y, las fases tempranas de la ovogénesis suceden en el ovario fetal, limitando la posibilidad de investigar más sobre éste (Hall, 2006).

Las características clínicas más “frecuentes”:

- ✱ Las mujeres son 50% más altas que el promedio.
- ✱ La cabeza es relativamente más pequeña.
- ✱ El coeficiente intelectual es relativamente más bajo que el normal.

En la tabla 4 se describen algunas de las características observadas en diferentes edades, en pacientes con la trisomía X.

Tabla 4. Crecimiento y desarrollo en pacientes con trisomía X (Modificada de Otter y cols., 2010).

|  | Niñas < 6 años  | Niñas en edad escolar   | Adolescentes  | Adolescentes y mujeres adultas  |
|--|---|---|---|---|
| <b>Crecimiento físico</b>                      | Edad materna: 33 años<br>Peso al nacer: 400-500 gr.<br>Apariencia al nacer: normal<br>Circunferencia de la cabeza: 50% por debajo de lo normal.<br>Altura: 50% por encima del promedio. | Crecimiento acelerado entre los 4-8 años.<br>Altura es superior al 75%<br>La longitud de piernas aumenta.<br>El incremento de peso es menor en comparación con la estatura.<br>Edad ósea por debajo del normal. | Diferencias en los casos  | No hay información.   |
| <b>Desarrollo motriz</b>                       | Puede estar retrasado   | Problemas de integración sensorial - visual - motriz.   | Desarrollo motriz fino y grueso, por debajo de lo normal.   | Problemas de coordinación.  |
| <b>Desarrollo intelectual</b>                  |   | CI verbal: 69.6% por debajo del 90.<br>Rendimiento CI: 41.2% por debajo del 90.   | CI verbal: 86.63 (19.01 puntos por debajo de los controles)<br>CI rendimiento: 95.19 (14.41 puntos por debajo de los controles) | CI en los adultos se encuentra en el mismo rango.                       |
| <b>Lenguaje receptivo y expresivo</b>          | Retraso en la mitad de los casos.   | En 75% de los casos, dificultad en el lenguaje.   | Escasas habilidades del lenguaje.   | Continúan los problemas de lenguaje.                                    |
| <b>Desarrollo social y del comportamiento.</b> | En la mitad de los casos muestran rabietas.   | Dificultad en la formación de relaciones interpersonales.   | Problemas en el comportamiento.   | En algunos casos se observa dificultad en establecer relaciones.        |
| <b>Desarrollo educativo</b>                    |   | En la mayoría de los casos presentan problemas educativos.  | En la mayoría de los casos presentan problemas educativos.  | Después de salir de la escuela, los pacientes se sienten más relajados. |

Sin embargo, existen casos que reportan otras anomalías:

- ✿ Disgenesia gonadal.
- ✿ Anomalía genitourinaria.
- ✿ Malformaciones ováricas.

- \* Defectos congénitos del corazón.
- \* Falla prematura de ovario.
- \* Desordenes psiquiátricos.
- \* Fisura labiopalatina.
- \* Pie equinovaro.

La frecuencia del diagnóstico 47, XXX a través de una amniocentesis, es del 0.1% de las niñas recién nacidas, lo cual equivale a su incidencia poblacional. Un diagnóstico postnatal es difícil, porque la mayoría de los casos presentan un fenotipo normal (Hamouda y cols., 2009).

También se hace el estudio FISH, el cual debe de utilizar más de 50 células si existe sospecha de mosaico con síndrome de Turner.

Asimismo, se realizan estudios clínicos los cuales son necesarios para establecer los aspectos psicológicos y demás discapacidades, de esta forma guían a la familia como a los educadores y a los doctores, para ofrecer el mejor apoyo a los pacientes (Tartaglia y cols., 2010).

#### 4.2.2. Polisomía X

Las variantes con un cromosoma adicional pueden ser 48, XXXX; 49, XXXXX.

El cariotipo 48, XXXX existen aproximadamente 50 casos descritos, primer cariotipo presenta un CI 30-75, un hipertelorismo leve, mandíbula inferior anormalmente pequeña, los adultos son de estatura alta. Tienen un retraso en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, en algunos casos presentan disgenesia gonadal, la fertilidad es mínima, aunque en algunos pacientes se presenta de forma normal. Hay ausencias de descripción de comportamiento de estos pacientes. Sin embargo, en los pocos casos estudiados se observa, dificultad en la integración social; sugiriendo que las alteraciones de conducta podrían ser un rasgo fenotípico en la tetrasomía X (Gersen y Keagle, 2005; Rodado y cols., 2010).

El primer caso de pentasomía X, fue descrito en 1963, desde entonces se han reportado 30 casos. La condición presenta microcefalia, estatura corta, características físicas similares a los pacientes con Síndrome de Down. También presentan anomalías congénitas del corazón y renales, tienen CI 20-75, son pacientes muy tímidos. El mecanismo más probable es la no disyunción en las meiosis materna, produciendo un ovulo con 4 X, esta hipótesis ha sido apoyada por un análisis molecular de marcadores polimórficos al cromosoma X. Debido a que poseen características similares al Síndrome de Down, se requiere de un análisis cromosómico para diagnosticarlo (Gersen y Keagle, 2005; Cho y cols., 2004).

## 5. GENES LIGADOS AL CROMOSOMA X

La elaboración de un mapa genómico, tanto del humano como de otros organismos, se ha abordado a lo largo del tiempo en varias etapas consecutivas, a niveles crecientes de resolución. Además, ha sido necesario desarrollar técnicas informáticas para recoger, almacenar, distribuir y analizar el creciente volumen de datos obtenidos. (Luque, 2001).

### 5.1. Mapa Génico del cromosoma X

El proyecto del Genoma Humano, ha secuenciado a la mayor parte de las bases del genoma pero, la obtención de éste, se logró a través de la construcción de mapas genéticos y mapas físicos.

El mapeo de los genes supone conocer los *loci* de todos los genes, así como las posiciones relativas y su distancia entre ellos. La información obtenida de estos mapas, ayudan al diagnóstico de enfermedades, aunque también son utilizados para identificar los genes involucrados en las enfermedades genéticas (Oliva, 2008).

La realización de un mapa génico puede llevarse a cabo de formas: mapeo físico o por mapeo genético; el primero sitúa a los genes a determinadas distancias a lo largo del cromosoma, utilizando como medida a las unidades de pares de bases.

Mientras que, el mapeo genético determina la distancia entre los genes, basándose en la medición de la frecuencia con que los genes permaneces juntos (ligados) a través de la meiosis y pasando de generación en generación. Es por esta razón que también se le conoce como análisis de ligamiento.

Thomas Hunt Morgan en 1911, a través de sus investigaciones con *Drosophila melanogaster*, sugiere que existe una correlación entre la mutación "White" y el

cromosoma X. De esta forma, relacionó el ligamiento con la segregación de los cromosomas homólogos y el entrecruzamiento de estos durante la meiosis (Gardner y cols., 2005).

De esta forma su alumno Alfred H. Sturtevant, dedujo que entre “más lejanos se encuentren dos genes mayor es la probabilidad de que se produzcan entrecruzamientos y, por consiguiente mayor será la frecuencia de recombinación”; elaborando de esta manera el primer mapa genético del cromosoma X de *Drosophila melanogaster*, de esta forma, sentó la base metodológica para el análisis de ligamiento genético (Campbell, 2007).

El análisis de ligamiento genético, consiste en estudiar la segregación de las enfermedades en grandes familias, para determinar aquellos genes que muestren ligamiento al pasar de generación en generación. Este tipo de análisis, utiliza marcadores genéticos, los cuales serían aquellas características que son segregadas junto con la enfermedad. Asimismo, la distancia genética se mide en la unidad denominada centiMorgan (cM), esta se define como el 1% de frecuencia de recombinación (Gardner, 2005; Strachan y Read, 2010).

En 1964, Victor McKusick en su una monografía *On the X Chromosome of Man*, la cual era una integración de las enfermedades ligadas al cromosoma X. Este trabajo fue la base para que en 1966, iniciará la publicación del catálogo *Mendelian Inheritance in Man* (MIM) el cual contenía los detalles de todas las enfermedades ligadas al cromosoma X conocidas hasta ese momento, y ha sido actualizada desde 1973 (Harper, 2011).

De esta forma, se ha ido conociendo más detalladamente los desórdenes genéticos ligados al cromosoma X, así como la localización de los genes.

Además, desde 1995 esta base de datos ha estado disponible en línea, siendo conocida como OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) la cual se puede acceder a través del sitio NCBI.

Figura 10. Desórdenes asignados a regiones específicas del cromosoma X (Modificada de Human Genome Project information, 2011).



## 5.2. Enfermedades ligadas al cromosoma X

A partir, de los estudios clínicos de familias se observó que algunas enfermedades presentaban ciertas características de herencia, las cuales eran ligadas al cromosoma X. Los hombres al ser hemicigotos para el cromosoma X, son los que expresan la enfermedad.

De tal modo, que la expresividad en las mujeres es variable, primero por poseer dos cromosomas X y segundo, debido al proceso de la inactivación; entendiéndose de esta manera que la herencia ligada al sexo puede ser dominante o recesiva (Oliva, 2008).

Sin embargo, no todos los genes del cromosoma X, intervienen en el proceso de determinación sexual sino que, algunos de sus alelos influyen en las características de los humanos. Observándose que algunos genes del cromosoma X sufrían mutación y generando enfermedades; las cuales no seguían el patrón de herencia dominante o recesiva. Así, la existencia de este tipo de enfermedades dio pauta para comprender mecanismos moleculares genéticos.

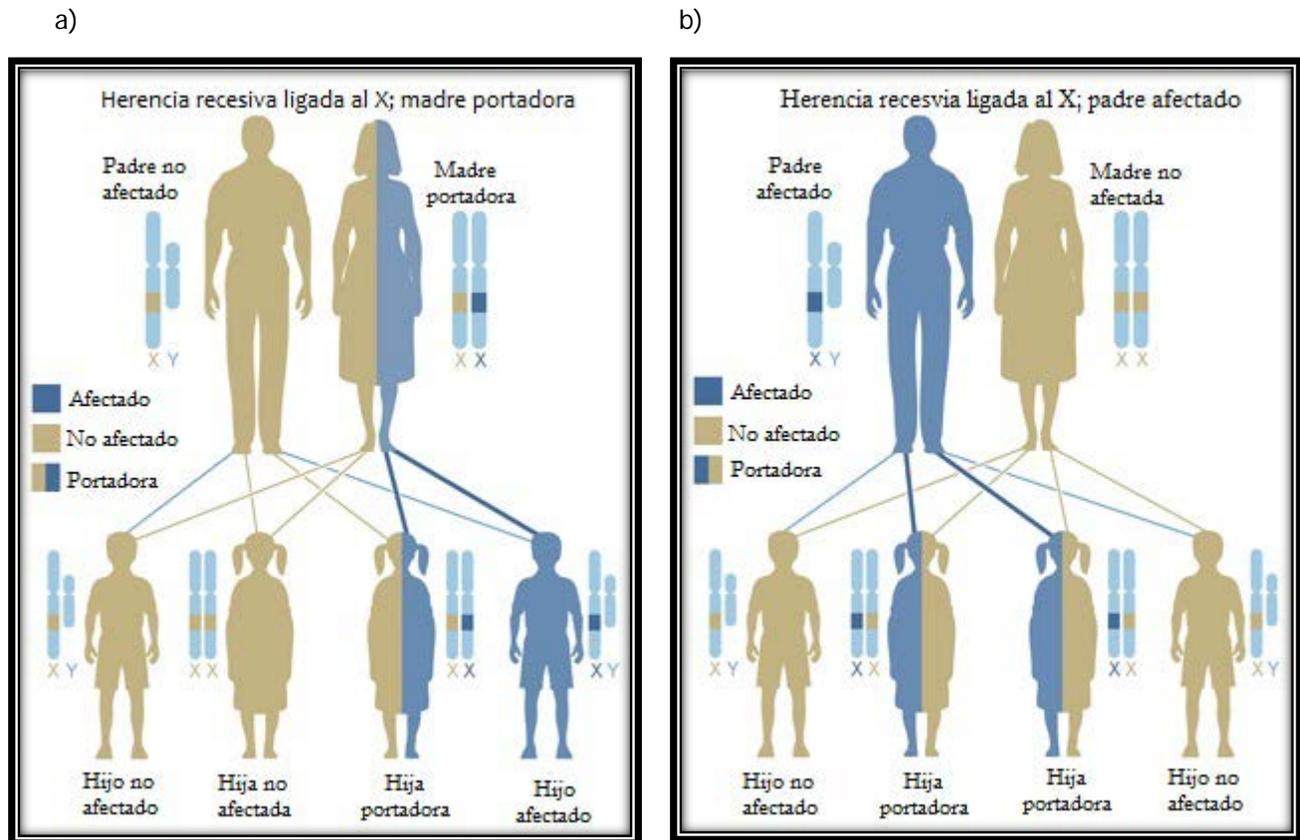
### 5.2.1. Herencia Recesiva

La herencia recesiva ligada al cromosoma X tiene las siguientes características:

- ✿ En general, sólo se encuentran afectados los varones.
- ✿ La transmisión se realiza a través de heterocigotas, si el producto es varón tendrá 50% de posibilidades de estar sano o afectado; si es mujer, la posibilidad de ser portadora o sana será del 50%.
- ✿ Todos los hijos de un varón afectado serán sanos y todas sus hijas serán portadoras.
- ✿ No hay transmisión de varón a varón (Guizar-Vazquez, 2001).

En la figura 11 se muestra las posibles combinaciones en la herencia recesiva: de una mujer portadora con un varón no afectado o de un varón afectado por un gen recesivo con una mujer sana.

Figura 11. a) Herencia recesiva por mujeres portadoras; b) Herencia recesiva por hombres afectados (Genetic Home Reference, 2011).



El hecho de que los hombres son hemicígotos, es una razón para que expresen la enfermedad, a diferencia de las mujeres. Asimismo, sólo en las aquellas pacientes que sean homocigotas para el alelo mutado podrían presentar la enfermedad (Armienta, 2004).

Actualmente se conocen un gran número de enfermedades con este patrón de herencia recesiva. De entre las enfermedades a describir se encuentran: Hemofilias A/B, Distrofias Musculares (DMD y DMB), deficiencia de la glucosa 6- fosfatasa deshidrogenasa y Adrenoleucodistrofia; éstas son enfermedades que dieron pauta al entendimiento de la herencia ligada al cromosoma X.

También se mencionan otras enfermedades que a pesar, de tener una incidencia relativamente baja a nivel mundial, han aportado información sobre el funcionamiento enzimático o proteico; por ejemplo: síndrome de Fabry, síndrome de Hunter, síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Menkes, síndrome de Wiskott-Aldrich.

#### 5.2.1.1. Hemofilias tipo A y tipo B.

La hemofilia es conocida como la enfermedad de la familia real. La reina Victoria, en 1853, tuvo su octavo hijo, Leopold, con evidentes rasgos de hemofilia, reportados en la revista *British Medical Journal* en 1868. El alelo de la enfermedad pudo deberse a una mutación espontánea durante el desarrollo de la Reina Victoria o durante su embarazo. Aunque, también se propone que pudo deberse al amante de la mamá de Victoria; Alexis el último hijo del zar de Rusia, heredó el alelo de la hemofilia, el cual provenía de la Reina Victoria, es decir, la abuela de su madre (Griffits, 2008).

La hemofilia es una deficiencia de los factores de coagulación de la sangre. Estos factores son Factor VIII y el Factor IX; ambos factores generan hemofilias de herencia recesiva ligados al X (Manucci, 2002).

La incidencia a nivel mundial en el caso de Hemofilia A es de 1:10,000 hombres, en cuanto la enfermedad de Christmas es de 1:40, 000 habitantes. En México, de acuerdo a las cifras reportadas por la Federación de Hemofilia de la República Mexicana, hasta Enero de 2010, se tenían reportados 4,533 pacientes con este tipo de padecimiento (Federación de Hemofilia Mexicana de la República Mexicana, 2011).

La hemofilia A (HA) está asociada al FVIII, su gen se encuentra en Xq28, posee 186 Kb y tiene una estructura de 26 exones. Cuando sufre una mutación (delecciones e inserciones), los afectados presentan un re-arreglo en el intrón 22; el cual contiene una isla de CpG que es un promotor bidireccional de dos pseudogenes F8A y F8B, el cual es un fragmento de 9.5 Kb repitiéndose tres veces. Conociéndose como una copia intragénica y dos copias extragénicas, la recombinación de estas resulta en la mutación más común con HA más severa.

La hemofilia B (HB) su gen se localiza en Xq27 y da la forma tipo B o Enfermedad de Christmas, este tiene de longitud 34 Kb y se compone de 8 exones, existe una amplia variedad de mutaciones de este gen pero, las más comunes son las puntuales (Bermeo y cols., 2007; De Brasi and Bowen, 2008).

Estos dos factores forman parte de la cascada de coagulación o Hemostasia secundaria.

El factor VIII es sintetizado en las células endoteliales de los vasos sanguíneos, está constituido por dos subunidades distintas enlazadas de manera no covalente: FVIII-Factor von Willebrand. Enlazándose a la superficie fosfolípida de la plaqueta y en su forma activa (FVIIIa) es el co-factor del factor X (FXa).

El factor IX es una glicoproteína monomérica que se sintetiza en el hígado y es dependiente de vitamina K. Este factor se activa por el FXIa en presencia de calcio, se requiere el ión para enlazar al FIX a la superficie fosfolípida, siendo esta reacción de la vía intrínseca; esta vía es la principal para sostener y amplificar la hemostasia. (Mckenzie, 2000).

Los pacientes con HA se clasifican de acuerdo a su forma clínica: moderada, media y severa.

- Pacientes con severa HA: son diagnosticados durante el primer año de nacimiento, presentan hemorragias intracraneales tras el nacimiento. A medida que el paciente crece comienza a observarse con más frecuencia hemorragias en las articulaciones. Las articulaciones son los sitios más comunes de los sangrados espontáneos, también incluyen los riñones, tracto gastrointestinal y el cerebro.
- Pacientes con moderada HA: Generalmente son diagnosticados entre los 5-6 años. Los sangrados espontáneos se presentan rara vez pero, los episodios hemorrágicos pueden deberse por un traumatismo menor.
- Pacientes con media HA: No presentan sangrado espontáneo pero, sin tratamiento las hemorragias pueden ocurrir con extracciones de dientes y

lesiones graves; son diagnosticados hasta la vida adulta debido a una cirugía o a un traumatismo mayor.

