



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA**

BÚSQUEDA DE CNV EN INDIVIDUOS CON SÍNDROME DE TURNER

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JULIETA DOMÍNGUEZ ORTIZ

**TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LEDA CAROLINA TORRES MALDONADO
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: MED. ESP. ALESSANDRA CARNEVALE CANTONI
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
DR. HORACIO MERCHANT LARIOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM**

MÉXICO, D.F ABRIL 2015



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.



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 19 de enero de 2015, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **DOMÍNGUEZ ORTIZ JULIETA** con número de cuenta **302501557**, con la tesis titulada **"BÚSQUEDA DE CNV EN INDIVIDUOS CON SÍNDROME DE TURNER"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. LEDA CAROLINA TORRES MALDONADO**:

Presidente: DRA. SARA FRIAS VÁZQUEZ
Vocal: DRA. GLORIA QUEIPO GARCÍA
Secretario: MED. ESP. ALESSANDRA CARNEVALE CANTONI
Suplente: DRA. SUSANA HELENA KOFMAN EPSTEIN
Suplente: DR. HORACIO MERCHANT LARIOS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 05 de marzo de 2015

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Al CONACYT por otorgar la beca número 262622

Este proyecto fue apoyado por los donativos: CONACyT FOSSIS 142040 "Búsqueda de CNV en Individuos con Trisomía 21 y Monosomía X " y Fondos Federales INP 84/2010

A los miembros del Comité Tutor:
Dra. Alessandra Carnevale Cantoni
Dr. Horacio Merchant Larios

A los miembros del Jurado:
Dra. Sara Frías Vázquez
Dra. Gloria Queipo García
Dra. Alessandra Carnevale Cantoni
Dra. Susana Helena Kofman Epstein
Dr. Horacio Merchant Larios

A mi Tutora la Dra. Leda C. Torres Maldonado sin la cual no hubiera sido posible llevar a cabo esta Tesis.

A la Dra. Sara Frías Vázquez por su invaluable dirección y apoyo en este proyecto

A la Dra. Victoria del Castillo Ruiz, la Dra. Ester Liberman Hernandez, la Dra. Emiy Yokoyama Rebollar, el Dr. Camilo Ernesto Villarroel Cortés, la Dra. Nelly F. Altamirano Bustamante y a la Dra. Gabriela Ortiz de Zarate por su trabajo para la inclusión y revisión clínica de las pacientes que participaron en este proyecto.

A la M en C. Silvia R. Sánchez Sandoval por su invaluable asesoramiento y ayuda en todo este trabajo.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Citogenética del Instituto Nacional de Pediatría con la colaboración del Instituto Nacional de Perinatología, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Hospital Ángeles Lomas y Hospital Manuel Gea González.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Todo el crecimiento personal y académico que refleja este trabajo hoy y a futuro es un logro de muchas personas a las que no podría terminar de agradecer. Son maravillosos y han respaldado cada uno de mis pasos desde inicio hasta el fin.

Primero y por supuesto estas palabras deben llegar a mi padre y a mi madre que siempre me han acompañado y que para mí, nunca dejarán de estar a mi lado. Cada paso se los debo a ustedes y su incondicional amor y apoyo. Estos últimos años por supuesto tengo los brazos de mi padre para respirar cuando más me hace falta y creo que sin ellos estaría muy atrás de mis metas y la persona que soy hoy. Gracias Josecito.

A mis tías, segundas madres y a mis hermanas, Patys están incluidas en este párrafo (pequeños demonios) siempre encuentro en ustedes refugio y consejo, imprescindibles cuando el estrés sobrepasa tus nervios, cuento con ustedes como lo hago con mi padre. Muchas gracias.

Sil, Naty, Rod son parte de mi familia y han dado empuje a todos mis proyectos desde mucho antes, cuidándome fuera y dentro del laboratorio. Siempre los tengo en mi mente y corazón.

A mis puerquitos y nenes R, sabios, divertidos, imprescindibles compañeros, jamás me dejaron caer en desesperación y mantuvieron mi ánimo para seguir hasta el final. Sin ustedes no habría logrado muchas cosas aparte de esta tesis. Gracias por estar en mi vida.

Compañeras del laboratorio y Dres. del INP, el trabajo en equipo y los consejos fuera y dentro del laboratorio son lo que mas me han hecho crecer durante el tiempo de este posgrado. Muchas gracias

Particularmente quiero nombrar a la Dra. Leda y a la Dra. Sara que me acompañaron, cuidaron y enseñaron no solo como las profesionales de excelencia que son sino como mis madres académicas que nunca dejaré de presentar orgullosamente como tales. Sobre cualquier cosa su infinita paciencia y cariño me ayudaron a concretar esta maestría y muchas cosas en mi vida. GRACIAS.

A la Dra. Susana Kofman por sus consejos y meticulosa revisión con la que se completó la versión final de esta Tesis.