Los pacientes con HB presentan el siguiente cuadro clínico:

- ➔ Pacientes con severa HB: Se diagnostican durante los dos primeros años de vida, presentan sangrado espontáneo y sin tratamiento pueden tener episodios de 2-5 por mes.
- ➔ Pacientes con moderada HB: Se diagnostican antes de los 5-6 años, y rara vez presentan sangrados espontáneos. Pero, después de un traumatismo leve tienen una coagulación retardada. La frecuencia de los episodios varían de una vez cada mes a una vez durante el año.
- ➔ Pacientes con leve HB: No tienen episodios de sangrado pero, sin tratamiento pueden presentar hemorragias después de una cirugía y su frecuencia puede ser de una vez al año o hasta cada 10 años (Konkle y cols., 2011).

#### **5.2.1.2. Distrofias Musculares: Distrofia Muscular de Duchenne y Distrofia Muscular de Becker**

Las distrofias musculares son enfermedades del músculo esquelético originadas por defectos genéticos y vinculados con ausencia de determinadas proteínas estructurales y con otras funciones de las fibras musculares, es decir, se caracterizan por debilidad progresiva a atrofia muscular y por la sustitución del músculo por tejido fibro-adiposo (Coral y cols., 2010).

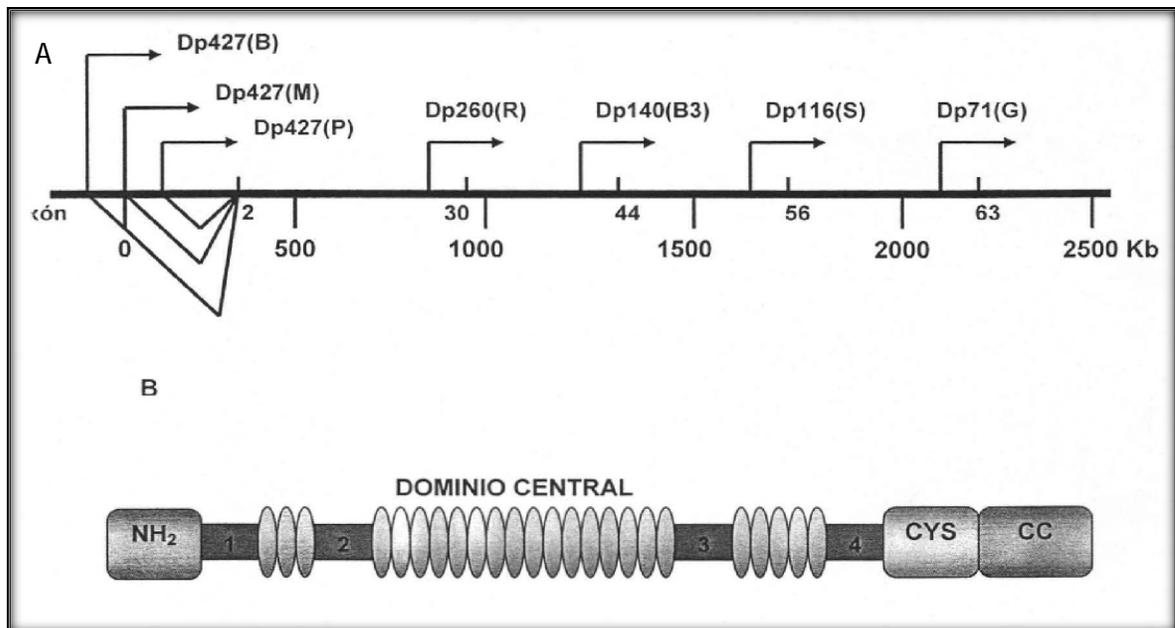
La DMD es la enfermedad hereditaria más común afectando a todas las razas y grupos étnicos, su incidencia es de 1/360,000 varones nacidos vivos. La distrofia muscular de Becker (DMB) es una variante alélica con una incidencia de 1/30,000 varones nacidos vivos. Esta distrofia es menos severa y tiene una tasa de supervivencia más larga (González y cols., 2004; Rochetti y cols., 2011).

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) y la distrofia muscular de Becker (DMB) son enfermedades hereditarias causadas por un defecto en un gen localizado en el cromosoma X, el cual codifica a una proteína llamada distrofina, la cual normalmente

se ubica en la membrana muscular (Doglio y cols., 2011). Sin embargo, en dos tercios de los casos, la enfermedad es transmitida por la madre y el otro tercio es debido a mutaciones de novo (Cammarata y cols., 2008).

En la figura 12 se muestra a el gen responsable de DMD y DMB localizado en Xp21.2, siendo el gen más grande del cromosoma X con 2.2 Mb. Está constituido por 79 exones y 6 promotores, su transcrito es de 14 Kb y codifica a la proteína distrofina o Dp47; la cual se ubica principalmente en músculo esquelético, cardíaco y liso en el ser humano. La proteína se organiza en 4 dominios, la parte N-terminal (246 aminoácidos) de unión a la actina, el dominio central que contiene 4 regiones ricas en prolina con el fin de darle flexibilidad a la proteína, un tercer dominio de cisteína y el dominio COOH-terminal (Hernández, 2005).

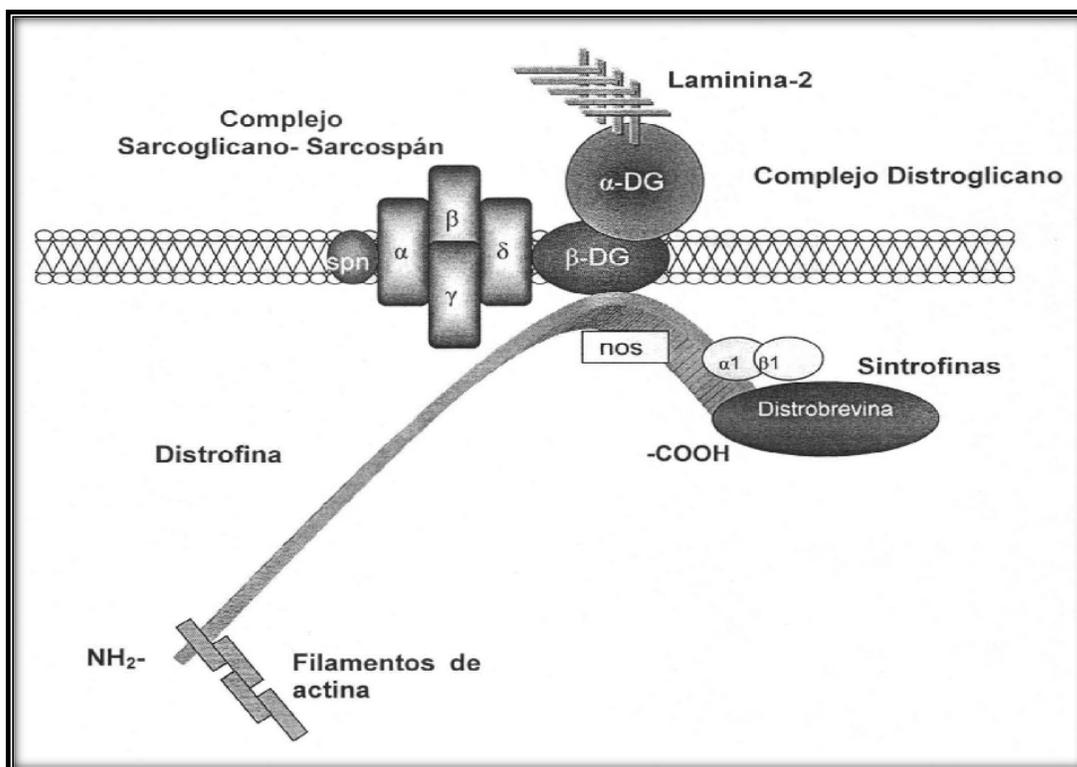
Figura 12. a) Esquema de la estructura del gen DMD, las 3 primeras flechas indican los sitios para la transcripción de la Distrofina, los promotores de la parte media y hacia 3' codifican pequeñas isoformas de la proteína. b) Esquema de la estructura de la proteína distrofina (Hernández, 2005).



El gen posee dos regiones propensas a las deleciones, la primera se encuentra entre los primeros 20 exones y la segunda abarca desde la zona intermedia del gen desde el exón 44 al 52 (en dirección 5' → 3') (González y cols., 2004; Perronet and Vaillend, 2010).

La distrofina es una proteína estructural que se expresa principalmente en el músculo esquelético, consta de 3,685 aminoácidos y vincula el citoesqueleto con la matriz extracelular. Su función radica en brindar soporte y protección a las células musculares durante la contracción, ya que forma parte del complejo multiproteico denominado: DGC (dystrophin glycoprotein complex), véase la figura 13. Cuando la proteína está presente, la distribución de las fuerzas mecánicas se realiza de manera coordinada en las células musculares. En ausencia de distrofina, la célula es susceptible al estrés mecánico, y la filtración anormal del calcio junto con la interacción de otras proteínas, llevan a la destrucción de la fibra muscular.

Figura 13. Esquema del complejo de proteínas asociadas a distrofina (DPC) en el músculo esquelético (Hernández, 2005).



La teoría más aceptada que explica la diferencia entre DMD y DMB es la denominada “hipótesis de marco de lectura”, propuesta por Mónaco y colaboradores en 1988. Establece que las mutaciones en el gen afectan el marco de lectura en el RNA mensajero, generan el fenotipo DMD; mientras que, mutaciones que conciben a transcritos anormales pero que no afectan el marco de lectura, causan el fenotipo DMB. En el 90% de los casos se confirma esta teoría, así mismo esta es la estrategia terapéutica denominada “omisión del exón”, la cual es usada para la corrección molecular de deleciones y duplicaciones en el gen DMD (López y cols., 2009).

En la DMD las manifestaciones clínicas características aparecen antes de los 6 años de edad. Hay debilidad muscular progresiva, deterioro intelectual, y la hipotrofia de las pantorrillas (gemelos).

El signo de Gowers se presenta cuando el paciente apoya las manos sobre los muslos para poder ponerse de pie, este signo puede observarse levemente en los tres primeros años pero, entre los 5-6 años los pacientes lo presentan totalmente.

También presentan contracturas musculares principalmente en piernas y talones, incapacitando al paciente la utilización de los músculos, debido al acortamiento del tejido conjuntivo y a la fibrosis del mismo.

El de 20-30% presenta un leve retardo mental, y en estados avanzados presentan miocardiopatía. La afectación en el sistema respiratorio se manifiesta con debilidad e ineficacia de la tos, infecciones pulmonares recurrentes, y disminuye la reserva respiratoria. La debilidad faríngea puede provocar episodios de aspiración, regurgitación nasal de líquidos y voz tipo nasal. La mayoría de los pacientes de entre 12-15 años necesitan silla de ruedas, y suelen fallecer alrededor de los 20 años debido a complicaciones cardíacas o respiratorias (Baumgartner y Argüello, 2008; Rochetti y cols., 2011).

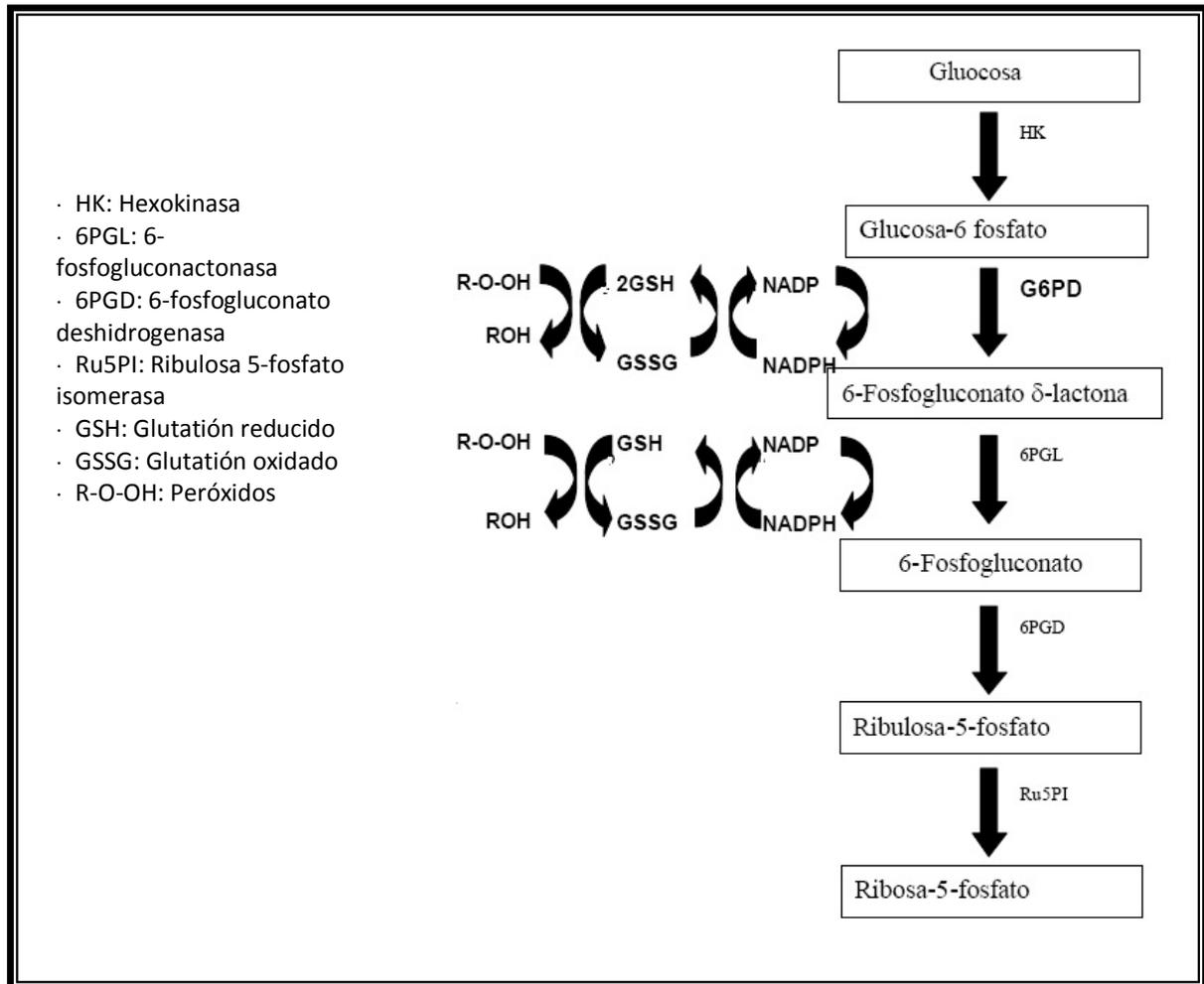
En la DMB tiene una evolución más lenta y las manifestaciones se presentan entre los 5-15 años pero, las características clínicas son similares. Además, en la mayoría de los

casos presentan afectación del miocardio, la cual tiene un papel determinante en la supervivencia de los pacientes (Baumgartner y Argüello, 2008; Roque y cols., 2011).

#### 5.2.1.3. Deficiencia de glucosa 6-fosfatasa deshidrogenasa

Los eritrocitos maduros están desprovistos de maquinaria celular para la obtención de energía y sintetizar lo que necesitan; ellos ocupan la energía proveniente de la degradación de la glucosa. Además, necesita preservar otras proteínas y evitar el daño oxidativo que pueda sufrir la hemoglobina, para sobrevivir 120 días y cumplir su función como transportador de oxígeno. Por esta razón tiene varias vías metabólicas, entre estas se encuentra la de la pentosa, de la cual su enzima es la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Esta provee de NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato reducido) al eritrocito, con el fin de disminuir el estrés oxidativo; es por esta razón que los eritrocitos dependen del suministro metabólico de la forma reducida de NADP (NADPH+H<sup>+</sup>). En la figura 14, se observa la vía metabólica de las pentosas y muestra que en la primera reacción es de glucosa 6- fosfato a ácido 6-fosfogluconico siendo catalizada por la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y seguido de la conversión de este intermediario a ribulosa 5-fosfato; en ambas el NADP es reducido (Bonilla y cols., 2007; Carmona y cols., 2008; Eandi y cols., 2011).

Figura 14. Vía metabólica de las pentosas (Bonilla y cols., 2007).



La enzima es codificada por el gen G6PD y se ubica en Xq2.8 y tiene un tamaño de 18.5 Kb, su región codificante comprende 12 segmentos. El peso de la enzima es de aproximadamente 60KDa. Las mutaciones del gen se extienden a lo largo de este, son muy pocas que dan la forma más severa de la deficiencia de G6PD.

Está presente en varios procesos celulares, en donde radica su importancia, entre estos está:

- Desarrollo temprano del embrión.- si hay deficiencia severa de la enzima en los tejidos extraembrionarios, el desarrollo de la placenta se detiene y se produce muerte del embrión.
- Supervivencia del feto durante la transición de hemoglobina fetal a la forma adulta; la enzima impide el daño oxidativo debido a la generación de especies reactivas de oxígeno a partir de la hemoglobina adulta.

La mayoría de los genes para reducir el riesgo contra infecciones como la malaria, se expresan en el eritrocito, lo cual es considerado como un mecanismo genético de defensa.

La deficiencia de G6PD se identificó en 1954, y es la enzimopatía más frecuente y el quinto defecto metabólico más común a nivel mundial, afectando a más de 400 millones de personas.

Su distribución es similar a la del paludismo, prevaleciendo más sobre África, Asia, el Mediterráneo y medio Oriente pero, por las corrientes migratorias se le encuentra en todo el mundo (Eandi y cols., 2011).

La frecuencia masculina a nivel mundial es variable: África 0-28%, Asia 1-19%, Europa 1-35%, Estados Unidos de América 7-17% en la población afroamericana, Venezuela 2-12%, Islas del Caribe 0-13%, Brasil 1.7-10%, Colombia, Chile, México y Perú de 0 a muy baja frecuencia (Carmona y cols., 2011).