A mis amigos del INCAN, Diego, Vero y Rose gracias por estar acompañándome y apoyándome para dar este cierre. Nos conocimos mejor al final de esta etapa pero definitivamente fueron esenciales para poder llevarla a término. A Lucy que nos libra y cuida de todo mal y al Dr. Herrera por su apoyo y comprensión para realizar todos los trámites de titulación.

A Victor por su cariño, compañía y comida. Te deseo lo mejor y que tu vida siempre este llena de logros.

Muchas gracias a las pacientes y sus familias que confiaron en nosotros y nos permitieron llevar a cabo este trabajo, definitivamente son ustedes quienes nos dan sentido y dirección como investigadores.

Búsqueda de CNV en individuos con Síndrome de Turner

INDICE

ABREVIATURAS	i
LISTA DE FIGURAS Y CUADROS.....	ii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
1. ANTECEDENTES	5
1.1 Estructura cromosómica	5
1.6 Anormalidades en los Cromosomas Sexuales.	7
1.7 Síndrome de Turner	9
1.7.1 Citogenética del Síndrome de Turner	10
1.7.2 Fenotipo de las pacientes con síndrome de Turner	11
1.7.3 Mosaicismo en Síndrome de Turner.....	15
1.7.4 Patogénesis de los embriones 45,X y muerte fetal	18
1.8 Variantes en el número de copia (CNV).....	18
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVO GENERAL	22
3.1 Objetivos particulares.....	22
4. MATERIALES Y MÉTODO.....	23
4.1 Población de estudio y tipo de estudio	23
4.1.1 Tamaño de muestra	23
4.1.2 Criterios de inclusión.....	23
4.1.3 Criterios de exclusión	23
4.2 Muestras biológicas.....	24
4.3 Selección de tejidos sin mosaicismo	25
4.4 Extracción de DNA	27
4.4.1 Extracción de DNA de Sangre periférica.....	27
4.4.2 Extracción de DNA de fibroblastos.....	28
4.4.3 Cuantificación y calidad del DNA	30
4.5 Microarreglos	31
4.5.1 Descripción de la plataforma empleada.	31
4.5.2 Procedimiento para el uso del microarreglo Genome-Wide Human SNP 6.0, Affymetrix.....	31
4.5.3 Análisis de los microarreglos Genome-Wide Human SNP 6.0, Affymetrix.....	32
4.6 Validación de CNV	34
4.6.1 PCR cuantitativo.	34
5. RESULTADOS.	35
5.1 Control y selección de muestras.	35
5.2 Análisis de las regiones CNV identificadas con los microarreglos.....	41
5.3 Validación de los CNV por PCR.	47
6. DISCUSIÓN.....	51

7. CONCLUSIONES.....	55
8. LITERATURA CITADA.....	56
9. ANEXOS.....	59
9.1 Anexo 1. Carta de consentimiento informado.....	59
9.2 Anexo 2. Procedimiento para FISH en leucocitos de sangre periférica y fibroblastos.....	63
9.2.1 Cultivos de cosecha directa de sangre periférica y fibroblastos.....	63
9.2.2 Procedimiento para realizar la técnica de FISH en Leucocitos y Fibroblastos.....	64
9.3 Anexo 3. Diagrama de hibridación de las sondas.....	68
9.4 Anexo 4. Tabla de regiones con CNV encontrados en las pacientes con Síndrome de Turner, Controles sanos y Abortos espontáneos con monosomía del cromosoma X.....	69
9.5 Anexo 5. Tabla de regiones con CNV y las variantes identificadas en ellas de las pacientes con Síndrome de Turner, Controles sanos y Abortos espontáneos con monosomía del cromosoma X.....	74
9.6 Anexo 6. Análisis estadístico de las regiones CNV identificadas en los tres grupos de estudio.....	90

ABREVIATURAS

CNV	Variantes en el número de copias
FoSTeS	Estancamiento en la horquilla o cambios en el templado
NAHR	Recombinación alélica no homóloga
RNA _m	RNA mensajero
rpm	Revoluciones por minuto
ST	Síndrome de Turner
mirRNAs	MicroRNA
pre-miRNA	pre-microRNA
LINE	Elementos nucleares largos interdispersos (Long interspersed nuclear element)
SINE	Elementos nucleares cortos interdispersos (Short interspersed nuclear element)
LCR	Repetidos de pocas copias (Low copy repeats)
VNTR	Repetidos en tándem de número variable (variable number tandem repeats)

ABREVIATURAS DE MEDIDAS

μg	Microgramos
μl	Microlitros
μM	Micromolar
g	Gramos
mg	Miligramos
ng	Nanogramos
h	Horas
min	Minutos
Kb	Kilobases
L	Litros
ml	Mililitos
M	Moles
mM	Milimolar
nM	Nanomolar

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

Figuras.

Figuras.

- i) Figura 1.1 Estructura del cromosoma metafásico.
- ii) Figura 1.2 Cariotipo 45,X
- iii) Figura 1.3 Características clínicas del ST
- iv) Figura 1.4 Regiones pseudoautosómicas de los cromosomas sexuales
- v) Figura 1.5 Esquema de la diferenciación de las capas embrionarias en tejidos
- vi) Figura 1.6 Imagen y esquema del blastocito humano
- vii) Figura 1.7 Mecanismos potenciales para la variación de dosis de los miRNAs mediada por CNV
- viii) Figura 4.1 Imagen del programa ChaS para el análisis de los microarreglos

Tablas.