La hemólisis de eritrocitos deficientes ocurre como consecuencia en el aumento en la susceptibilidad al daño oxidativo, a consecuencia de las células para reducir de manera normal NADP a NADPH. La deficiencia de la enzima se debe a varios tipos de cambios genético como: deleciones, mutaciones puntuales, afectación en la transcripción, estructura primaria de la enzima, conllevando en la disminución de la actividad de la G6PD.

Debido a la variabilidad que presenta se han agrupado en 5 clases:

- ▶ Clase 1: Deficiencia de la enzima con anemia crónica hemolítica no esferocítica (CNSHA). Es secundaria a mutaciones puntuales, las cuales están ubicadas cerca del extremo del carboxi-terminal, entre los aminoácidos 362-446 donde se encuentran los sitios de unión de NADP o NADPH y el sitio de unión de la enzima. Se han descrito 97 variantes, siendo apenas una polimórfica.
- ▶ Clase 2: Deficiencia enzimática severa (menos del 10%, forma mediterránea) y anemia hemolítica aguda, con 122 variantes (Mediterránea y Unión) de las cuales 37 son polimórficas.
- ▶ Clase 3: Deficiencia enzimática moderada (10-60%, forma africana), 103 variantes, siendo 22 polimórficas (variantes Africana o A-, Canton y Seattle).
- ▶ Clase 4: Deficiencia enzimática leve o ausente (60%-100%) con 52 variantes y con 12 polimórficas (Variante A).
- ▶ Clase 5: Actividad enzimática por encima de lo normal. Dos variantes y ninguna polimórfica (variante Verona).

Los pacientes que cursan con la deficiencia de la enzima son usualmente asintomáticos y sólo manifiestan la enfermedad cuando ingieren drogas o químicos que desencadenan la hemólisis masiva interna (Fonseca y cols., 2005; Bonilla y cols., 2007).

La anemia hemolítica aguda inicia aproximadamente desde horas hasta aproximadamente 3 días después de haber sufrido el estrés oxidativo y finaliza cuando se han hemolizado todos los eritrocitos deficientes de la enzima, es decir, hasta 4-7 días después del estrés. Esta puede ser causada por infecciones o consumo de habas. La lista de los fármacos a evitarse en personas con G6PD de clase I, II y III incluye: dapsona, flutamida, mafenida, azul de metileno, ácido nalidíxico, nitrofurantoina, fenazopiridina, primaquina, sulfametoxazol, sulfanilamida, sulfacetamida y rasburicase (Ramírez y Zarante, 2009).

Anemia hemolítica crónica no esferocítica: las variantes de la clase I se caracterizan por esta manifestación. La hemólisis es sólo parcialmente intravascular y puede ser acompañada de cálculos biliares y esplenomegalia. Empero existe una variedad en sus manifestaciones clínicas (Fonseca y cols., 2005).

#### 5.2.1.4. Adrenoleucodistrofia

La adrenoleucodistrofia (ALD) ligada al cromosoma X es una enfermedad peroxisomal, en la cual hay incapacidad de degradar los ácidos grasos de cadena muy larga (AGCML), como producto de la mutación del gen ABCD1.

Tiene una incidencia de 1:42,000 nacimientos y una frecuencia de portadores 1:16,800 (homocigotos y heterocigotos sintomáticos). Clínicamente se trata de una enfermedad polimorfa que puede afectar el cerebro, la médula espinal, los nervios periféricos, las glándulas adrenales y los testículos (Sifuentes y cols., 2010).

La ALD se debe a una alteración en el gen ABCD1 (ATP-ligando casete, subfamilia D, miembro 1) que se ubica en Xq28 y tiene una longitud de 21 Kb, consiste en 10 exones y una secuencia codificante de 3,664 pb. El transcrito es la proteína Adenosina-Trifosfato ligando casete familia y es mejor conocida como la proteína Adrenoleucodistrofia (ALDP), la cual consiste en 745 aminoácidos y se localiza en la membrana peroxisomal.

La proteína presenta dos dominios: el dominio Transmembrana (TMD) y el dominio de unión de nucleótidos (NBD), así mismo interviene en el proceso de transporte de sustratos lipídicos, entre los que se encuentran los AGCML, del citoplasma al lumen peroxisomal para su metabolismo (Kumar y cols., 2010; Sifuentes y cols., 2010).

En 1976 Igarashi y colaboradores, descubrieron que los ésteres del colesterol en el cerebro y en las suprarrenales de estos pacientes, tenían una alta proporción de ácidos grasos de entre 24-30 átomos de carbono, cuando normalmente es menos de 20 átomos de carbono. Esto puede intervenir en la formación de la mielina en el sistema nervioso central y en la esteroidogénesis en las suprarrenales.

La adrenoleucodistrofia se caracteriza por la acumulación de AGCML, los cuales tienen una longitud de 24-30 átomos de carbono, principalmente hexacosanoato (26 carbonos) en los ésteres de colesterol de la sustancia blanca del cerebro, corteza suprarrenal y en algunos esfingolípidos (Pontón, 2007).

Debido a la acumulación de los AGCML, estos actúan como antígenos, produciendo una reacción inflamatoria en los tejidos afectados. Además, los causantes de la destrucción de la mielina y de los oligodendrocitos en el sistema nervioso son los linfocitos, astrocitos y macrófagos reactivos (Sifuentes y cols., 2010).

Se conocen aproximadamente 1065 mutaciones en el gen ABCD1, de las cuales 522 son de tipo único, es decir, no recurrentes. El resto de las mutaciones son sustitutivas y 24 de éstas, suceden en exones y de 8-13 en diferentes codones (Kumar y cols., 2010).

Presenta diversos fenotipos los cuales se clasifican en función de la edad de aparición y el tipo de afectación del sistema nervioso:

- Forma cerebral infantil: Inicia entre los 2-10 años en 34% de los casos. Presenta labilidad emocional, hiperactividad, problemas escolares, alteraciones auditivas y visuales, evolución a estado vegetativo rápidamente. La muerte suele ocurrir de 2-4 años después de la aparición de los síntomas, a causa de complicaciones como por ejemplo la neumonía.
- Adrenomieloneuropatía (AMN): es la forma más común de la enfermedad y se presenta en 27% de los casos, es de progresión lenta y exclusiva de la edad adulta, entre la segunda y cuarta década de la vida. Afecta la médula espinal, altera la marcha, debilidad e insensibilidad en las piernas, alteraciones esfinterianas. Cerca del 65% de los pacientes presenta Insuficiencia de la glándula renal.
- Enfermedad de Adison: Se presenta de entre los 2 años de edad y la vida adulta, sin la afectación del sistema nervioso, aunque algunos pacientes después presentan signos neurológicos.
- Forma asintomática: libre de disfunciones adrenal y neurológica, sólo con elevación de los AGCML.

Las mujeres heterocigotas los síntomas suelen iniciar a partir de la 4ª década y presentan alteración neurológica, con progresión lenta de la enfermedad y con características similares a la adrenomielseuropatía; es muy raro que sufran afectaciones cerebral-adrenales (Sifuentes y cols., 2010; Valedares y cols., 2011).

#### 5.2.1.5. Síndrome de Fabry

La enfermedad fue descrita desde 1868, por Johan Fabry en Alemania y William Anderson en Gran Bretaña, de forma independiente estudiaron a la enfermedad, llamada actualmente como el síndrome de Fabry (FD).

Esta enfermedad de herencia recesiva ligada al X, producida por un déficit o actividad nula de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A ( $\alpha$ -GAL-A), debido a la mutación del gen. El alelo GLA se localiza en la región Xq22.1, cuando se encuentra afectado genera una acumulación de globotriaosilceramida (GB-3 o GL-3) en células del endotelio vascular (Torra y Ballarín, 2003; IMSS, 2009).

La incidencia a nivel mundial es 1:100, 000 nacidos vivos, en México lamentablemente no se conoce la incidencia ni prevalencia (Germanin, 2010).

La enfermedad contrasta con otras enfermedades lisosomales, puesto que, la mayoría de los pacientes no presenta signos ni síntomas en los primeros años. La acumulación de los glucoesfingolípidos (GL-3) en plasma y en los lisosomas de las células, desencadena eventos como muerte celular, pequeñas lesiones en vasos sanguíneos, stress oxidativo, desarrollo de defectos del miocardio, anomalías renales y fibrosis tisular. Esta sería una razón del porque es una enfermedad multisistémica y progresiva (Boggio y cols., 2009; Germain, 2010).

La enfermedad provoca depósitos renales de GL-3 en varias células (podocitos, endotelio, glomérulo, capa muscular arterial) los cuales aparecen desde la etapa fetal y van progresando, generando una glomeruloesclerosis, lesiones vasculares y la fibrosis intestinal.

La afectación renal inicial es isostenuria así como, signos de disfunción tubular y microalbuminuria; posteriormente aparece proteinuria, disminución de la filtración glomerular e hipertensión arterial. En cuanto a la velocidad de progresión de la nefropatía no se conoce pero, en la forma clásica de la enfermedad esta lo alcanza entre la cuarta y quinta década. Se ha observado que en las formas incompletas, sucede en edades avanzadas (Herrero, 2011).

Otras manifestaciones son: enfermedad cardíaco vascular, hipertrofia del ventrículo izquierdo, arritmia cardíaca, defecto en arteria coronaria; también presentan angioqueratomas (lesiones vasculares en la dermis), neuropatía periférica, pérdida de peso, episodios de diarrea y vómito, distrofia corneal, opacidad en la córnea (Testai y Gorelick, 2010).

Las mujeres heterocigotas las cuales presentan características fenotípicas variables, las cuales pueden ser desde asintomáticas a expresar signos y síntomas como los hombres (Boggio y cols., 2009).

#### 5.2.1.6. Síndrome de Hunter

La primera descripción de mucopolisacaridosis fue hecha por Charles Hunter, un físico canadiense quien, en 1917 observó una rara enfermedad en 2 hermanos. Tenían 8 y 10 años respectivamente, eran pequeños con cabezas largas y rasgos faciales dimórficos, abdomen distendido debido a la ampliación del hígado y bazo. Tenían movimiento limitado en las articulaciones, respiración ruidosa, dificultades de sueño. En 1952, Brante aisló el mucopolisacárido dermatán sulfato del hígado de dos pacientes con síndrome de Hurler, recibiendo estas dos enfermedades el nombre de MPS. En 1968 Fatantoni y colaboradores, demostró la acumulación de glucosaminoglucanos en fibroblastos de la piel cultivados y provenientes de pacientes con Síndrome de Hunter. En 1969, Mc Kusick y colaboradores propusieron la clasificación numérica basándose en el tipo de glucosaminoglucano excretado en la orina y a sus características clínicas predominantes. Actualmente se ha ido modificando esta clasificación de acuerdo a las enzimas identificadas en cada enfermedad (Correa, 2005; Martin y cols., 2008).

Las mucopolisacaridosis (MPS) son un grupo de patologías causadas por las deficiencias de las enzimas lisosomales específicas que participan en el metabolismo de los glucosaminoglucanos (GAG) casi todas tienen el patrón de herencia autosómico dominante, excepto por MPS II que es recesiva ligada al cromosoma X; en la tabla 5 se enlistan las mucopolisacaridosis así como la enzima deficiente.

Tabla 5. Clasificación de las Mucopolisacaridosis (Correa, 2005).

| Tipo                    | Epónimo                          | Enzima deficiente                                     | Glucosaminoglicano acumulado        |
|-------------------------|----------------------------------|---|-------------------------------------|
| <b>MPS I grave</b>      | Enfermedad de Hurler             | $\alpha$ -L-idurodinasa                               | Dermatán sulfato<br>Heparán sulfato |
| <b>MPS I atenuada</b>   | Enfermedad de Scheie             | $\alpha$ -L-idurodinasa                               |                                     |
| <b>MPS I intermedia</b> | Enfermedad de Hurler-Scheie      | $\alpha$ -L-idurodinasa                               |                                     |
| <b>MPS II grave</b>     | Enfermedad de Hunter grave       | Iduronato sulfatasa                                   |                                     |
| <b>MPS II atenuada</b>  | Enfermedad de Hunter menos grave | Iduronato sulfatasa                                   |                                     |
| <b>MPS III A</b>        | Enfermedad de Sanfilippo A       | Heparán N-sulfatasa                                   | Heparán sulfato                     |
| <b>MPS III B</b>        | Enfermedad de Sanfilippo B       | N-acetil- $\alpha$ -glucosaminidasa                   |                                     |
| <b>MPS III C</b>        | Enfermedad de Sanfilippo C       | Acetil Coenzima A: $\alpha$ -glucosaminidotransferasa |                                     |
| <b>MPS III D</b>        | Enfermedad de Sanfilippo D       | Galactosamina 6-sulfatasa                             |                                     |
| <b>MPS IV A</b>         | Síndrome de Monorquio A          | Galactosidasa 6 sulfatasa                             | Queratán sulfato                    |
| <b>MPS IV B</b>         | Síndrome de Monorquio B          | Galactosidasa $\beta$                                 | Queratán sulfato                    |
| <b>MPS VI</b>           | Síndrome de Marotaux – Lamy      | Galactosamina 4-sulfatasa (arilsulfatasa)             | Dermatán sulfato                    |
| <b>MPS VII</b>          | Enfermedad de Sly                | Glucorinidasa $\beta$                                 | Dermatán sulfato<br>Heparán sulfato |

La MPS II es causada por el déficit de la enzima iduronato 2-sulfatasa (I2S), la cual ancla una molécula de sulfato ligada al heparán y dermatán, generando una acumulación de GAG y presentan un aumento de excreción en la orina.

El gen IDS que codifica a la enzima I2S se localiza en Xq28 y está conformado por 9 exones repartidos en 24 Kb, del cual se han descrito más de 300 mutaciones, incluyendo las deleciones totales o parciales, los rearrreglos del gen pueden ser responsables del 25% de los casos de síndrome de Hunter. Existe un pseudogen IDS (I2S2, IDSP1) ubicado del lado telómero, contiene secuencias homólogas a los exones 2 y 3 en orden inverso, y del intrones 2, 3 y 7 del gen I2S. Se ha reportado que el 13% de los casos de síndrome de Hunter, se deben a los eventos homólogos de recombinación que implican al IDS y el *loci* de I2S2 (Martin y cols., 2008; Wraith y cols., 2008).

Tiene una incidencia de 1:170,000 varones nacidos vivos. A medida que se acumulan se evidencian los síntomas, los cuales suelen aparecer en los primeros meses de vida y son: respiratorios (rinorrea generalmente purulenta, apnea de sueño, respiración bucal), presencia de hernia umbilical o inguinal, facie dismórfica, engrosamiento de tejidos blandos y cartílagos, pelo áspero, duro y seco, hipertrofia gingival. El abdomen es grande debido a la hepatoesplenomegalia, la artropía conduce a la rigidez de las articulaciones y alteración grave de la función, crecimiento lento así como problemas en el desarrollo esquelético. Presencia de miocardiopatías y valvulopatías, deterioro cognitivo, retraso mental progresivo, hiperactividad y alteraciones de la conducta (Grupo de trabajo de enfermedades poco frecuentes, 2011).

La MPS II es variable, multisistémica y progresiva puesto que, en la mayoría de los pacientes los síntomas son severos y la muerte ocurre en edades tempranas. La clasificación tradicional es leve o subtipos de severo, esta última considera el tiempo de vida, la presencia o ausencia de la enfermedad en sistema nervioso central. De hecho, debería considerarse como grave y atenuada.

Los casos de MPS II atenuada son generalmente diagnosticados entre los 4-8 años de edad, la muerte ocurre a menudo entre los 20-30 años por enfermedad cardíaca o

respiratoria. Sin embargo, hay pacientes que no están tan afectados y tienen una esperanza de vida mayor.

La MPS II más grave muestra una forma crónica y progresiva, involucrando a varios órganos y tejidos. Son diagnosticados entre los 18-36 meses de vida; la combinación de deterioro neurológico e insuficiencia cardíaco-respiratoria suele provocar el fallecimiento, a mediados de la adolescencia (Wraith y cols., 2008).

#### 5.2.1.7. Síndrome de Lesch-Nyhan

El síndrome de Lesch-Nyhan el cual es causado debido a una deficiencia en la actividad de la enzima Hipoxantina Guanina Fosforribosiltransferasa (HPTTR), siendo un error innato del metabolismo de purina, la cual se asocia a una sobreproducción de ácido úrico, afecta dependiendo del grado de déficit de la enzima (Cochat y cols., 2010).

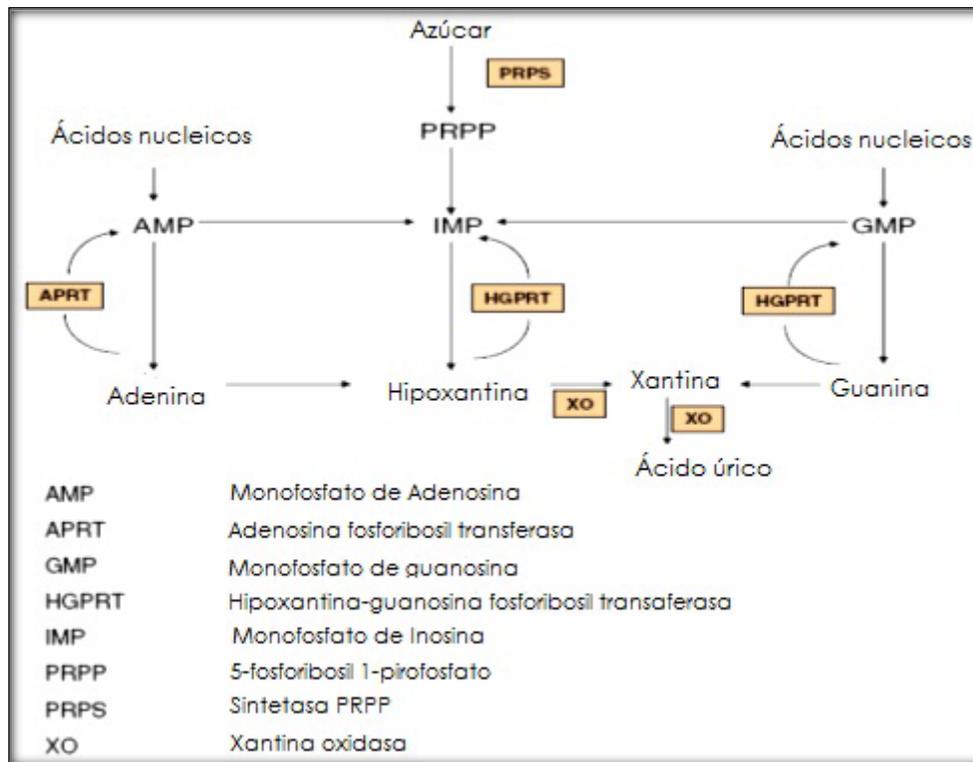
Tiene una incidencia de 1 en 380,000 nacidos vivos, se hereda de forma recesiva ligada al X y su gen se localiza en Xq26.