- i) Tabla 1.1 Cariotipos encontrados en pacientes con síndrome de Turner
- ii) Tabla 1.2. Frecuencia de las principales características clínicas en el Síndrome de Turner.
- iii) Tabla 1.3 Condiciones de la reacción de PCR cuantitativa.
- iv) Tabla 5.1 Cariotipo y FISH de las 29 pacientes nacidas vivas 45,X captadas en este estudio.
- v) Tabla 5.2 Cariotipo y FISH de los 17 abortos espontáneos 45,X captados en este estudio.
- vi) Tabla 5.3 Microarreglos en muestras de controles. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.
- vii) Tabla 5.4 Microarreglos en muestras de nacidas vivas 45,X. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.
- viii) Tabla 5.5 Microarreglos en muestras de abortos espontáneos 45,X. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.
- ix) Tabla 5.6 Principales regiones que muestran un cambio de CNV entre los tres grupos de estudio.
- x) Tabla. 5.7 Tabla de las muestras incluidas en el grupo de estudio de las Nacidas vivas con el número de copias que presentan en cada una de las seis regiones identificadas en los microarreglos.
- xii) Tabla 5.8 Oligos usados en la reacción de PCR de los genes *RXRA* y *LHX6*
- xiii) Tabla 5.9 Muestras incluidas en cada grupo de controles, nacidas vivas y abortos espontáneos.
- xv) Tabla 5.10 Tabla de los valores CT y su promedio del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de los tres grupos de estudio, control, nacidas vivas y aborto espontáneo.
- xv) Tabla 5.11 Dosis génica del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de los grupos de estudio de las nacidas vivas y los abortos espontáneos.

RESUMEN

Las aneuploidías se definen como la pérdida o ganancia de un cromosoma completo sin duplicar o perder la ploidía esperada para esa especie. El Síndrome de Turner (ST) se debe a la monosomía del cromosoma X y se considera una de las anormalidades cromosómicas más comunes en mujeres. Se considera la única monosomía donde los individuos pueden llegar a término y llevar una buena calidad de vida adulta. Al menos 3% de todos los embarazos inician con embriones 45,X y presenta una alta letalidad de 99%, lo cual coloca a las nacidas vivas en una condición excepcional que falta ser estudiada, pues existen estudios sobre la aneuploidía como causa de aborto espontáneo, pero faltan trabajos sobre la razón que permite equilibrar un desbalance genético como éste, para que un feto con monosomía llegue a nacer. El objetivo de este trabajo es poder establecer que diferencias en los CNV del genoma de las pacientes con monosomía del cromosoma X y los abortos con monosomía del cromosoma X podrían estar influyendo en la sobrevivencia de los embriones 45,X.

Para cumplir este objetivo se analizaron las regiones que mostraron un cambio en el número de copias al compararse los genomas de 10 abortos con monosomía del cromosoma X, 20 nacidas vivas con monosomía del cromosoma X y 10 nacidos vivos control por microarreglos Genome-Wide Human SNP 6.0 de la marca Affymetrix, con sondas diseñadas sobre la versión de febrero de 2009 GRCh37/hg 19 del genoma humano. Una vez definidas las regiones con cambios se analizó minuciosamente cada una de ellas, utilizando las bases de datos disponibles en la red como UCSC genome browser, Database of Genomic Variants, DECIPHER, NCBI (GenBank, OMIM), Clin Var, Gene Ontology y miRBASE.

El resultado de esta búsqueda reflejó seis regiones CNV en distintos cromosomas con diferencias importantes entre nuestros grupos de estudio de pacientes ST, abortos con monosomía del cromosoma X y controles sanos. En nuestra población de nacidas vivas (tanto en controles como en pacientes) y abortos anupliodes, se identificaron dos regiones polimórficas, una en el cromosoma 8p11.22 y la otra en el cromosoma 14q32.33. En la región 9q34.2 se encontró una ganancia en las pacientes, donde se localiza en gen *RXRA* que codifica para un receptor involucrado en una gran red de vías de señalización para el correcto desarrollo embrionario, crecimiento y diferenciación celular. En la región 17q25.3 se

vió un mayor número de copias en los dos grupos aneuploides, en comparación a los controles; esta región incluye genes y miRNAs relevantes en la regulación de apoptosis, crecimiento celular y diferenciación celular. El cromosoma 22 contiene una alta densidad de miRNAs-CNV con regiones propensas a CNV, donde se ven altas tasas de cambios en el número de copias, uno de estos sitios corresponde con la posición 22q11.22, que mostró cambios entre nuestra población aneuploide (NV y AE) en comparación a los controles y que incluye el gen *MIR650*, que codifica para el hsa-miR-650, que se ha visto involucrado en la regulación de diferentes vías de proliferación y supervivencia celular.

La prueba de validación empleada para los microarreglos de este trabajo fue un cálculo de la dosis génica por qPCR del gen *RXRA* usando al gen *LXH6* como control con un número de copias = 2, en los grupos de pacientes, controles y abortos con la monosomía del X. Se comprobaron las diferencias observadas en el gen *RXRA* entre nuestros tres grupos de estudio y se observó una ganancia en algunas pacientes del grupo de nacidas vivas con monosomía X, en la región que contiene al gen *RXRA* al compararlas con el grupo AE que presenta la misma aneuploidía y con el grupo control. Este estudio es el primero que identifica posibles regiones a nivel genómico que pueden intervenir en la letalidad de los embriones 45,X, al comprometer el desarrollo del embrión aneuploide.

ABSTRACT

Aneuploidy is defined as the gain or loss of whole chromosomes without the multiplication of a haploid set. Calculations show that the human specie presents an extremely high percentage (up to 30%) of aneuploid zygotes and between 15-20% of recognized pregnancies end in miscarriage. Within first trimester miscarriages, there is 60% chromosomal alteration frequency and of these, two thirds are aneuploidies, mainly represented by autosomic trisomies and X monosomy.

Turner's Syndrome (TS), which is caused by the X chromosome monosomy, is one of the most common chromosomal anomalies in women. At least 3% of all pregnancies begin with 45,X embryos, which present a 99% mortality rate, born alive are exceedingly rare. There are studies regarding aneuploidy as a cause of spontaneous miscarriage, however there are no studies on how this genetic imbalance can be compensated so that a fetus with the monosomy X can be born. The aim of this work is to establish genomic differences between TS patients and miscarriages with monosomy X that could influence the survival rate of 45.X embryos.

To achieve this aim a group of 10 patients with monosomy X, 20 miscarriages with monosomy X and 10 normal individuals were tested by Genome-Wide Human SNP 6.0 microarrays from the Affymetrix brand with probes designed on the February 2009 GRCh37/hg 19 version of the human genome. The results were meticulously analyzed, employing available online databases such as UCSC genome browser, Database of Genomic Variants, DECIPHER, NCBI (GenBank, OMIM), Clin Var, Gene Ontology, and miRBASE. The result of this search yielded six CNV regions on different chromosomes with significant differences between our study groups of Turner patients, abortions with monosomy X and healthy individuals.

Two of the six regions were polymorphic in our population of live born (patients and controls) and miscarriages, one in chromosome 8p11.22 and the other in chromosome 14q32.33. In the region 9q34.2 is the gene *RXRA* which is an important regulator of a great network of different signaling pathways including embryo development, grow and cell differentiation. Chromosome region 17q25.3 has genes and miRNAs relevant for the regulation of apoptosis, cell growth and cell differentiation. The chromosome 22 contain a high

concentration of miRNAs-CNV in regions named as "hot spots", where it is observed a high rate of change in its copy numbers, one of this hot spots is the region q11.22 that contains *MIR650* and present a difference between our aneuploid population and our controls, the miRNA hsa-miR-650 is involved in the regulation of pathways of proliferation and cell survival. Validation of microarray results was performed through qPCR of the gene *RXRA* and the control gene *LHX6* in our three groups of study; patients, controls and miscarriages. Our control gene presented a copy number = 2 and was used to determine the *RXRA* gene dosage. The results support the observed differences in the gene *RXRA* between our three groups of study and show gain in the region that contain *RXRA* in some patients with monosomy X when is compared with the miscarriages group and the control group.

This study is the first to identify potential regions at the genomic level that can intervene in the lethality of embryos 45, X, jeopardizing aneuploid embryo development.

1. ANTECEDENTES

1.1 Estructura cromosómica

El cromosoma es una estructura formada por el DNA con ayuda de un andamio de proteínas histonas y no histonas, que lo compactan y protegen. En interfase la presentación de las hebras es mas laxa permitiendo la transcripción, caso contrario en el cromosoma metafásico, donde la condensación aumenta y disminuye el nivel de expression, resguardando la integridad del DNA durante el proceso de división celular¹.

Físicamente el cromosoma metafásico se observa como una estructura lineal de dos brazos diferenciados por una constricción primaria conocida como centrómero². En base a la nomenclatura citogenética uno de los brazos se ha nombrado como brazo corto (p) y el otro como brazo largo (q)³. Durante la fase de síntesis del ciclo celular el cromosoma duplica su material genético y genera dos cromátides hermanas que serán separadas durante la anaphase a cada célula hija. El cromosoma por tanto puede existir como una entidad de doble cromátida, cada una de las cuales contiene exactamente la misma información en su material genético Fig. 1.1⁴.