La vía metabólica de las purinas se muestra de manera simplificada en la figura 15; existen varios mecanismos identificados que contribuyen a la sobreproducción del ácido úrico:

- ▶ La enzima HPTTR cataliza la síntesis de inosina monofosfato (IMP) y de la guanina monofosfato (GMP) desde las bases de purina hipoxantina y guanina, utilizando a la 5-fosforribosil pirofosfato (PRPP) como co-sustrato. La deficiencia de HPTTR, recae en la acumulación de los sustratos Hipoxantina y Guanina, los cuales son convertidos en ácido úrico por la xantina oxidasa.
- ▶ El incremento en la disponibilidad de PRPP a PRPP amidotransferasa, la enzima limitante de la síntesis *de novo* de los nucleótidos de purina, incrementa la síntesis de purina.
- ▶ Por otra parte, hay disminución en la formación de los inhibidores por *feedback* de PRPP amidotransferasas, IMP y GMP. Este doble mecanismo aumenta la síntesis *de novo* de los nucleótidos de purina. Al combinar el reciclaje

deficiente de las bases púricas y el aumento en la síntesis de los nucleótidos de purina, explicaría el marcado aumento del nivel de ácido úrico en la deficiencia de HPTR (Torres y cols., 2007).

Figura 15. Vía simplificada del metabolismo de las purinas (Cochat y cols., 2010).



Los pacientes tienen manifestaciones neurológicas severas, movimientos coreoatetósicos, déficit cognitivo y de atención, conductas autodestructivas y automutilación, hiperuricemia, distonia, y tienen CI alrededor de 50 (Guibinga y cols., 2009).

#### 5.2.1.8. Síndrome de Menkes

Fue descrita en 1962, por Menkes y colaboradores en una familia de origen irlandés radicada en EEU, como un trastorno recesivo ligado al cromosoma X, caracterizado por un retardo en el desarrollo, degeneración focal cerebral y cerebelar. La enfermedad de Menkes (MD) se caracteriza por un déficit generalizado de cobre, teniendo una incidencia de 1:300,000 en nacidos vivos (Ponton, 2006).

Este se debe a una mutación en el gen ATP7A localizado en Xq13.3, el cual codifica a la proteína transportadora de cobre, ATPasa - alfa polipéptido. La secuencia transcrita de ATP7A es una cadena polipéptida de 178 kDa, se localiza en la red *trans*-Golgi en las células en condiciones basales; y está organizada en 23 exones, y son cerca de 170 mutaciones que van desde la sustitución en un aminoácido hasta delecciones, pueden afectar al gen (Tümer y cols., 2010; Qin y cols., 2010).

La proteína viaja entre el aparato de Golgi y la membrana citoplasmática, transportando cobre al exterior de las células. Por lo tanto, al sufrir una mutación el gen, se vuelve deficiente la síntesis de la proteína, provocando una mala absorción intestinal del cobre, así como deficiencia en el suministro de cobre para el sistema nervioso central. De esta forma, afecta a aquellas enzimas dependientes del ión como: el citocromo oxidasa, tirosinasa, monoamino oxidasa, entre otras (Cordier, 2005). La enfermedad se caracteriza por neurodegeneración progresiva con disfunción del tejido conectivo, siendo la forma más severa de la distrofia muscular, y la muerte tiende a producirse alrededor de los 3 años de vida.

Generalmente el embarazo no presenta dificultades pero, pueden ocurrir partos prematuros. Se observan en el nacimiento céfalo hematomas y fracturas espontáneas; durante el período neonatal precoz puede presentar ictericia prolongada, hipotermia, hipoglucemia y dificultades de alimentación.

Entre el 1-2 mes de vida aparece el primer signo de MD, que es el cabello escaso y sin brillo con tendencia a enredarse en la parte superior. La apariencia es piel pálida,

prominencia frontal u occipital, mejillas prominentes, y además se observa inexpresivo.

Después de los 2-4 meses, el infante deja de desarrollar y pierde algunas habilidades previas; la regresión se hace evidente entre los 5-6 meses de edad. Otros síntomas son: retraso en el crecimiento, vómitos, diarrea, el tono muscular disminuye, disminuyen los movimientos espontáneos, surge somnolencia y letargo, dermatitis seca y seborreica, anomalías vasculares, urogenital y óseas. Las manifestaciones tardías son: ceguera, hematoma subdural e insuficiencia respiratoria; debido a todas las infecciones o complicaciones vasculares, o la degeneración neurológica, los pacientes fallecen alrededor del tercer año de vida (Tümer, 2010).

#### 5.2.1.9. Síndrome de Wiskott-Aldrich

En 1937, Alfred Wiskott un pediatra alemán describió el caso de 3 hermanos que presentaban trombocitopenia, diarrea con sangre, eczema e infecciones del oído recurrentes, falleciendo a edad temprana debido por la hemorragia intestinal y sepsis. Sin embargo, sus 4 hermanas no exhibían ningún signo de la enfermedad. En 1954 Aldrich y colaboradores, reportaron 6 generaciones de una familia de 16-40 hombres que fallecieron de la enfermedad similar descrita por Wiskott, de esta forma se sugiere el modo de herencia (Ochs y cols., 2006).

El síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) es un desorden complejo y severo que se caracteriza por microtrombocitopenia, eczema, inmunodeficiencia y con elevado riesgo de autoinmunidad y de linfomas. La incidencia es 1-10 por cada millón de varones nacidos. La expectativa de vida es de 15 años para aquellos que tengan ausencia de la proteína WAS (Bosticardo y cols., 2011).

La identificación del gen mutado fue en 1994, y se localiza en Xp11.22-p11.3, codifica a 502-amino-ácido proteína intracelular (WASP) la cual es expresada únicamente en las células hematopoyéticas. Es miembro de una familia de proteínas que regulan los rearrreglos del citoesqueleto; al ser una proteína hematopoyética específica interviene

en eventos actina-dependientes, como motilidad celular, fagocitosis y la formación de la sinapsis inmunológica (Ochs y cols., 2006; Bouma y cols., 2009; Dovas y cols., 2010).

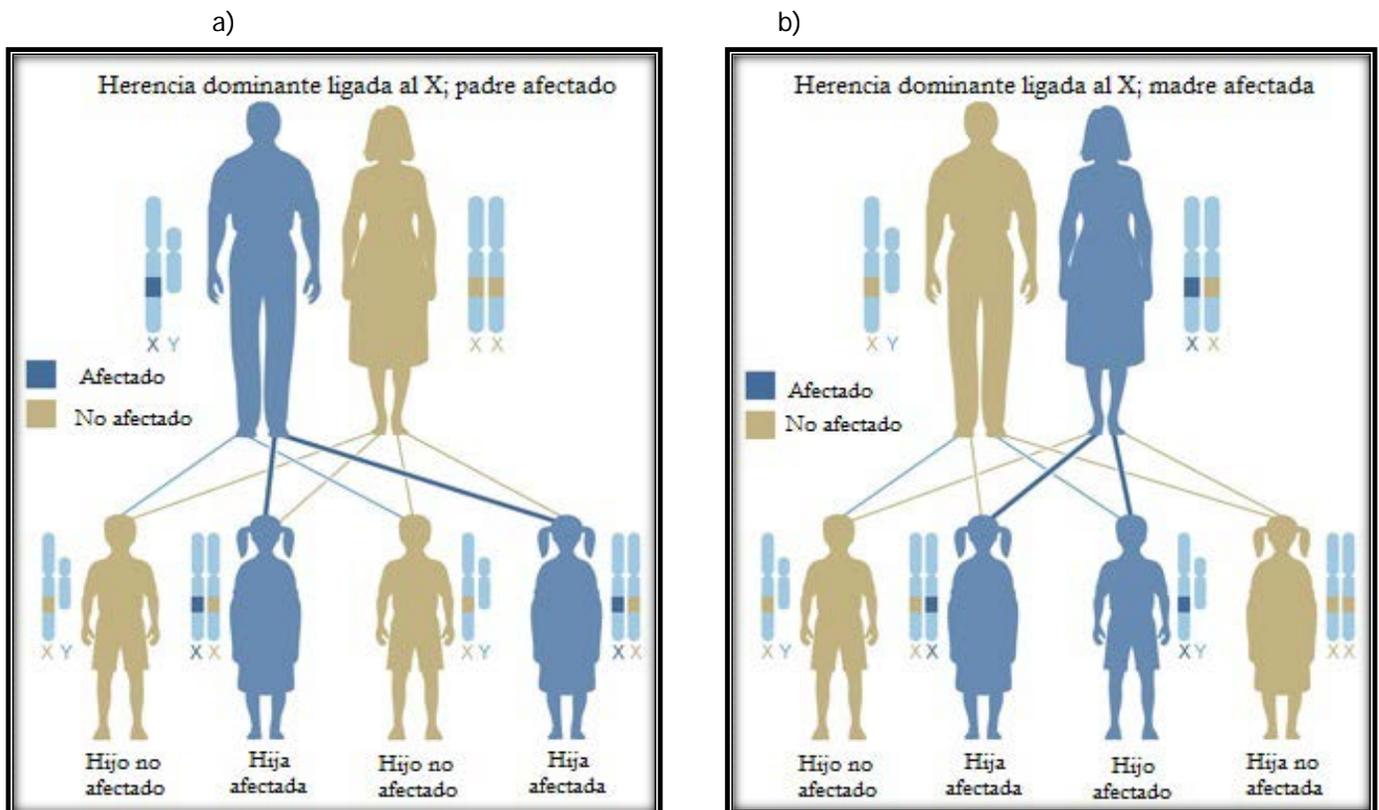
Las manifestaciones clínicas son: en el 80% de los casos presentan hemorragias así como sangrado intestinal e intracerebral. Esta característica es debido a la trombocitopenia, la cual reduce el número de plaquetas. El eczema se desarrolla en el 80% de los pacientes siendo heterogéneo en cuanto a la severidad y persistencia. La forma más severa es resistente a la terapia y facilita las infecciones oportunistas de la piel. La autoinmunidad se encuentra entre 40-72% en las poblaciones de Europa y EEUU mientras que, en Japón es de un 22%. Las manifestaciones más comunes son: anemia hemolítica, vasculitis cutánea, artritis y nefropatía. Por lo general los síntomas incluyen dolor intestinal, trombocitopenia idiopática pura y neutropenia. Una posible causa de esto es la pérdida de la tolerancia central o periférica de los mismos antígenos, aunque se han descrito la localización defectuosa y de la función ocurre en CD4+ CD25+ FOXP3+ reguladores de las células T, en ausencia de WASP (Bosticardo y cols., 2011).

En la forma clásica todos los linfocitos T y B se ven afectados por el síndrome, los cuales se ven disminuidos en número, resultando en linfopenia de severidad variable. IgG e IgM tienen nivel normal pero IgE e IgA se encuentran elevados; así mismo la inmunidad innata se ve afectada incluyendo las células natural killers (NK), también es deficiente la coexpresión de WAS y f-actina. También, es deficiente la participación del citoesqueleto de actina en la migración y tráfico celular (células mieloides, macrófagos, células dendríticas, de Langerhans); la falla de WASP incapacita el montar podosomas, lo cual resulta en un severo daño a la adhesión y motilidad (Ochs y cols., 2006).

### 5.2.2. Herencia dominante

Las características de la herencia dominante ligada al X completamente penetrante, es que todas las hijas de varones afectados también lo están, mientras que los hijos varones no expresan la enfermedad. El hijo o hija de una mujer afectada tiene el 50% de probabilidades de heredar el rasgo, independientemente del sexo. En múltiples familias que presentan la herencia dominante ligada al X, el fenotipo es el doble de recurrente en mujeres que en varones pero, su expresión es generalmente más leve en las mujeres (Nussbaum, 2008). En la figura 16 se muestra la segregación de los gametos en la herencia dominante, un padre afectado transmite el carácter a todas sus hijas pero no a sus hijos; pero, una madre afectada tienen el 50% de probabilidades de transmitir el gen anómalo a todos sus descendientes, independientemente del sexo.

Figura 16. a) Herencia dominante por varones afectados; b) Herencia dominante por mujeres afectadas (Genetic Home Reference, 2011).



### 5.2.2.1. Síndrome de X frágil

El síndrome de X frágil (SXF) es la forma más común de discapacidad mental hereditaria. Lo padecen 1:4,000 varones y 1:6,000 mujeres, se estima que 1:250 mujeres es portadora sana.

En 1943, cuando James Purdon Martin y Julia Bell publicaron sobre una familia con 11 varones afectados de retraso mental, que sugería una herencia ligada al cromosoma X, denominándolo como síndrome de Martin-Bell. En el año 1969, Herbert A. Lubs describía una anomalía cromosómica en dos hermanos con retraso mental y en su madre; esta consistía en un estrechamiento (casi rotura) de la zona distal del brazo largo del cromosoma X, denominándola inicialmente "marcador" X y debido a su aspecto de fragilidad que le daba a esa zona cromosómica, se llamó "sitio frágil", término que acabó popularizándose y dándole el nombre definitivo a esta nueva entidad: Síndrome X Frágil (SXF). Como los hallazgos físicos de los pacientes de Lubs y los de Martin y Bell eran muy similares, se llegó a la conclusión que representaba el mismo cuadro clínico. Con ayuda del bandeo cromosómico la región del sitio frágil se localizó en Xq27.3, dependiente de ácido fólico. El gen FMR1 abarca aproximadamente 40 Kb, contiene 17 exones y su mRNA tiene cerca de 4 Kb de longitud. El exón 12, 14, 15 y 17 pueden ensamblarse alternativamente, generando diferentes RNA e isoformas de la proteína. La función de la proteína está implicada en la inactivación o activación de otros genes, cuyas proteínas se localizan en la sinapsis de las neuronas activas. La proteína posee diferentes dominios, incluyendo a los dominios de unión-RNA KH, caja RGG, una localización nuclear y una de señal de exportación nuclear (NLS y NES), las cuales le facilitan transitar entre el núcleo y el citoplasma. Esta mayormente presente en los gránulos citoplasmáticos pero, su función exacta no es totalmente entendida; además, la FMRP tiene diversas funciones: represión la traducción del RNAm durante el transporte dendrítico y en la sinapsis (Beltrán, 2011; Willeesen, 2011).

A pesar de FMRP tiene la localización funcional nuclear y los elementos de la exportación, FMRP se encuentra principalmente en el citoplasma (95%) en el que se

localiza en el soma, dendritas y sinapsis mensaje; la proteína también ha sido observada tanto en los conos de crecimiento axonal y algunos axones maduros.

En consecuencia, existe evidencia de que FMRP puede regular la orientación del crecimiento del cono y/o la función presináptica. En estudios recientes con ratones *KO*, sugieren que el rol de FMRP sería establecer/mantener las conexiones sinápticas tal vez por las funciones presinápticas de FMRP (Pfeiffer y cols., 2009).

Esta mutación consiste en la expansión del triplete CGG, la cual se localiza al inicio del gen siendo una zona que no guarda información sobre la proteína sino que, su actividad sería sintetiza o no más copias de la FMRP. La anomalía generalmente consiste entre 6-55 repeticiones y la más común es de 30 repeticiones pero, en el SXF la expansión del triplete puede llegar a superar las 200; sufre una hipermetilación en la región promotora y por ende el silenciamiento transcripcional del gen FMR1, dejando a la proteína retraso mental X frágil (FMRP) deficiente e incapacidad intelectual (Beltrán y cols., 2011; Willesen y cols., 2011).

El mecanismo más probable de la formación de la expansión del triplete repetido es el mal emparejamiento durante la replicación. Esto puede ocurrir cuando los fragmentos de Okazaki se forman por secuencias repetitivas las cuales no se anclan a las secuencias únicas de los extremos, aumentando la probabilidad de deslizamiento y a su vez induce la adición de nucleótidos a la cadena molde, por las enzimas que restauran la complementariedad en la cadena recién sintetizada, generando la expansión. Sin embargo, no todos los pacientes presentan la expansión del triplete de FMR1, en algunos otros casos la causa es por deleciones (355 bp-1 Mb) o mutaciones puntuales.

Las características fenotípicas se encuentran: cara alargada con frente amplia y mentón prominente, macrocefalia, otitis media, estrabismo, hiperlaxitud aumentada, dilatación aortica, aceleración de peso y talla, obesidad, pubertad precoz; también son afectados en la memoria a corto plazo, habilidades visoespacial y en el lenguaje. En mujeres con la mutación completa suelen tener un aspecto físico normal pero, tienden a expresar entre 4-5 veces más en comparación a la población, es el Fallo

Ovário Prematuro (FOP). También se ha encontrado que 2-7% de los casos de autismo, presentan una mutación en el gen FMR1. Esto es debido a que FMRP regula varias proteínas, afectando la sinapsis e interfiriendo con GABA (ácido  $\gamma$ - amino butírico) y el sistema de glutamato, aunque aún siguen las investigaciones sobre la relación entre el autismo y el gen FMR1 (Beltrán y cols., 2011; Rousseau y cols., 2011).

#### 5.2.2.2. Síndrome de Rett

El síndrome de Rett (RTT) es un desorden neurológico progresivo y es una de las causas más comunes del retraso mental en las mujeres. Andreas Rett lo describió por primera vez en 1966, se caracteriza por el aparente desarrollo entre 6-18 meses seguidos de un período regresivo en las habilidades motrices y de lenguaje.

Tiene una incidencia de 1:10,000 nacidas vivas. Las mutaciones en el gen MeCP2 el cual codifica la proteína de unión metil-CpG (MeCP2) es la causa en 80% de los casos.