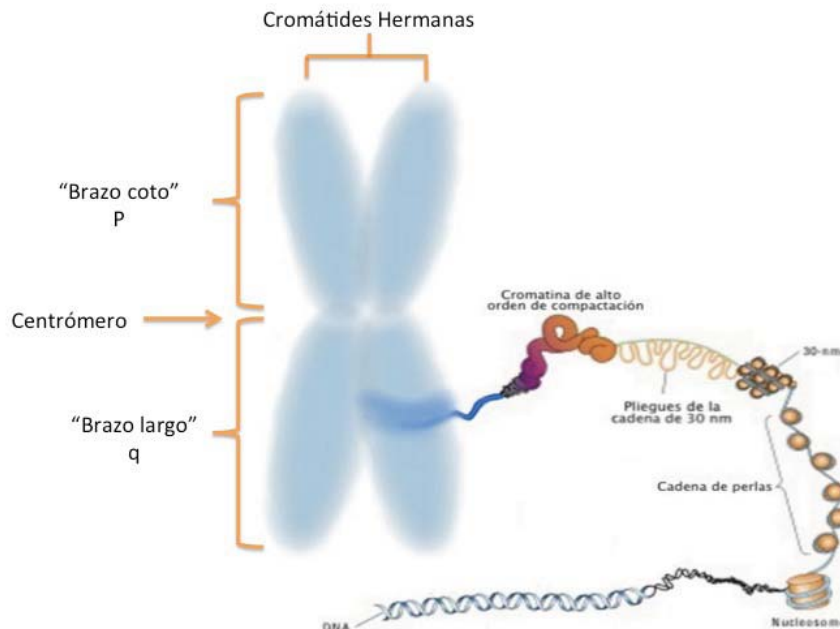


Fig. 1.1 Estructura del cromosoma metafásico mostrando los diferentes grados de compactación del DNA empleando proteínas histonas y no histonas como anclaje.

La especie humana tiene un genoma que está constituido por 46 cromosomas que se presentan en dos juegos de 23 cromosomas. De cada par de cromosomas (conocidos como homólogos) se tiene un cromosoma con origen materno y el otro de origen paterno que comparten la misma morfología en 22 de los pares llamados autosomas. El par restante es el par de cromosomas sexuales o gonosomas cuya constitución difiere entre mujeres y hombres; las mujeres con un par de cromosomas idénticos conocidos como X y los hombres con un par heteromórfico, conformado por un cromosoma X y uno de menor tamaño llamado cromosoma Y⁵.

El tener dos juegos de cromosomas componiendo nuestro genoma nos vuelve una especie diploide ($2n$) donde cada individuo tendrá en sus células somáticas esta constitución. Únicamente en los gametos se observará un solo juego de cromosomas conocido como juego haploide que se sumará al otro juego del gameto complementario para dar origen a un nuevo individuo diploide⁵.

La determinación del sexo en los humanos se da por la presencia de dos cromosomas sexuales. Para que se desarrolle un fenotipo masculino es necesaria la influencia de los genes del cromosoma Y, particularmente *SRY* (factor de determinación testicular) que se encuentra en el brazo corto del cromosoma Y y que conduce la diferenciación de las gónadas en testículos.

Este proceso de diferenciación se produce al inhibir la función del gen *NROB1* que es miembro de la familia de receptores hormonales nucleares. *NROB1* actúa como un represor del desarrollo testicular⁶ y se encuentra ligado al cromosoma X, expresándose al mismo tiempo que *SRY* de estar presente un cromosoma Y. Si *SRY* no inhibe a *NEROB1* la diferenciación testicular se verá bloqueada y genes feminizantes como *WNT4*, *RSPO1* y beta catenina iniciarán el proceso de desarrollo de ovarios.

Es por lo anterior que la presencia de un único cromosoma X, como es el caso del ST conducirá a un fenotipo femenino aunque no se logre un correcto desarrollo de los ovarios, una disgenesia gonadal⁷.

Para mantener un equilibrio en la dosis génica que presentan las mujeres en sus cromosomas sexuales en comparación a la de los hombres es necesario que se lleve a cabo

un proceso llamado inactivación del cromosoma X. De modo que aún considerando las regiones pseudoautosómicas que no entran en este silenciamiento, el cromosoma X que es inactivado se verá silenciado en su mayoría.

La región crítica que dirige la inactivación del cromosoma X es conocida como el centro de inactivación del X (*Xic*) y es donde se localiza el gen *XIST* que conduce este proceso. El RNAm del gen *XIST* se transcribe de modo aleatorio a partir de uno de los dos cromosomas X, y se mantiene en el dominio del cromosoma del cual se transcribió, localizándose específicamente en las regiones con secuencias repetidas no génicas. Se considera que este RNAm podría funcionar como un sitio de unión para factores de silenciamiento que inicien un proceso de remodelación de la cromatina donde habrá intercambio de histonas, como el cambio de H4 por macro H2A1 y una hipoacetilación. Estas modificaciones se verán acompañadas de la proteína SATB1 que contribuirá como otro modificador de la cromatina durante esta primera etapa del proceso. Hasta este punto el silenciamiento aún es reversible y para estabilizarlo requiere que el dominio conocido como SMC inicie una hipermetilación del DNA en los promotores de los genes del cromosoma X por medio de la proteína SmcHD1⁸.

El balance para que no se inactiven ambos cromosomas X recae en un equilibrio de la transcripción del RNAm del gen *XIST* y del RNAi producido por el gen *TsiX*. El RNAi tiene como objetivo el RNAm de *XIST*, una vez que se complementan, se evita el inicio del proceso de silenciamiento en el cromosoma X. Aún se desconoce el mecanismo por el cuál se selecciona el cromosoma que va a ser silenciado, sin embargo, mientras estos genes se puedan transcribir ambos cromosomas parecen tener las mismas posibilidades.

El resultado del silenciamiento aleatorio es un “mosaico” de células donde habrá dos poblaciones, una con el cromosoma X de origen paterno silenciado y otra con el de origen materno silenciado⁸

1.6 Anormalidades en los Cromosomas Sexuales.

Un desbalance en los cromosomas sexuales tiene mucho menos efectos adversos en el fenotipo que las aneuploidías de los autosomas. Analizando la composición génica de ambos cromosomas podemos diferenciar el tamaño y la gran densidad génica que presenta

el cromosoma X en comparación al cromosoma Y, donde la mayor parte de su estructura corresponde a heterocromatina y pocos genes. De modo que para ambos géneros es necesario que únicamente haya un solo cromosoma X funcional.

Los cromosoma X excedentes a uno se verán silenciados, permitiendo balancear con este mecanismo aquellos que sean supernumerarios y en caso de que haya un embrión 45,X, el único cromosoma X no será sujeto de inactivación. De este modo cualquier exceso o deficiencia podrá ser parcialmente atenuada manteniendo el desbalance “controlado” con un único cromosoma X activo.

La habilidad de silenciar cualquiera de los cromosomas X, tanto el de origen materno como paterno se verá influenciada cuando uno de estos cromosomas presente anomalías estructurales (Ej. como los isocromosmas o aquellos con deleciones/duplicaciones). El cromosoma afectado será favorecido para ser silenciado dejando el sano activo, permitiendo que la población celular que se genere a partir de esa célula crezca preferencialmente. Cuando la alteración involucra otros cromosomas como es el caso de las translocaciones, el cromosoma seleccionado para evitar la inactivación es el derivativo, evitando de esta manera que la información del autosoma translocado sea silenciada junto con la del cromosoma X. El X sano se inactivará y se mantendrá tanto el equilibrio de un único cromosoma X activo como el de la diploidía del cromosoma translocado.

Cuando el desbalance de los cromosomas sexuales es en el X, los órganos predominantemente afectados son los reproductivos y el cerebro. En cuanto al caso del cromosoma Y, un exceso (Ej. XYY) tiene limitadas consecuencias fenotípicas, el cerebro vuelve a ser el órgano más vulnerable⁵.

1.7 Síndrome de Turner

El síndrome de Turner (ST) se origina por la monosomía parcial o total del cromosoma X⁹, e involucra un complejo fenotipo. Se origina generalmente por un evento esporádico de no disyunción, principalmente en la línea germinal paterna (70 % de las pacientes con ST conservan el cromosoma X materno) o por un rezago anafásico Fig. 1.7.

Se considera una de las alteraciones cromosómicas más frecuentes, con una incidencia aproximada de 1 en 2500 recién nacidas⁷ y se estima que el 3% de los embarazos inician con embriones 45,X, de los cuáles únicamente el 1% llegará a término¹⁰. Debido a que el porcentaje de productos 45,X que llegan a término es extremadamente pequeño, se ha propuesto que más del 50% de las recién nacidas con ST presentan un mosaico con la línea celular 45,X y una línea normal 46,XX.