El gen se localiza en Xq28 posee 4 exones, expresa a una proteína nuclear de 486 aminoácidos. Esta posee 4 dominios funcionales: metil-CpG- unión (MBD de 85 aminoácidos); dominio de represión transcripcional (TRD, 184 aminoácidos) el cual interactúa con la histona deacetilasa y transcripcional co-represor SIN3A; la señal localizadora responsable de transportar MeCP2 al núcleo; la C-terminal que facilita la unión al nucleosoma.

El gen codifica a la proteína de unión DNA que interactúa con las citosina metiladas en el genoma. En comparación con otras metil-CpG proteínas de unión, MeCP2 requiere bases enriquecidas en A/T adyacentes a metil-CpG. Normalmente se pensaba que actuaba como un represor transcripcional. Sin embargo, estudios recientes sugieren que actúe como un activador o represor transcripcional en el hipotálamo.

El gen MeCP2 se expresa en varios tejidos pero, en los casos de RTT se observan niveles altos en el sistema nervioso central en particular en neuronas. Aunque en neuronas inmaduras es mínima su expresión, la cual aumenta durante la madurez de estas. Además, su nivel más alto es post-mitosis y continúa durante la edad adulta, lo cual sugiere que sea un factor necesario para el funcionamiento apropiado de las

neuronas maduras. Por lo tanto, podría ser que las alteraciones del gen sean responsables por las anomalías que presenta la enfermedad.

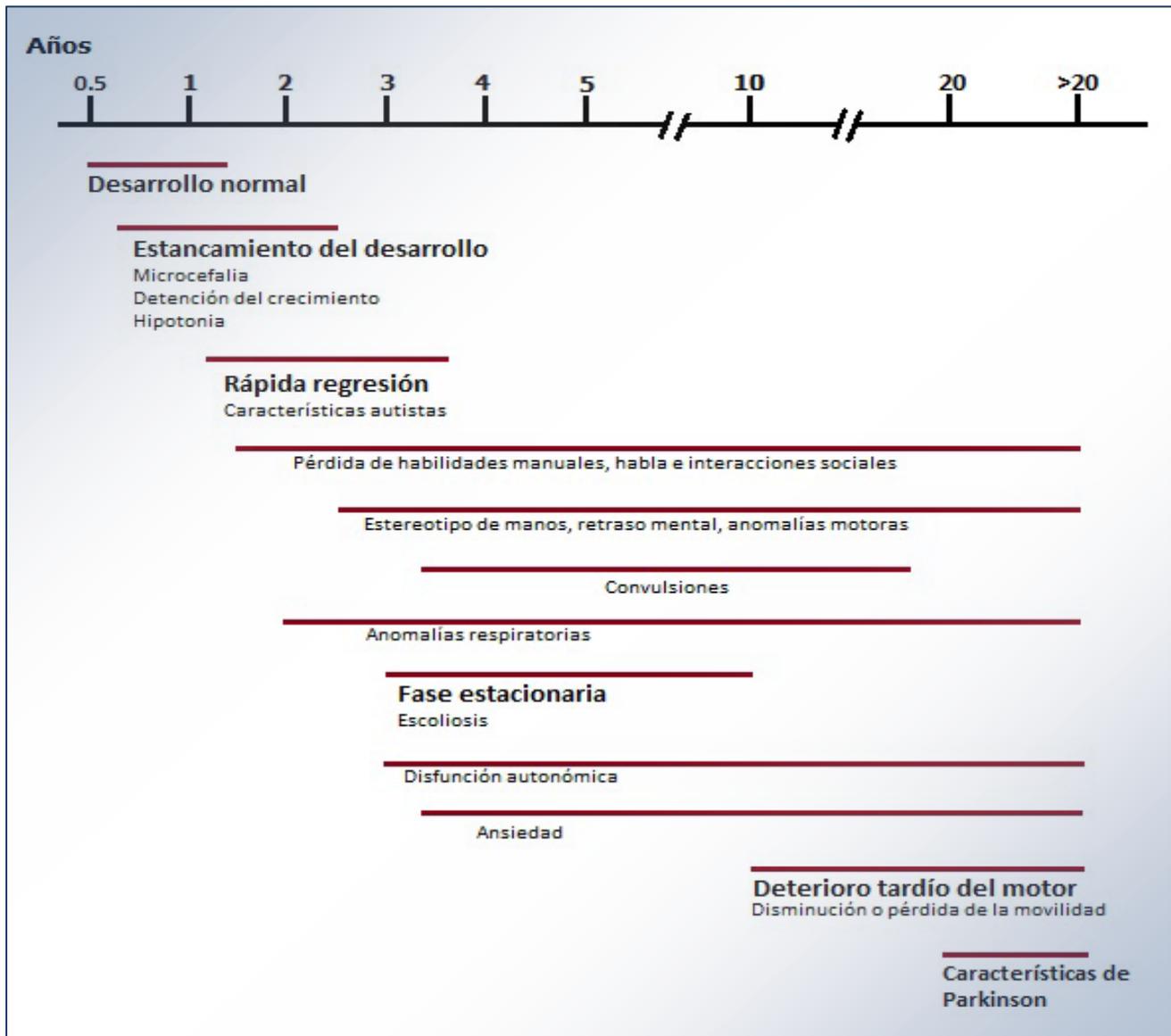
Permite la deacetilación de las histonas H3 y H4 resultando en la compactación de la cromatina, evitando así la maquinaria de la transcripción; esto es importante para los eventos de la inactivación del cromosoma X así como, en la impronta genómica.

Casi todas las mutaciones son de novo y sólo algunos casos han sido heredados de una madre portadora, puede que ellas presenten mosaicismo gonadal o tuvieron una inactivación del cromosoma X favorable (Matijevic, 2009; Na, 2011).

Los niños con RTT aparentemente desarrollan las habilidades incluyendo caminar y decir algunas palabras. Un indicador del desarrollo neurológico es la desaceleración del crecimiento de la cabeza, dejando una microencefalia en el segundo año de vida. Esta va acompañada por un retardo en el crecimiento, pérdida de peso, y una postura débil debido a la hipotonía muscular. Conforme avanza la enfermedad el paciente pierde el uso de las manos y desarrollando un movimiento como de retorcer las manos, y en algunos casos aplaude, agita o articula las manos. En la figura 17 se muestra algunas de las manifestaciones clínicas mencionadas, así como la progresión de la enfermedad.

Presentan aislamiento social, pérdida de lenguaje, se vuelven aparentemente irritables, conducta auto-abusiva; hipersensibilidad al sonido, pérdida de contacto visual, deterioro cognitivo, pérdida de función locomotriz, ataques de pánico, apnea de sueño, trastornos respiratorios, disminución del crecimiento somático, hipertrófica de pies. Los pacientes pueden recuperar algunas habilidades y sobrevivir hasta edad adulta, sin embargo, es elevada la incidencia de muerte súbita (Chahrour y Zoghbi, 2007; Matijevic y cols., 2011).

Figura 17. Progresión de la enfermedad de Rett en los fenotipos clínicos (Chahrour y Zoghbi, 2007).



### 5.2.3. Enfermedades raras ligadas al cromosoma X que aportan conocimiento a mecanismos moleculares del funcionamiento génico.

#### 5.2.3.1. Deficiencia de Monoamina Oxidasa A

En los años 60, se ligo la deficiencia de la enzima con el comportamiento agresivo, esto se observo en ratones administrados con inhibidores de MAOA (Reti y cols., 2011).

Las monoamino oxidasas A y B, catalizan la deaminación oxidativa; además los sustratos de la MAOA incluyen a los neurotransmisores dopamina, seratonina y dopamina, así como el neuromodulador feniletilamina. La degradación de estas por las MAO isoenzimas es esencial para una apropiada sinapsis, y las señales monoaminérgicas afectan las habilidades motrices, cognitivo, y funciones emocionales del cerebro.

Los genes de ambas monoamino oxidasas, se dan en tándem por un evento de duplicación ancestral, y ambos se encuentran en Xp11.3, donde abarcan aproximadamente 60 kB; consisten en 15 exones y exhiben idéntica organización exón-intrón (OMIM 309850).

Los neurotransmisores MAO han sido implicados en la regulación de la proliferación en el desarrollo del telencéfalo. En estudios con ratones se observó que durante el desarrollo embrionario, las neuronas monoaminérgicas en el tronco cerebral (serotonina y noradrenalina) y el mesencéfalo (dopaminérgicas) se generan aproximadamente durante la formación de vesículas telencefálicas y sus fibras comienzan a inervan la corteza aproximadamente en la mitad de la etapa gestacional (día embrionario 6) (Cheng y cols., 2010).

La pérdida de Monoamino oxidasa A causa el síndrome de Brunner. Los pacientes masculinos afectados muestran anomalías en su comportamiento, como episodios de violencia y agresividad.

Así mismo muestran un leve retraso mental y tendencia a retorcerse las manos. Sin embargo, las tendencias agresivas e impulsivas destacan como características en

muchas enfermedades psiquiátricas, limitando la capacidad de diferenciar el síndrome de otros trastornos (Scott, 2010).

#### 5.2.3.2. Síndrome de insensibilidad androgénica.

El síndrome de insensibilidad androgénica afecta a los varones y esto se debe a una mutación en el gen Receptor de andrógenos, que se localiza en Xq11-q12. Impide la acción de la testosterona, por lo que los genitales externos se diferencian como femeninos.

El gen AR es una proteína nuclear de 110 KDa, que pertenece a la superfamilia de los receptores hormonales de esteroides de factores de transcripción. Interviene en el proceso de diferenciación y maduración masculina.

Tiene una incidencia de 1:20,000-60,000 varones nacidos vivos (Solari y cols., 2008; Liu y cols., 2011).

El síndrome es causado por la alteración del gen receptor de andrógenos (AR) y se han descrito más de 300 mutaciones. En 70% de los casos las mutaciones se originan en las células germinales y son transmitidas de forma ligada al X a través de las madres portadoras.

El 30% son causados por mutaciones de *novo* en el paciente, las cuales pueden originarse en las madres, ya sea en por una célula germinal o por células germinales con mosaicismo; presentándose como mutaciones hemigotos en las líneas germinales de la descendencia.

En pacientes con esta deficiencia presentan genitales ambiguos parciales (SIAP) o genitales femeninos completos en síndrome de insensibilidad androgénica completa (SIAC) (Köhler y cols., 2006).

Es decir, no hay desarrollo de los derivados del conducto de Wolff (epidídimo, conductos deferentes, vesículas seminales), las cuales dependen de la acción androgénica. Mientras que, las células de Sertoli producen hormona antimülleriana determinando la ausencia o el poco desarrollo de los derivados müllerianos. Esto

implica que las pacientes carecen del tercio superior de la vagina (vagina corta o en saco), no tiene útero ni trompas de Falopio.

Debido a que el SIA es un trastorno de carácter recesivo ligado a X, en el hombre un solo alelo produce un fenotipo alterado. Las mujeres portadoras tienen un fenotipo normal aunque se ha visto algún tipo de retraso puberal, disminución del vello púbico y axilar. Generalmente hay historia familiar de amenorrea o infertilidad, que se asocia en 64% con SIAC y 18% con SIAP.

De tal forma que en la pubertad, la amenorrea primaria es la presentación más común, con masas labiales o inguinales presentes; genitales femeninos internos ausentes o diminutos; un tercio tiene remanentes de ductos müllerianos; y, ocasionalmente, se halla vestigios del de Wolff. El desarrollo mamario es aparentemente normal, pero con poco desarrollo de la areola y el pezón, ausencia de pubarquia o axilarquia. La ausencia de menarquía constituye el principal motivo de consulta (Solari y cols., 2008; Manrique y cols., 2009).

#### 5.2.3.3. Displasia ectodérmica hipodrótica.

Las displasias ectodérmicas son un grupo de anomalías descritas por primera vez en 1848 por Thurnam, y designa a un grupo heterogéneo de anomalías, afectando los dientes, la piel, el pelo, las uñas, las glándulas exocrinas y las sebáceas.

Se estima una incidencia de 1:100, 000 nacidos vivos, hasta el momento son alrededor de 170 diferentes patologías relacionadas con la displasia ectodérmica; la forma más frecuente es la Displasia Ectodérmica Hipohidrótica ligada al cromosoma X o Síndrome de Christ-Siemens-Touraine (Cadena y cols., 2006; Cammarata y cols., 2007).

En México, Yucatán, existe un poblado llamado Akil que tienen alrededor de 10, 000 habitantes, y recientemente se han detectado 20 personas que padecen la enfermedad, mostrando una incidencia de 1:500 habitantes (Huerta, 2011).

Es heredado de forma recesiva ligada al cromosoma X, la enfermedad la padecen los hombres aunque, en un porcentaje alto las portadoras presentan algún rasgo característico de la enfermedad.

Al parecer entre el tercer y cuarto mes de gestación ocurriría la detención de la maduración de algunos tejidos derivados del ectodermo (piel, anexos y dientes). Se ha identificado el gen ED1, se conforma de 12 exones y 8 de ellos se encargan de codificar a la proteína transmembrana, la ectodisplasina (EDA-A), la cual forma parte del factor de necrosis tumoral (TNF) y desempeña un papel en la regulación de la formación de estructuras ectodérmicas. La proteína se expresa en queratinocitos y células epiteliales de la vaina radicular externa de los folículos pilosos y glándulas sudoríparas (Alarcón y cols., 2006).

Los pacientes con DEH presentan disminución o ausencia de las glándulas sudoríparas, alteraciones de la epidermis, hipohidrosis que conlleva a una intolerancia al calor, frente amplia, el pelo es fino, seco e hipocrómico, labios prominentes, los dientes anteriores tienen forma cónica y tienen pocas piezas, otros rasgos observados son: presencia de uñas distróficas, alteración en las glándulas mamarias, rinorrea crónica, asma, talla baja, retraso mental, otitis e infecciones respiratorias (Cadena y cols., 2006; Campuzano y cols., 2006).

## 6. DETECCIÓN DE PORTADORAS

El análisis genético es importante puesto que, permite conocer a otros miembros afectados y detectar posibles portadores de enfermedades hereditarias.

Es por esta razón que se realiza la historia clínica y el árbol genealógico, sin embargo, se debe tener en cuenta que las familias no siempre son numerosas, la posibilidad de que el paciente sea el único afectado (caso esporádico), la enfermedad siga diferentes patrones de herencia o que ésta se deba a varios genes afectados, por ejemplo. De tal forma que para tener un panorama más amplio sobre la enfermedad, se deberán solicitar exámenes complementarios (Oliva, 2008; Hartl y cols., 2009; Mauser, 2009).

### 6.1. Portadoras

En las enfermedades hereditarias ligadas al cromosoma X, cuando se realiza el diagnóstico se deberá obtener una historia familiar o árbol genealógico, lo cual permitirá identificar a individuos afectados por la enfermedad en una o varias generaciones, así como a posibles portadoras (Guizar-Vázquez, 2001).

► Las portadoras son aquellas mujeres que tienen presente el gen mutado de la enfermedad pero, no lo expresan debido a que son heterocigotas. Es decir, 50% de sus células expresan el alelo normal en el cromosoma X activo y el otro 50% tendrán el gen mutado pero, en el X inactivo. Las células con el alelo normal son suficientes para que las mujeres no presenten las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Mundo y Jaloma, 2007).

▶ Las portadoras obligadas son aquellas que al ser hijas de un varón afectado por la enfermedad recibirán el X paterno mutado convirtiéndolas en heterocigotas. También son aquellas mujeres con más de un hijo afectado, ya que con ello se corroborará la presencia del alelo mutado.

▶ Las portadoras probables son:

- Todas las hijas de una portadora
- Madres de un hijo hemofílico, que no tienen otros familiares con la enfermedad.
- Hermanas, madres, abuelas maternas, tías, sobrinas y primas de portadoras (Rodríguez y cols., 2009).

Las portadoras no expresan completamente el fenotipo de la anomalía genética. Esto se debe al proceso de inactivación del cromosoma X; causando una proporción variable de células en las que el X con el gen mutado se encuentre en estado activo, y siendo posible que el alelo normal se encuentre en el cromosoma inactivado (Robbins y Cotran, 2007).

▶ Niveles séricos enzimáticos.

En ciertos casos, la historia clínica, los datos y el examen físico del paciente puede apoyar para un diagnóstico.

La detección de portadoras se puede determinar en los casos de historia familiar, mediante el análisis del árbol genealógico o *pedigrí* cuando el genetista inicia su asesoramiento. Si la información que arroja este análisis no facilita el diagnóstico de portadora, se debe hacer la medición del nivel sérico del factor de interés.

Por ejemplo:

- ↳ Síndrome de Hunter: Las portadoras generalmente son asintomáticas y aunque, se ha observado que la actividad enzimática de I2S es 50% menor en comparación con individuos normales, la realización del estudio bioquímico en mujeres heterocigotas no es determinante para el diagnóstico (Martin, 2008; Grupo de trabajo de enfermedades poco frecuentes, 2011).
- ↳ Distrofia Muscular de Duchenne: Las mujeres portadoras normalmente no muestran el fenotipo grave. Sin embargo, el 3 % de las pacientes manifiestan síntomas leves de DMD. La prevalencia de anomalías cardíacas en el ecocardiograma y electrocardiograma son de 18 %, y se ha observado que los niveles de creatinina (CK) se eleva generalmente cerca de 50-60% (López y cols., 2011).
- ↳ Hemofilia A: Cuantificar el nivel de FVIII o FIX, si se encuentra un 50% por debajo de lo normal, es una alta probabilidad de que la mujer sea portadora. También se determina el nivel de Factor de von Willebrand (FvW), el cual se mantiene normal en personas hemofílicas. Entre los valores de los FVIII y FvW, se realiza el cociente, si la relación es menor a 0.7 es un indicativo de que la paciente es portadora.

Dependiendo de si el valor está por debajo del normal, es posible que sea portadora por fenotipo; sin embargo, la medición de niveles enzimáticos puede ser de utilidad pero, no son definitivos para la identificación de portadoras; en estos casos el diagnóstico definitivo es a través de un estudio molecular (Bermeo y cols., 2007; Rodríguez y cols., 2009).

## 6.2. Diagnóstico molecular

Debido a que el estudio de los niveles enzimáticos ya sean normales o anómalos, no confirman ni excluyen el estado de portadora, dificulta el diagnóstico; por esta razón se recurre al estudio molecular.

Actualmente se disponen de métodos para analizar secuencias específicas de DNA para detectar numerosas alteraciones relacionadas con patologías genéticas de herencia monogénica, conocido como diagnóstico molecular.

#### 6.2.1. Southern Blot.

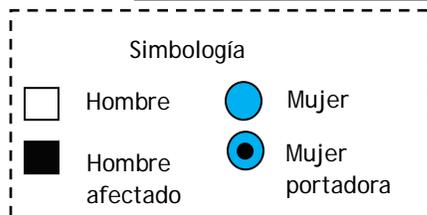
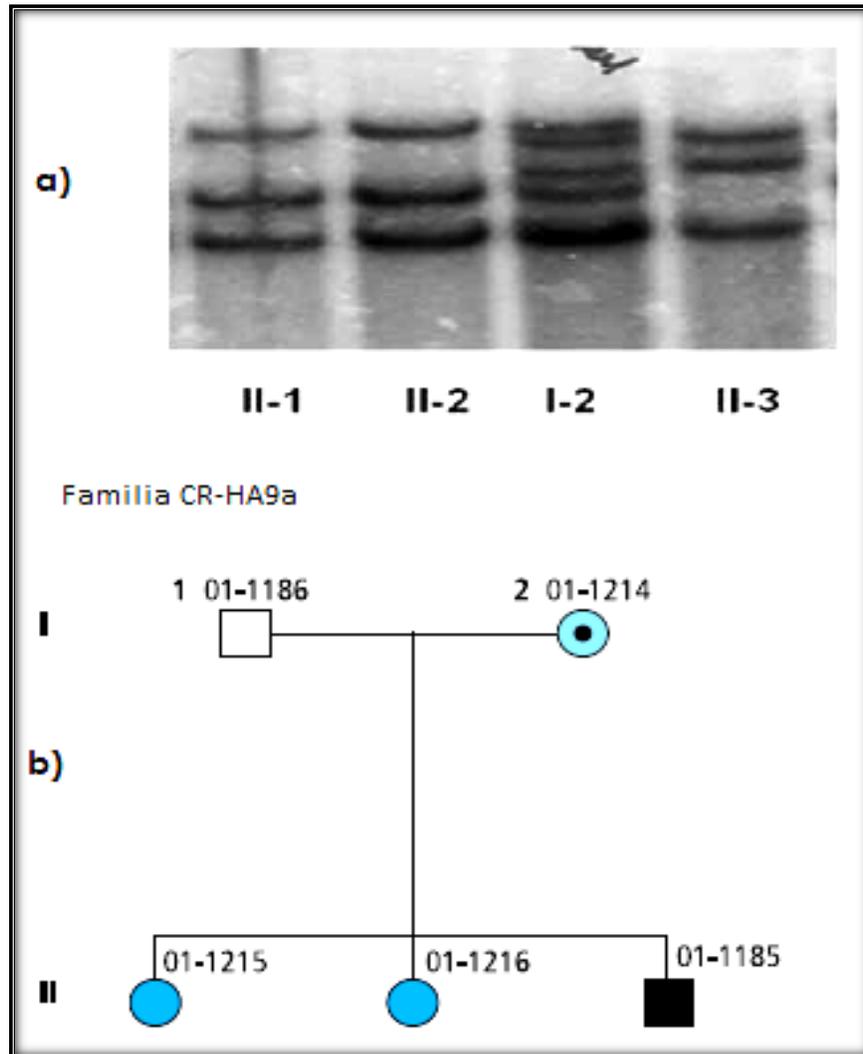
El ADN es aislado y es digerido con nucleasas de restricción (enzimas de origen bacteriano, capaces de cortar al ADN en secuencias de nucleótidos específicas) y se separan por electroforesis en gel. Los fragmentos de ADN son desnaturalizados con una solución alcalina y son transferidos a un filtro de nitrocelulosa o de nylon por inmunotransferencia. Luego se incuba el filtro en condiciones de hibridación con una sonda de ADN específica marcada radiactivamente, el fragmento de restricción complementario a la sonda se hibrida y se revela mediante autorradiografía. Este método tiene la capacidad de analizar en específico una pequeña porción del ADN, lo cual es útil para detectar grandes reordenamientos del ADN (Klug, 2006).

Por ejemplo:

En un estudio molecular en Costa Rica se identificó la inversión del intrón 22, en pacientes con hemofilia tipo A además, se determinó el estatus de portadoras en 47 mujeres.

En la figura 18a se muestra a la familia CR-HA9a, donde el padre (I-1) y las hijas (II-1 y II-2) no presentan la enfermedad. El hijo (II-3) tiene hemofilia severa causada por la inversión del intrón 22; la madre presenta genotipo normal y la inversión del intrón 22 (Salazar y cols., 2010).

Figura 18: Análisis del gen FVIII en la familia CR-HA9a. (a) Resultados del análisis por Southern Blot. Los miembros II-1 y II-2 presentan un genotipo normal, el varón (II-3) presenta la inversión del intrón 22; la madre (I-2) presenta los fragmentos normales y la inversión 22. (b) Árbol genealógico de la familia (Modificada de Salazar y cols., 2010).



### 6.2.2. Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR).

El análisis molecular de las biopsias puede llevarse a cabo a partir de la amplificación específica de secuencias de DNA utilizando el método de la reacción en cadena de la polimerasa.

La PCR utiliza dos cebadores oligonucleótidos, los cuales son complementarios para ambos lados de la cadena (5'-3') que se secuenciará. La muestra de ADN a amplificar se encuentra en cadenas sencillas, y éstas se unen a los cebadores de forma complementaria. Debido a que la reacción está sujeta a variaciones de temperatura (50-95°C) se añade una ADN polimerasa que sea resistente al calor, la cual sintetiza una segunda cadena de ADN; la repetición de estos pasos generan más copias. Los resultados de una PCR se pueden determinar de varias maneras y una de ellas es analizarlos a través de una electroforesis en gel de agarosa (Brown, 2008).

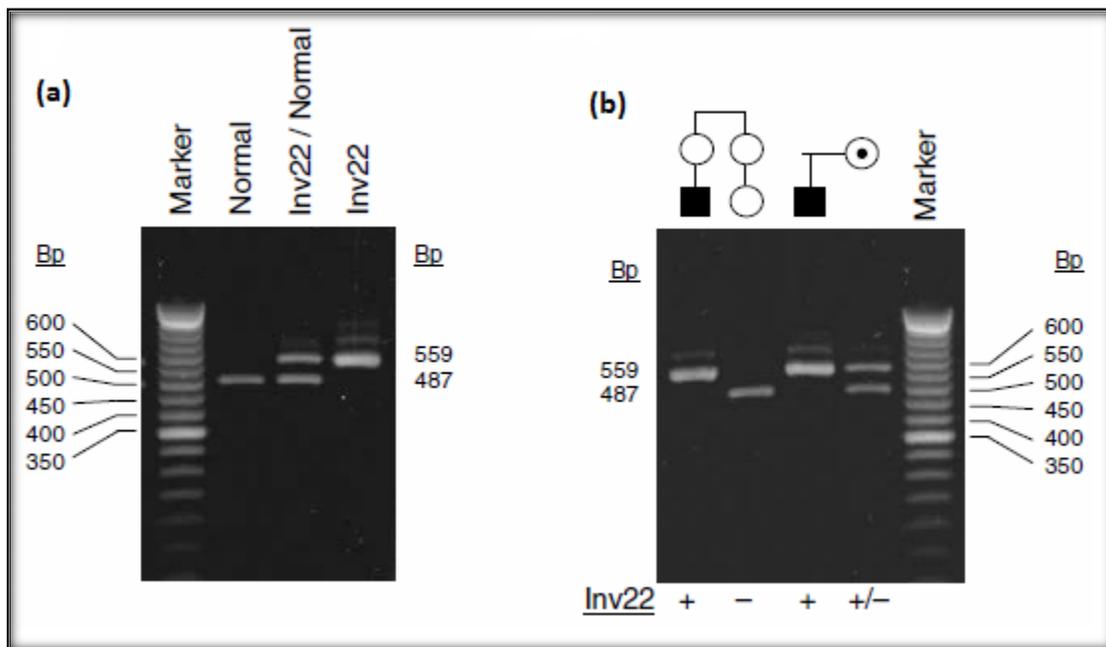
Por ejemplo:

En la mayoría de los casos de pacientes que presentan hemofilia severa, se detecta la mutación del intrón 22 a través de Southern blot. En el estudio se realizó el análisis de la inversión por una variante del método de PCR, con el fin de comparar si ambos métodos pueden detectar la anomalía o existen diferencias.

Las muestras estudiadas mostraron concordancia por ambos métodos para la inversión del intrón 22, puesto que, se produjo el mismo patrón de bandas (559 pb).

En la figura 19b, se muestra algunos de los resultados de muestras analizadas. El primer paciente (Fig. 19b primer carril) es un paciente con hemofilia severa y su prima (Fig. 19b segundo carril) donde el presenta la inversión intrón 22 y su pariente no es portadora debido a que sólo mostro una señal (487 pb). El segundo paciente (Fig. 19 b tercer carril) está afectado por la hemofilia pero, la madre (Fig. 19b cuarto carril) es portadora porque presento la señal para la inversión (559 pb) (Rosseti y cols., 2005).

Figura 19. Análisis del PCR a través de electroforesis en gel de agarosa. (a) Controles: Normal (segundo carril), Portadora (tercer carril) y Positivo para inversión del intrón 22 (cuarto carril). (b) Resultados de dos familias con miembros afectados; hombres afectados (primer y tercer carril), mujer no portadora (segundo carril), mujer portadora (cuarto carril) (Rosetti y cols., 2005).



### 6.2.3. Diagnóstico Genético de Preimplantación (DGP).

El diagnóstico genético de preimplantación fue desarrollado para poder seleccionar embriones libres de enfermedades monogénicas, en un estadio previo de implantación; requiriendo un procedimiento de fecundación *in vitro* para generar embriones en laboratorio. Este se indica a mujeres en edad materna avanzada, pacientes que hayan sufrido dos o más abortos consecutivos, en parejas con fallos recurrentes de implantación. El DGP analiza la biopsia de uno o dos blastómeros de los embriones en el día+3 del desarrollo y posteriormente se realiza el análisis cromosómico ya sea con FISH, CGH o microarrays. A pesar de que la técnica es

relativamente nueva se ha utilizado con éxito en más de 1,000 nacimientos (Pierce, 2006; Arenas y cols., 2009; Rius Mas y cols., 2011).

De tal forma que dependiendo del cuadro clínico y de la historia familiar, se determinará la técnica para la detección de portadores. Asimismo se les debe proporcionar información respecto al padecimiento en sí, como a las posibilidades y limitaciones en los estudios de detección (Guizar-Vázquez, 2001).

### **6.3. Tratamiento de enfermedades ligadas al cromosoma X.**

En las enfermedades ligadas al cromosoma X las características clínicas que presentan las enfermedades son amplias y variadas. Por este motivo el explicar el tratamiento para cada una de ellas no es posible, por ende, todo depende de la historia clínica, el diagnóstico y el estudio del árbol genealógico. En cuanto a las portadoras, más que un tratamiento, se dará asesoramiento genético.

## 7. CONCLUSIONES

Se recopiló información documental de un período de 10 años, sobre el cromosoma sexual X; así mismo, a partir del 2005 en que se publicó la secuenciación del genoma del cromosoma X, incrementó la información sobre este.

Se accedió a medios electrónicos, revistas y libros especializados en la materia, los cuales permitieron el desarrollo de los capítulos sobre las características y funciones del cromosoma sexual X.

Se explicó que el cromosoma sexual X interviene en la determinación y diferenciación sexual en la especie humana. Así mismo, el fenómeno de inactivación del cromosoma sexual X en las mujeres es importante para mantener una expresión génica de manera equilibrada; por lo tanto, hace que las mujeres sean un mosaico celular. Esta forma de compensación génica se relaciona con la expresión de los genes localizados en el cromosoma sexual X, es decir, genera una alta variabilidad en las características clínicas de las enfermedades ligadas al cromosoma X.

Finalmente se eligieron 17 enfermedades determinadas por genes localizados en el cromosoma sexual X, las cuales son de mayor incidencia en la población mundial o bien tienen un alto impacto en el desarrollo del paciente. Así mismo, es importante el diagnóstico de las enfermedades, para así mejorar la calidad de vida del paciente y de esta forma, aumentar la información en la población sobre las anomalías relacionadas al cromosoma sexual X.

## 8. REFERENCIAS

1. Aguinaga, M., Llano, I., Báez, R., Hernández, C., Castro, J., Razo, G., Aparicio, A., Uría, C., Saucedo, J. L., Ibáñez, J. C., Meléndez, R., Zavaleta, Ma. J., Mayén - Molina, D. G., García - Cavazos, R. (2005). *Análisis y resultados clínico citogenéticos de fetos y recién nacidos con alteraciones cromosómicas durante un año en el Instituto Nacional de Perinatología*. Perinatología Reproducción Humana 19: 94-105.
2. Alarcón, R.; Ramírez, P.; Yañez, T.; Alarcón, F. y Solís, F. (2006). *Displasia ectodérmica Hipohidrótica a propósito de un caso*. Dermatol Pediatr Lat 4(3):204-210.
3. Albisu, Y. (2001). *Síndrome de Turner del genotipo al fenotipo*. Documento electrónico disponible en: <http://www.svnp.es/Documen/turner.pdf>. Consulta realizada 14 de Octubre de 2011.
4. Arenas, J. M. y Coroleu Lletget, B. (2009). *Fundamentos de reproducción*. Buenos Aires; México: Panamericana.
5. Armienta Aldana, E. (2004). *Enfermedades ligadas al cromosoma sexual X: Primera parte*. Boletín Médico, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa 5(1): 22-24.

6. Balderas Arroyo, C. B. (2009). *Etapas y anomalías de la diferenciación sexual humana*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
7. Barbaro, M., Wedell, A., Nordenström, A. (2011). *Disorders of sex development*. Semin Fetal Neonatal Med 16 (2): 119-127.
8. Baumgartner, M. y Argüello Ruiz, D. (2008). *Distrofia muscular de Duchenne (revisión bibliográfica)*. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXV (586):315-318.
9. Beltrán, D. A.; Guerra, J. A.; López Muñoz, F.; Álamo, C. (2011). *Síndrome de cromosoma X frágil*. Toko-Gin Prac 70(1): 7-20.
10. Berletch, J. B., Yang, F., Xu, J., Carrel, L., Disteche, C. (2011). *Genes that escape from X inactivation*. Hum Genet 130:237-245.
11. Berletch, J.B., Yang, F. and Disteche, C. (2010). *Escape from X inactivation in mice and humans*. Genome Biol 11:213.
12. Bermeo, S. M., Tamar Silva, C.; Fonseca, J. D.; Restrepo, M. C. (2007). *Hemofilia: Un diagnóstico molecular y alternativas*. Colom Med 38(3): 308-315.

13. Bignon-Laubert, A. (2010). *Control of sex development*. Best Prac Res Clin Endocrinol Metab 24 (2): 163-186.
14. Binder, G. (2011). *Short stature due to SHOX deficiency: genotype, phenotype, and therapy*. Home Res Paediatr 75: 81-89.
15. Boggio, P.; Luna, P. C.; Abad, Ma. E.; Larralde, M. (2009). *Fabry disease*. Anais Brasileiros de Dermatologia 84(4). Documento electrónico disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962009000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962009000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=en). Consulta realizada el día 16 de Noviembre de 2011.
16. Bonilla, F. J.; Sánchez, M. C. y Chuairé, L. (2007). *Glucosa -6- fosfato deshidrogenasa (G6PD). Respuesta de los hematíes y otras células humanas a la disminución en su actividad*. Colomb Med 38(1):68-75.
17. Bosticardo, M.; Marangoni, F.; Aiuti, A.; Grazia Roncarolo, Anna Villa and Maria. (2011). *Recent advances in understanding the pathophysiology of Wiskott - Aldrich syndrome*. Blood 113(25):6288 - 6295.
18. Bouma, G.; Burns, S. and Thrasher, A. J. (2009). *Wiskott - Aldrich syndrome: Immunodeficiency resulting from defective cell migration and impaired immunostimulatory activation*. Immunobiology 214(9-10): 778-790.
19. Brown, T. (2008). *Genomas*. (3ª Ed.). Buenos Aires; México, D.F.: Médica Panamericana.

20. Cadena Galdós, A.; García Ponce de León, G.; Sosa de Martínez, C. y Teja Ángeles, E. (2006). *Manejo estomatológico de un paciente con displasia ectodérmica Hipohidrótica*. Acta Pediatr Mex 27(2):96-100.
21. Calasanz, M. J. (2001). *Revisión de técnicas de citogenética convencional y molecular y su implicación en el diagnóstico y pronóstico del cáncer*. ANALES Sis San Navarra 24 (Supl. 1):17-29.
22. Calzada León, R.; Ruiz Reyes, M. L.; García Flores, M.; Altamirano Bustamente, N. y Del Castillo, V. (2000). *Diferenciación sexual normal*. Acta Pediatr Méx 1 (2): 34-45. Documento electrónico disponible en: <http://www.actapediatrMex.entornomedico.org/archivo/2000/no2vol21.html>. Consulta realizada el 01 de Septiembre de 2011.
23. Cammarata Scalisi, F.; Camacho, N.; Alvarado, J. y La Cruz Rangel, M. A. (2008). *Distrofia muscular de Duchenne, presentación clínica*. Rev Chil Pediatr 79(5):495-501.
24. Cammarata Scalisi, F.; Da Silva, G. y Piquero Casals, J. (2007). *La piel en el contexto de la medicina y sus especialidades*. Piel 22(5):233-7.
25. Campbell, N. A. (2007). *Biología*. (7ª Ed.) Buenos Aires; México: Médica Panamericana.