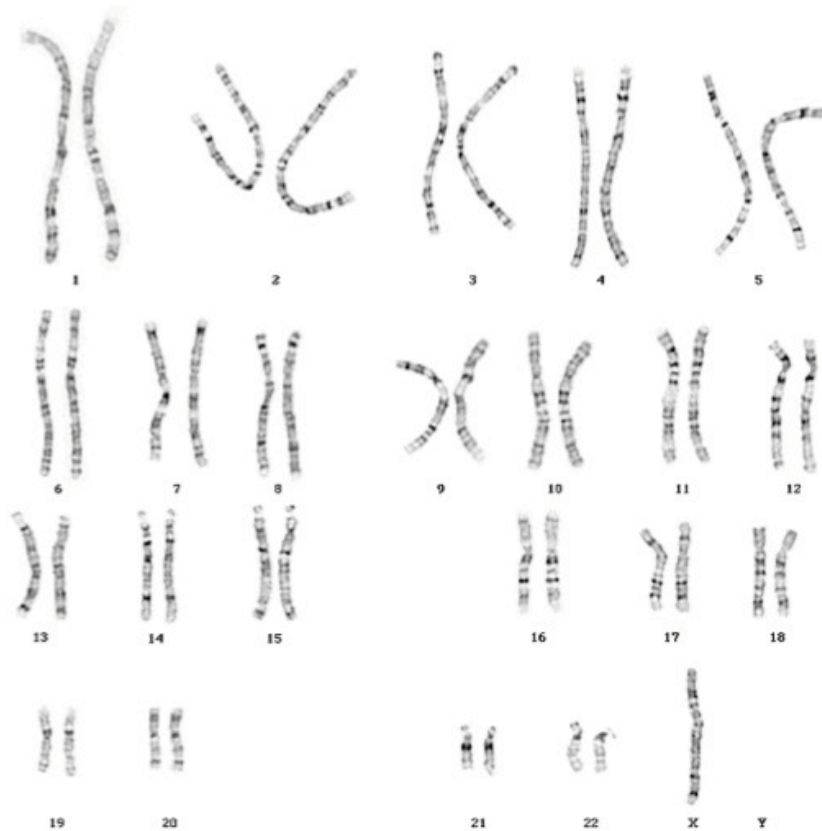


Fig. 1.7 Cariotipo por bandas GTG del Síndrome de Turner 45,X

1.7.1 Citogenética del Síndrome de Turner

El cariotipo más frecuente en las pacientes con ST es 45,X, sin embargo, pueden encontrarse variaciones que incluyen desde deleciones, isocromosomas y anillos del cromosoma X, hasta la presencia de derivados del cromosoma Y^{7,9-11} (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Cariotipos encontrados en pacientes con síndrome de Turner ⁷

Cariotipo	%
45 X	46
Mosaicos con variantes en el número de cromosomas X -45,X/46,XX -45,X/47,XXX -45,X/ 47,XXX /46,XX	7
Isocromosoma del X -45,X/46,X,i(Xq) -46,X,i(Xq) -45,X/46,X,i(Xq)/47,X,i(Xq),i(Xq)	18
Anillos -45,X/46,X,r(X)	16
Deleción Xp -45,X/46,X,de(Xp) -46,X,de(Xp)	5
Anormalidades estructurales del Y -45,X/46,XY ó der(Y) -46,X,del(Yp) -46,X,i(Yp)	6
Otras	2

1.7.2 Fenotipo de las pacientes con síndrome de Turner

El amplio espectro y variedad de características clínicas que presentan las pacientes con ST incluyen: en mayor frecuencia (>50%), estatura baja, disgenesia gonadal que trae como consecuencia infertilidad y deficiencia de estrógeno, hipertensión, enzimas hepáticas elevadas, infecciones del oído medio, micrognatia, retardo en la edad ósea, decremento en el contenido mineral de los huesos, *cubitus valgus*, linfedema en manos y pies en recién nacidas, uñas hiperconvexas o displasia ungueal, alteración en la forma o rotación de los pabellones auriculares, maxilar superior estrecho, micrognatia, implantación baja del cabello, tórax largo con pezones hipoplásicos o invertidos, teletelia, tendencia a la obesidad y otitis media. En menor frecuencia (<50%), pérdida de la audición, nevos pigmentados, dislipidemia, escoliosis, cifosis y lordosis, artritis reumatoide juvenil, neuroblastoma y gonadoblastoma (en el caso de las pacientes con mosaico celular donde se mantenga parcial o totalmente el cromosoma Y)^{2-3,7-8} Fig. 1.8.

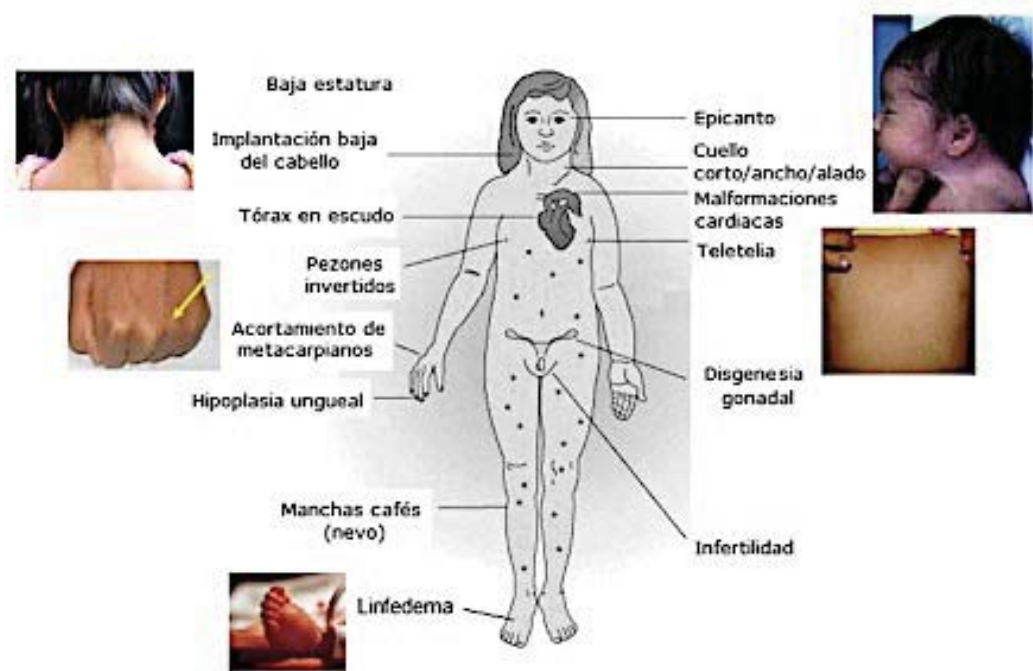


Fig. 1.8 Características clínicas del ST⁸.