26. Campuzano Martín, S.; Santos Juanes, J.; Medina Villanueva, A.; Sánchez del Río, J. (2006). *Displasia ectodérmica Hipohidrótica*. An Pediatr (Barc) 62(4):393-4.
27. Carmona Fonseca, J.; Álvarez, G.; Ríos, A. y Vázquez, M. F. (2011). *Deficiencia de glucosa- 6- fosfato deshidrogenasa en hombres sanos y en pacientes maláricos; Turbo (Antioquía, Colombia)*. Rev Bras Epidemiol 11(2):252-265.
28. Carr, S. M. (2008). *Fluorescent In-Situ Hybridization (FISH) identification of Human Chromosomes "chromosome painting" [Imagen]*. Documento electrónico disponible en: [http://www.mun.ca/biology/scarr/FISH\\_chromosome\\_painting.html](http://www.mun.ca/biology/scarr/FISH_chromosome_painting.html). Consulta realizada el día 16 de Noviembre de 2011.
29. CENSIA (Centro Nacional para la salud de la infancia y de la adolescencia). (2009). *Síndrome de Turner*. Documento electrónico disponible en: <http://www.censia.salud.gob.mx/interior/infancia/turner.html>. Consulta realizada el 14 de Octubre de 2011.
30. Chahrour, M. and Zoghbi, H. Y. (2007). *The story of Rett syndrome: From clinic to neurobiology*. Neuron 56(3):422-437.
31. Cheng, A.; Scott, A. L.; Ladenheim, B.; Chen, K.; Ouyang, X.; Lathia, J. D.; Mughal, M.; Cadet, J. L.; Mattson, M. P.; Shih, J.C. (2010). *Monoamine oxidases regulate telencephalic neural progenitors in late embryonic and early postnatal development*. The Journal of Neuroscience 30(32): 10752-10762.

32. Chia-Feng Liu, Bingham, Nathan, Parker, Keith and H.C. (2009). *Sex specific roles of  $\beta$ -catenin in mouse gonadal development*. Human Molecular Genetics, 18 (3): 405-417.
33. Cho, Y. G., Kim, D. S., Lee, H. S., Cho, S. C., Choi, S. I. (2004). *A case of 49, XXXXX in wich the extra X chromosome were maternal in origin*. Journal of Clinical Pathology 57: 1004-1006.
34. Chow, J. C.; Ciaudo, C.; Fazzari, M. J.; Mise, N.; Servant, N.; Glass, J. L.; Atreed, M.; Avner, P.; Wutz, A.; Grealley, J. M.; Voinnet, O. and Heard, E. (2010). *LINE-1 activity in facultative heterochromatin formation during X chromosome inactivation*. Cell 141:956-969.
35. Citogenética clínica parte 1. (2009). *Bandeo de cromosomas [Imagen]*. Documento electrónico disponible en: <http://biomodel.uah.es/citogene/horwitz/cytogen1.htm>. Consulta realizada el 03 de marzo de 2012.
36. Clerc, P. and Avner, P. (2010). *New lessons from random X-chromosome inactivation in the mouse*. J. Mol. Biol. 409:62-69.
37. Cochat, P.C.; Pichault, V.; Baccetta, J.; Dubourg, L.; Sabot, C. S.; Daudon, M.; Liutkus, Aurélia. (2010). *Nephrolithiasis related to inborn metabolic diseases*. Pediatric Nephrology 25:415-424.

38. Coral Vázquez, R. M.; López Hernández, L. B.; Ruano Calderón, L. A.; Gómez Díaz, B.; Fernández Valverde, F. y Bahena Martínez, E. (2010). *Distrofias musculares en México: Un enfoque clínico, bioquímico y molecular*. Rev Esp Med Quir 15(3):152-160.
39. Cordier, A. (2005). *Menkes disease*. Orphanet Encyclopedia. Documento electrónico disponible en: [www.orpha.net/data/patho/GB/uk-menkes.pdf](http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-menkes.pdf). Consulta realizada el día 16 de Noviembre de 2011.
40. Correa Garzón, L. C. (2005). *Mucopolisacaridosis*. Documento electrónico disponible en: [http://www.scp.com.co/precop/precop\\_files/modulo\\_4\\_vin\\_3/mucopolisacaridosis.pdf](http://www.scp.com.co/precop/precop_files/modulo_4_vin_3/mucopolisacaridosis.pdf). Consulta realizada el día 17 de Noviembre de 2011.
41. Cummings, M. (2009). *Human heredity: principles and issues*. (8a Ed.). Belmont, California; México: Brooks/Cole.
42. Davenport, M. L. (2010). *Approach to the patient with Turner Syndrome*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 95(4): 1487-1495.
43. De Brasi, C. D. and Bowen, D. J. (2008). *Molecular characteristics of the intron 22 homologs of the coagulation factor VIII gene: an update*. J Thromb Haemost 6(10): 1822-1824.

44. Díaz Barriga Arceo, S. y Bonilla Sánchez, R. (2001). *Técnicas básicas en citogenética: Elaboración y análisis de cariotipo*. UNAM-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
45. Doglio, L.; Pavan, E.; Pernigotti, I.; Petralia, P.; Frigo, C. and Minetti, C. (2011). *Early signs of gait deviation in Duchenne Muscular Dystrophy*. Eur J Phys Rehabil Med 47:1-2.
46. Dovas, A. and Cox, D. (2010). *Regulation of WASp by phosphorylation: Activation or other functions?* Communicative and Integrative Biology 3(2):101-105.
47. Drets, M. E. (2002). *Una saga citogenética: El descubrimiento de los bandeos cromosómicos. Significado y proyección bio-médica*. Rev Med Uruguay 18:107-121.
48. Eandi Eberle, S.; García Rosolen, N.; Uransu, C.; Sciuccati, G.; Díaz, L.; Saviotto, V.; Candás, A.; Avalos Gómez, V.; Cervio, C.; Bondulei, M. y Feliú Torres, A. (2011). *Deficiencia de glucosa -6-fosfato-deshidrogenasa. Serie de casos clínicos*. Arch Argent Pediatr 109(4):354-361.
49. Escamilla Del Arenal, M., Teixeira da Rocha, S. and Heard, E. (2011). *Evolutionary diversity and development regulation of X chromosome inactivation*. Hum Gen 130:307-327.

50. Federación de Hemofilia de la República Mexicana, A.C. (2011). Documento electrónico disponible en <http://www.hemofilia.org.mx/portal>. Consulta realizada el día 17 de Noviembre de 2011.
51. Fonseca, D.; Mateus, M.; Silva, C.; Contreras, N. y Restrepo, C. (2005). *Generalidades de la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo*. Acta Med Colomb 30(2):59-64.
52. Fundación Ginebrina para la formación y la investigación médica. (2008). Normal sexual differentiation [Imagen]. Documento electrónico disponible en: [http://www.gfmer.ch/Cours/Normal\\_sexual\\_differentiation.htm](http://www.gfmer.ch/Cours/Normal_sexual_differentiation.htm). Consulta realizada el día 17 de Noviembre de 2011.
53. Galán Gómez, E. (2002). *Aplicaciones del laboratorio de citogenética a la clínica*. Pediatr Integral 6(9):820-830.
54. Galán Gómez, E. (2010). *Protocolo de diagnóstico terapéutico del Síndrome de Turner*. Protoc diagn ter pediatr. 1: 101-106.
55. Gardner, E. J.; Simmons, M. J.; Snustad, P. (2005). *Principios de genética*. (4<sup>a</sup> Ed.). México: Limusa Wiley.
56. Genetic Home Reference. X linked Recessive (affected father) [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/illustrations/xlinkrecessivefather>. Consulta realizada el día 14 de Noviembre de 2011.

57. Genetics Home Reference. Genes of chromosome X [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/X/show/Genes>. Consulta realizada el 02 de Septiembre de 2011.
  
58. Genetics Home Reference. X linked dominant (affected father) [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/illustrations/xlinkdominantfather>. Consulta realizada el 03 de Marzo de 2012.
  
59. Genetics Home Reference. X linked dominant (affected mother) [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/illustrations/xlinkdominantmother>. Consulta realizada el 03 de Marzo de 2012.
  
60. Genetics Home Reference. X linked recessive (carried mother) [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/illustrations/xlinkrecessivemother>. Consulta realizada el 03 de Marzo de 2012.
  
61. Germain, D. P. (2010). *Fabry disease*. Orphanet Journal of rare disease 5:30.
  
62. Gersen, S. L. and Keagle, M. B. (2005). *The principles of clinical cytogenetics*. Human Press, New Jersey. pp. 231-236.

63. Goldschmidt, E., Márquez, M., Solari, A., Ziembar, M. I., Laudicina, A. (2010). *Variabilidad fenotípica en pacientes 47, XXX*. Presentación de cuatro nuevos casos. Arch. argent. pediatr. 108(4):e88-e91.
64. González Huerta, N. C., Hernández Zamora, E.; Arenas Sordo, M. L.; Escobar Cedillo, R. E.; Miranda Duarte, A. y Leyva García, N. (2004). *Identificación de deleciones en el gen DMD mediante PCR múltiple en pacientes mexicanos con distrofia muscular de Duchenne-Becker*. Rev Med Hosp Gen Mex 67(4):196-202.
65. Griffiths, A. J. (2008). *Genética*. (9ª Ed.). Aravaca, Madrid; México: McGraw Hill Interamericana.
66. Grupo de trabajo de enfermedades poco frecuentes. (2011). *Guía para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la mucopolisacaridosis de tipo II (MPS II) o enfermedad de Hunter*. Arch. Argent. Pediatr. 119(2): 175-181. Documento electrónico disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-00752011000200021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-00752011000200021&script=sci_arttext). Consulta realizada el día 17 de Noviembre de 2011.
67. Guibinga, G. H.; Hsu, S. and Friedmann, T. (2009). *Deficiency of the Housekeeping gene hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) dysregulates neurogenesis*. Mol Ther 18(1): 54-62.

68. Guizar- Vázquez, J. J. (2001). *Genética clínica: Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias*. (3ª Ed.) México: Manual Moderno.
69. Hall, H., Hunt, P. and Hassold, T. (2006). *Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy cause meiotic errors*. *Curr Opin Genet Dev* 16: 323-329.
70. Hamouda, H. B.; Mkacher, N.; Elghezal, H.; Bannour, H.; Kamoun, M.; Soua, H.; Saad, A.; Soussi, M. M. and Sfar, M. T. (2009). *Prenatal diagnosis and prognosis of triple X syndrome: 47, XXX*. *Journal of Gynécol Obstet Biol Reprod* 38(7):599-603.
71. Harper, P. S. (2011). *Mary Lyon and the hypothesis of random X chromosome inactivation*. *Hum Genet* 130: 169-174.
72. Hartl, Daniel L. and Jones, Elizabeth J. (2009). *Genetics: Analysis of genes and genomes*. (7ª Ed.) Sudbury, Massachussets: Jones and Bartlet.
73. Hasegawa, Y., Brockdorff, N., Kawano, S., Tsutui, K., Tsutui, K., Nakagawa, S. (2010). *The matrix protein hnRNP U is required for chromosomal localization Xist RNA*. *Dev Cell* 19:469-476.
74. Hernández Aguilar, F. O. (2005). *Identificación de eliminaciones en el gen distrofina (dMD) en pacientes con diagnóstico dmd/dmb y detección de*

*portadoras de las mismas mediante el análisis rt-pcr del transcrito del gen dmd*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

75. Herrero Calvo, J. A. (2011). *Nefropatía por enfermedad de Fabry*. *Nefro Sup Ext* 2(1): 88-96.
  
76. Huerta, L. (2011, octubre). *Expertos de FES Iztacala detectan enfermedad genética poco común. En Akil, Yucatán, hay varios pacientes*. *Gaceta UNAM*. No. 4,374, pág. 1,16.
  
77. Human Genome Project Information. (2011). *Chromosome X [Imagen]*. Documento electrónico disponible en: [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/posters/chromosome/chromoX.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/chromoX.shtml). Consulta realizada el día 08 de marzo de 2012.
  
78. IMSS (Instituto Mexicano del Seguro Social). (2009). *Guía de referencia: Diagnóstico y seguimiento en enfermedad de Fabry*. Documento electrónico disponible en: <http://www.imss.gob.mx/profesionales/guiasclinicas/Documents/GRRENFABRY.pdf>. Consulta realizada el día 16 de Noviembre de 2011.
  
79. Jakob, S. and Lovell-Badge, R. (2011). *Sex determination and the control of SOX9 expression in mammals*. *FEBS Journal* 278 (7): 1002-1009.

80. Kalantry, S. (2011). *Recent advances in X-chromosome inactivation*. J Cell Physiol 226(7): 1714-1718.
81. Kim, K. A.; Wagle, M.; Tran, K.; Zhan, X.; Dixon, M. A.; Liu, S.; Tomasevic, N.; Binnerts, M. and Abo, A. (2008). *R-spondin family members regulate the WNT pathway by a common mechanism*. Mol Biol Cell 19(6):255-2596.
82. Klug, William S., Cummings, Michael R., Spencer, Charlotte A. (2006). *Conceptos de genética*. (8a Ed.) Madrid; México: Pearson Education.
83. Knower, K. C.; Kelly, S.; Ludbrook, L. M.; Bagheri-Fam, S.; Sim, H.; Bernard, P.; Sekido, R.; Lovell-Badge, R.; Harley, V. R. (2011). *Failure of SOX9 regulation in 46, XY disorders of sex development with SRY, SOX9 and SF1 mutations*. Plos One 6(3):e17751.
84. Köhler, B.; Lumbroso, S.; Leger, J.; Audran, F.; Sarret Grau, E.; Kurtz, F. et al. (2005). *Androgen Insensitivity syndrome: somatic mosaicism of the androgen receptor in seven families and consequences for sex assignment and genetic counseling*. J Clin Endocrinol Metab 90(1): 106-111.
85. Konkle, B. A., Josephson, N. C., Nakaya Fletcher, S. M., Thompson, A. R. (2011). *Hemophilia A*. Gene Reviews. Documento electrónico disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1404/>. Consulta realizada el 15 de Noviembre de 2011.

86. Koopman, P. and Wilhelm, D. (2006). *Gonadal sex determination and differentiation*. eLS.
87. Kumar, N. J.; Taneja, K. K.; Kumar, A.; Nayar, D.; Taneja, B.; Aneja, S.; Behari, M.; Veena, K. and Bansal, S. K. (2010). *Novel mutation in ATP-binding domain of ABCD1 gene in adrenoleukodystrophy*. *J Genet* 89(4):473-477.
88. Liu, X.; Fu, J.; Cai, Z.; Sun, L.; Zhang, X.; Li, Z. et al. (2011). *A novel nonsense mutation in the androgen receptor gene causes the complete androgen insensitivity syndrome*. *Journal of Andrology*. Documento electrónico disponible en: <http://www.andrologyjournal.org/cgi/rapidpdf/jandrol.111.013581v1.pdf>. Consulta realizada el 15 de Noviembre de 2011.
89. López Hernández, L. B.; Ayala Madrigal, M. L.; Heusden D. V.; Estrada Mena, F. J.; Canto, P.; Sandoval Ramírez, L.; Gómez Díaz, B.; Coral Vázquez, R. M. (2011). *Mejoras en el diagnóstico de distrofinopatías: ¿qué hemos aprendido en 20 años?*. *Rev Neurol* 52(4): 239-249.
90. López Hernández, L. B.; Vázquez Cárdenas, N. A.; Luna Padrón, E. (2009). *Distrofia muscular de Duchenne: Actualidad y perspectivas de tratamiento*. *Rev Neurol* 49(7):369-375.

91. Lucchesi, J. C., Kelly, W. C., Panning, B. (2005). *Chromatin remodeling in dosage compensation*. *Annu Rev Genet* 39:615-651.
92. Luque Cabrera, J. (2001). *Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética: conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud*. Madrid: Harcourt.
93. Manrique Hurtado, H.; Calderón Ticona, J.; Medina Sánchez, C., Milagros, D.; Solís Villanueva, J.; Pinto Valdivia, M. (2007). *Pseudohermafroditismo masculino: insensibilidad androgénica completa. Reporte de un caso*. Documento electrónico disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rspmi/v20n1/a06v20n1.pdf>. Consulta realizada el día 19 de noviembre de 2011.
94. Manucci, P. M. (2002). *Hemophilia and related bleeding disorders: A story of fismay and success*. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 1:9.
95. Martin, R.; Beck, M.; Eng, C.; Giugliani, R.; Harmatz, P.; Muñoz, V. and Muenzer, J. (2008). *Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome)*. *Pediatrics* 121:e377.
96. Matijevic, T.; Knezevic, J.; Slavica, M. and Pavelic, J. (2009). *Rett syndrome: From the gene to the disease*. *Eur Neurol* 61:3-10.

97. Mauser Bunschoten, E. P. (2009). *Portadoras de hemofilia sintomática: El tratamiento de la hemofilia monografía 46. Federación Mundial de Hemofilia.* Documento electrónico disponible en: [http://www.wfh.org/3/7/7\\_0\\_Publications\\_SP.htm](http://www.wfh.org/3/7/7_0_Publications_SP.htm). Consulta realizada el día 19 de Noviembre de 2011.
98. McKenzie, S. B. (2000). *Hematología clínica.* (2ª Ed.) México: Manual Moderno.
99. Mendoza García, C. L. (2009). *Alteraciones endocrinológicas en pacientes con Síndrome de Turner. Tesis de subespecialidad en endocrinología pediátrica.* Hospital Infantil de México.
100. Migeon, Barbara R. (2007). *Females are mosaics: X inactivation and sex differences in disease.* Oxford: Oxford University Press.
101. Morgan, Thomas. (2007). *Turner Syndrome: Diagnosis and Management.* Am Fam Physician 76(3): 405-410.
102. Mundo Ayala, S. N. y Jaloma Cruz, A. R. (2007). *Evaluación del patrón de inactivación del cromosoma X en portadoras sintomáticas y mujeres con hemofilia.* Gac Méd Méx 144:2
103. Na, E. S. and Monteggia, L. M. (2011). *The role of MeCP2 in CNS development and function.* Horm Behav 59(3): 364-368.

104. Noonan, F. C., Mutch, D. G., Mallon, M. A. y Goodfellow, P. J. (2001). *Characterization of homeodomain gene EMX2: sequence conservation, expression analysis, and a search for mutations in endometrial cancers*. Genomics 76 (1-3): 37-44.
105. Nussbaum, R. L. (2008). *Genética en medicina*. (7ª Ed.) Barcelona, España; México: Masson.
106. Ochs, H. D. and Thrasher, A. J. (2006). *The Wiskott-Aldrich syndrome*. J Allergy Clin Immunol 117(4): 725-738.
107. Oliva Virgili, R. (2008). *Genética médica*. Barcelona: Universidad de Barcelona; Madrid: Díaz de Santos.
108. OMIM (Online Inheritance Mendelian). (2011). *Monoamine Oxidase A (MAOA)*. Documento electrónico disponible en: <http://omim.org/entry/309850>. Consulta realizada el día 18 de Noviembre de 2011.
109. Otter, M., Schrandner-Stumper, C., Curts, L. (2010). *Triple X syndrome: a review of literature*. Eur J Hum Genet 18(3): 265-271.

110. Parma, P. Radi, O., Vidal, V. Chaboissier, M. C., Dellambra, E., Valentini, S., Guerra, L. Shedl. A., Camerino, G., (2006). *R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy*. Nat Genet 38(11): 1304-1309.
111. Payer, B., Lee, J. T., Namekawa, S. H. (2011). *X-inactivation and X-reactivation: epigenetic hallmarks of mammalian reproduction and pluripotent cells*. Hum Genet 130: 265-280.
112. Perronet, C. and Vaillend, C. (2010). *Distrophins, utropins, and associated scaffoldings complexes: Role in mammalian brain and implications for therapeutic strategies*. Journal of Biomedicine and Biotechnology 10:19 Article ID: 849426.
113. Pfeiffer, B. E. and Huber, K. M. (2009). *The state of synapses in fragile X syndrome*. Neuroscientist 15(5):549-567.
114. Pierce, B. A. (2006). *Genética: Un enfoque conceptual*. (2ª Ed.) Madrid; México: Médica Panamericana.
115. Pontier, D., Gribnau, J. (2011). *Xist regulation and function explored*. Hum Genet 130:223-236.

116. Pontón, R. A. (2006). *Enfermedades relacionadas con la nutrición: trastornos del metabolismo del cobre*. Invenio 9(106): 131-151.
117. Pontón, R. A. (2007). *Enfermedades relacionadas con la nutrición. Enfermedades de los peroxisomas*. Invenio 10(18):139-164.
118. Qin, Z.; Konanilah, E. S.; Neltner, B.; Nemenoff, R. A.; Hui, D. Y.; Wientraub, N. L. (2010). *Participation of ATP7A in macrophage mediated oxidation of LDL*. J Lipid Res. 51:1471-1477.
119. Ramírez, Chayne, J. y Zarate, I. (2009). *Deficiencia de glucosa-6- fosfato deshidrogenasa: situación actual, su relación con malaria y estrategias para calcular su prevalencia*. Univ Med Bogotá (Colombia) 50(1):58-76.
120. Reti, M. I.; Xu, J.Z.; Yanofski, J.; McKibben, J.; Uhart, M.; Cheng, Y.J. et al. (2011). *Monoamine oxidase A regulates antisocial personality in whites with no history pf physical abuse*. Compr Psychiatry 52:188-194.
121. Rey, R. (2001) *Diferenciación Sexual embrio-fetal: de las moléculas a la anatomía*. Rev. chil. Anat., Temuco v. 19, no. 1. Documento electrónico disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-98682001000100012&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682001000100012&lng=es&nrm=iso). Consulta realizada el 19 de Agosto de 2011.

122. Ringo, J. (2004). *Fundamental genetics*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
123. Rius Mas, M.; Marquès Soler, L. y Navarro Ferreté, J. (2011). *Diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidías: Indicaciones, técnicas y estrategias*. Rev Asoc Biol Rep 16(1): 10-18.
124. Robbins, S. and Cotran, R. S. (2007). *Compendio de Robbins y Cotran: Patología estructural y funcional*. (7ª Ed.) Madrid: Elsevier.
125. Rochetti, M. P.; Slavsky, A.; Leal, J.; Alosó, M. B.; Garrido, J.; Kessler, K. y Selandari, J. (2011). *Descripción del caso presentado en el número anterior: Distrofia Muscular de Duchenne*. Arch Argent Pediatr 109(5):453-454.
126. Rodado, M. J., Manchón Trives, I., Lledó Bosch, B., Galán Sánchez, F. (2010). *Tetrasomía X (cariotipo 48, XXXX) en una niña con trastorno de conducta*. Rev Psiquiat Salud Ment 3(3): 102-105.
127. Rodríguez Martorell, F. J.; Mignot, M. E.; Paloma, A.; Nuñez, R.; Pérez Garrido, R.; Villar, A.; Tizzano, E. F.; Alonso, C.; Altisenti, C.; Aznar, J. A.; Bermejo, N.; Blázquez, A.; Galmes, B.; García Frade, L. J. Irvín, G.; López Cabarcos, C.; Lucía, C. F.; Moreno, M.; Sedano, C.; Simón, M. A.; Soriano, V.; Tumes, J. y Liras, A. (2009). *Recomendaciones sobre portadoras en Hemofilia*. Real Fundación Victoria Eugenia. Documento electrónico disponible en: [www.hemofilia.com/fundacion/publicaciones/monografias/recomendaciones-](http://www.hemofilia.com/fundacion/publicaciones/monografias/recomendaciones-)

[obre-portadoras-en-hemofilia.html](#). Consulta realizada el día 12 de Enero de 2012.

128. Rodríguez, Martínez, L. M. (2003). *Estudio clínico-epidemiológico de los análisis cromosómicos que conllevan un exceso de material genético numérico y estructural, excluyend trisomías 13, 18 y 21*. Tesis de doctorado. Universidad Complutense de Madrid. Documento electrónico disponible en: <http://eprints.ucm.es/tesis/bio/ucm-t26407.pdf>. Consulta realizada el día 04 de Enero de 2012.
  
129. Roque, J. M.; Oliveira Carvalho, V.; Nóbilo Pascualino, L.; Ayub Ferreira, S.; Alades Bocchi, E. y Veiga Giuimarães, G. (2010). *Entrenamiento físico en la distrofia muscular de Becker asociada a la insuficiencia cardíaca*. *Arq Bras Cardiol* 97(6):e128-e131.
  
130. Ross, M. T.; Grafham, D. V.; Coffey, A. J.; Scherer, S.; McLay, K.; Muzny, D.; Platzer, M.; Howeel, G. R.; Sudbrak, R.; Jones, M. C.; Hurler, M. E.; Andrews, T. D.; Scott, C. E.; Searle, S.; Ramser, J.; Whitakker, A.; Deadman, R.; Carter, N.P.; Hunt, Sarah, E.; Chen, R.; Cree, A.; Gunaratne, P.; Havlak, P.; Hodgson, A.; Metzker, M.L.; Richards, S.; Graham, S.; Steffen, D.; Sodergren, E.; Wheeler, D.A.; Worley, K. C.; Ainscough, R.; Ambrose, K. D.; Ansari-Lari, M. A.; Swaroop, A.; Ashwell, S.; Babbage, A. K.; Bagguley, C. L.; Ballabio, A.; Beck, A.; Graeme, B.; Blechschmidt, K.; Brady, N.; Bray-Allen, S.; Bridgeman, A. M.; Brown, A. J.; Brown, M. J.; Bye, J. M.; Carder, C.; Carrel, L.; Chako, J.; Chapman, J. C.; Chacez, D.; Chen, E.; Chen, G.; Chen, Y.; Chen, Y.; Chen, Z.; Chinault, C.; Ciccodicola, A.; Clark, S. Y.; Graham, C.; Clee, C. M.; Clegg, S.; Clerc-Blankenburg, K.; Clifford, K.; Cobley, V.; Cole, C. G.; Conquer, J. S.; Corby, N.; Connor, R. E.; David, R.; Davies, J.; Davis, C.; Delgado, O.;

DeShazo, D.; Pawandeeep, D.; Ding, Y.; Dinh, H.; Dosworth, S.; Draper, H.; Dugan-Rocha, S.; Dunham, A.; Dunn, M.; Durbin, J.; Dutta, I.; Eades, T.; Ellwood, M.; Eney-Cohen, A.; Errington, H.; Evans, K. L.; Faulkner, L.; Francis, F.; Frankland, J.; Fraser, A. E.; Galgoczy, P.; Gilbert, J.; Gill, R.; Glöckner, G.; Gregory, S. G.; Gribble, S.; Griffiths, C.; Grocock, R.; Gu, Y.; Gwilliam, G.; Hamilton, C.; Hart, E. A.; Hawes, A.; Heath, P. D.; Heitman, K.; Henning, S.; Hernandez, J.; Hinzmann, B.; Ho, S.; Hoff, M.; Howden, P. J.; Huckle, E. J.; Hume, J.; Hunt, P. J.; Hunt, A. R.; Isherwood, J.; Jacob, L.; Johnson, D.; Jones, S.; Jong, P. J.; Joseph, S. S.; Keenan, S.; Kell, S.; Kershaw, J. K.; Khan, Z.; Kioschis, P.; Klages, S.; Knights, A. J.; Kosiura, A.; Kovar-Smith, C.; Laird, G. K.; Langford, C.; Lawlor, S.; Leversha, M.; Lewis, L.; Liu, W.; Lloyd, C.; Lloyd, D. M.; Loulseged, H.; Loveland, J. E.; Lovell, J. D.; Lozado, R.; Lyne, R.; Ma, J.; Maheshwari, M.; Mathews, L. H.; McDowall, J.; McLaren, S.; McMurray, A.; Meidi, P.; Meitinger, T.; Milne, S.; Miner, G.; Mistry, S. L.; Morgan, M.; Morris, S.; Müller, I.; Mullikin, J. C.; Nguyen, N.; Nordsiek, G.; Nyakatura, G.; O'Dell, C. N.; Okwuonu, G.; Palmer, S.; Pandian, R.; Parker, D.; Parrish, J.; Pasrtenak, S.; Patel, D.; Pearce, A. V. Pearson, D. M.; Pelan, S. E.; Perez, L.; Porter, K. M.; Ramsey, Y.; Reichwald, K.; Rhodes, S.; Ridler, K. A.; Schlessinger, D.; Schueler, M. G.; Sehra, H. K.; Shaw-Smith, C.; Shen, H.; Sheridan, E. M.; Shownkeen, R.; Skuce, C. D.; Smith, M. L.; Sotheran, E. C.; Steingruber, H. E.; Steward, C. A.; Stirey, R.; Swann, R. M.; Swarbreck, D.; Tabor, P. E.; Taudien, S.; Taylor, T.; Teague, B.; Thomas, K.; Thorpe, A.; Timms, K.; Tracey, A.; Trevanion, S.; Tromans, A. C.; d'Urso, M.; Verduzco, D.; Villasana, D.; Waldron, L.; Wall, M.; Wang, Q.; Warren, J.; Warry, G. L.; Wei, X.; West, A.; Whitehead, S. L.; Whiteley, M. N.; Wilkinson, J. E.; Willey, D. L.; Williams, G.; Williams, L.; Williamson, A.; Williamson, H.; Wilming, L.; Woodmansey, R. L.; Wray, P. W.; Yen, J.; Zhang, J.; Zhou, J.; Zoghbi, H.; Zorilla, S.; Buck, D.; Reinhardt, R.; Poustka, A.; Rosenthal, A.; Lehrach, H.; Meindl, A.; Minx, P. J.; Hillier, L. W.; Willard, H. F.; Wilson, R. K.; Waterson, R. H.; Rice, C. M.; Vaudin, M.; Coulson, A.; Nelson, D. L.; Weinstock, G.; Sulston, J. E.; Durbin, R.; Hubbard, Gibbs, R. A.; Beck, S.;

- Rogers, J.; Bentley, D. R. (2005). *The DNA sequence of the human X chromosome*. Nature; 434 (7031): 325-337.
131. Rosseti, C.L.; Radic, C. P.; Larripa, I. B. and De Brasi, C. D. (2005). Genotyping the hemophilia inversion hotspot by use of inverse PCR. Clinical chemistry 51(7):1154-1158.
132. Rousseau, F.; Labelle, Y.; Bussi eres, J.; Lindsay, C. (2011). *The fragile X mental retardation syndrome 20 years after the FMR1 gene discovery: An expanding universe of knowledge*. Clin Biochem Rev 32(3): 135-162.
133. Salazar Sánchez, L.; Jiménez Cruz, G.; Méndez, M.; Chaverri, P.; Alvarado, P.; Shr oder, W.; Wolff, K.; Sandoval, M.; Herrmann, F. H.; Pavlova, A. and Oldenburg, J. (2010). Molecular analysis of FVIII gene in severe HA patients of Costa Rica. Prevalence of intrón 1 and 22 inversion. Hamostaseologie. Supl. 1:S150-2.
134. Saldarriaga Gil, W., Ávila Sánchez, F., Isaza de Lourido, C. (2011). *Síndrome de Turner con Mosaicismo 45X/46XY: Reporte de caso*. Rev Chil Obstet Ginecol 76(1): 47-51.
135. Scott, A. L. (2010). Monoamine oxidase deficiency and emotional reactivity: *Neurochemical and developmental studies*. Tesis de Doctorado no publicada. University of Southern California, United States of America. Documento electrónico disponible en: <http://digitallibrary.usc.edu/assetserver/controller/item/etd-Scott-4065.pdf>. Consulta realizada el día 18 de Noviembre de 2011.

136. Sekido, R. (2010). *SRY: A transcriptional activator of mammalian testis determination*. *Int J Biochem Cell Biol* 42 (3): 417-420.
137. Sifuentes Moreno, J.; Manrique Hurtado, H.; Solís Villanueva, J.; Quintanilla, V. A.; Navarro Falcón, M.; Acosta Chacaltana, M.; Árevalo Oropeza, M. y Cárdenas Chávez, M. (2010). *Adrenoleucodistrofia: Reporte de caso*. *Rev Soc Perú Med Intern* 3(4):167-170.
138. Silva, C., Contreras, N. y Fonseca, D. (2008). *Utilidad de la citogenética en la medicina actual. Visión histórica y aplicación*. *Acta Médica Colombiana*, 33, 309-316. Documento electrónico disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1631/163113824009.pdf>. Consulta realizada el 31 de agosto de 2011.
139. Síndrome de Turner: Una guía para familias. (2005). Turner syndrome society of the United States. Documento electrónico disponible en: [www.turnersyndromeus.org](http://www.turnersyndromeus.org). Consulta realizada el 18 de Octubre de 2011.
140. Solari, A.; Groisman, B.; Bidondo, M. P.; Cinca, C. y Alba, L. (2008). *Síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos; diagnóstico y características clínicas*. *Archivos argentinos de pediatría* 106(3). Documento electrónico disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-00752008000300014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-00752008000300014&script=sci_arttext). Consulta realizada el 18 de Octubre de 2011.

141. Strachan, T. and Read, A. (2010). *Human Molecular Genetics*. (4a Ed.). New York: Garland Science/Taylor & Francis.
142. Tartaglia, N. R., Howell, S., Sutherland, A., Wilson, R., Wilson, L. (2010). *A review of trisomy X (47, XXX)*. Orphanet Journal of Rare Diseases 5:8.
143. Testai, F. D. and Gorelick, P. B. (2010). *Inherited Metabolic Disorders and Stroke part 1: Fabry disease and mitochondrial, encephalopathy, acidosis lactic, and strokelike episodes*. Arch Neurol 67(1): 19-24.
144. NCBI (The National Center of Biotechnology Information). Online Mendelian Inheritance. (n.d.) Documento electrónico disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>. Consulta realizada el 10 de Noviembre de 2011.
145. Tomaselli, S.; Megioni, F.; Lin, L.; Mazzinilli, M. C.; Gerrelli, D.; Majore, S.; Gramatico, P. and Acherman, J. C. (2011). *Human RSP01/R-spondin 1 is expressed during early development and augments  $\beta$ -catenin signaling*. Plos One 6(1):e16366.
146. Torra, R. y Ballarín, J. (2003). *La enfermedad de Fabry*. Nefrología 23(1):84-89.

147. Torres, R. J. and Puig, J. G. (2007). *Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome*. Orphanet Journal of Rare Diseases 2(48).
148. Tümer, Z. and Møller, L. B. (2010). *Menkes disease*. Eur J Hum Genet 18, 511-518.
149. Uhlenhaut, H. and Treier, M. (2006). *Foxl2 function in ovarian development*. Mol Gen Metab 88(3):225-234.
150. Universidad Complutense de Madrid. (s.f.). *El cariotipo humano* [Imagen]. Documento electrónico disponible en: <http://www.ucm.es/info/genetica/AVG/practicas/cariotipo/carioP.htm>. Consulta realizada el día 30 de Agosto de 2011.
151. Urbach, A. and Benvenisty, N. (2009). *Studying early lethality of 45, XO (Turner's syndrome) embryos using Human Embryonic Stem Cells*. Plos One 4(1):e4175.
152. Valadares, E. R.; Trindade, A. L. C.; Oliveira, L. R.; Arantes, R. R.; Daker, M. V.; Viana, B. M.; Haase, V. G.; Jardim, L. B.; Lopes, G. C. y Godard, A. L. B. (2011). *Novel exón nucleotide deletion causes adrenoleukodystrophy in a brazilian family*. Genet Mol Res 10(1):65-74.
153. Welsch, U. (2009). *Histología*. (2ª Ed.). Madrid; México: Panamericana.

154. Willesen, R.; Levena, J. and Oostra B. A. (2011). *CGG repeat in the FMR1 gene: size matters*. Clin Genet 80:214-225.
155. Wilson, C. A. and Davies, D. C. (2007). The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. *Reproduction* 133 331-359.
156. Wolpert, Lewis. (2010). *Principios del desarrollo*. (3<sup>a</sup> Ed.) Buenos Aires, Argentina; México: Médico Panamericana.
157. Wraith, J. E.; Scarpa, M.; Beck, M.; Bodamer, O. A.; De Meirleir, L.; Guffon, N.; Meldgaard, A. L.; Malm, G.; Van der Ploeg, A. T.; Zeman, J. (2008). *Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy*. Eur J Pediat 167:267-277.
158. Xu, B.; Yang, W.H.; Gerin, I., Hu, C.D.; Hammer, G. D., Koenig, R. J. (2009). *DAX-1 and steroid receptor RNA activator (SRA) function as transcriptional coactivators for steroidogenic factor 1 in steroidogenesis*. Mol Cell Biol 29(7): 1719-1734.
159. Yang, C., Chapman, A. G., Kelsey, A. D., Minks, J., Cotton, A. M., Brown, C. J. (2011). *X-chromosome inactivation: molecular mechanisms from human perspective*. Hum Genet 130:175-185.