Las pacientes con ST se encuentran en riesgo significativamente más alto de padecer otras enfermedades a comparación a la población en general. Entre estas enfermedades se encuentra el hipotiroidismo, diabetes, afecciones cardíacas, osteoporosis, malformaciones congénitas en corazón, vías urinarias, cara, cuello, oídos, pecho), afecciones neurovasculares, cirrosis y cáncer rectal y de colon⁹.

Las anormalidades cardíacas, tanto congénitas como adquiridas, se consideran dentro de las afecciones más serias del ST por la alta tasa de morbilidad que ocasionan. Dentro de éstas, encabezan la coartación de la aorta, válvulas aórticas tricúspides, prolapso de la válvula mitral, hipertensión, isquemia y arteriosclerosis^{7,9,12}.

El porcentaje en el que estas características se presentan se resumen en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Frecuencia de las principales características clínicas en el Síndrome de Turner¹³.

Datos clínicos	%
Talla baja	100
Disgenesia gonadal/infertilidad	99-97
Displasia de pabellones auriculares	90
Implantación baja del cabello	80
Tórax escudo	80
Teletelia	75
Déficit cognitivo	70
Epicanto	70
Micrognatia	70
Paladar arqueado	70
Alteraciones ungueales	70
Personalidad inmadura	50
Ptosis palpebral	50
Cuello corto y ancho	50
<i>Cubitus valgus</i>	50
<i>Genu valgo</i>	ND
Acortamiento de metacarpianos y metatarsianos	50
Hipoacusia	50
Nevos Pigmentados	44
Diabetes	40
Estrabismo	32
Pterigium Colli	30
Edema en manos y pies al nacer	30
Hipotiroidismo	20
Escoleosis	19
Afecciones renales	
Hipertrofia	30
Aplasia renal unilateral	20
Riñón en herradura	10
Afecciones cardiacas	
Aorta bivalva	30
Coartación de la aorta	10
Dilatación de la aorta	10

Se cree que una haploinsuficiencia de genes pseudoautosómicos en las regiones PAR1 y PAR2 de los cromosomas sexuales podría tener implicación en algunas de las características clínicas que desarrollan estas pacientes; como es el caso del gen *SHOX*⁹ que se encuentra dentro de los genes candidatos para explicar la talla baja de las pacientes Fig. 1.9. Sin embargo aún falta identificar cuál es la relación genotipo-fenotipo que explique por completo la amplia variabilidad de las características observadas en estas pacientes, incluyendo la atresia en ovarios y las anomalías vasculares que incrementen la prevalencia de la muerte embrionaria y fetal del ST¹⁴.

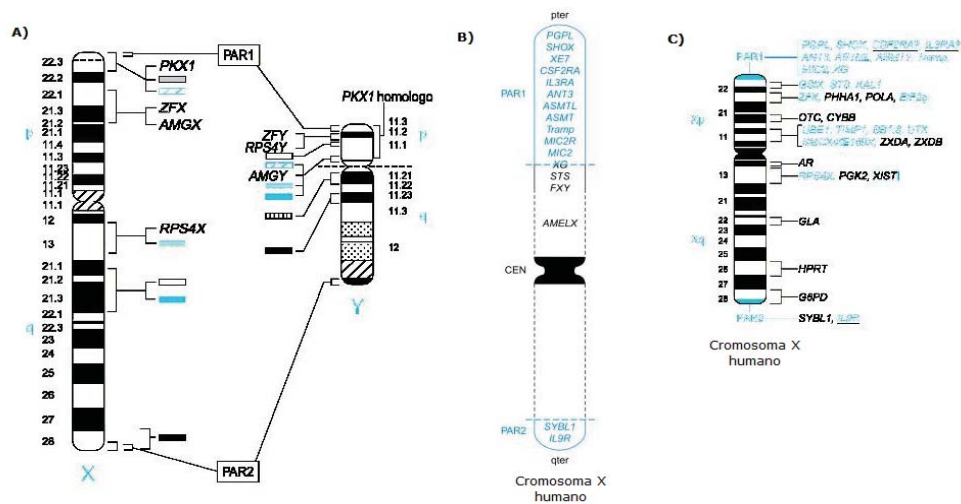


Fig. 1.9 A) Regiones pseudoautosómicas de los cromosomas sexuales (PAR1 y PAR2) B) Genes encontrados en las regiones pseudoautosómicas del cromosoma X humano C) genes del cromosoma X humano que escapan de la inactivación, marcadas en azul.

Fuente: <http://www.faculty.virginia.edu/mammgenetics/805-2ndX03.html>

Dentro de los genes pseudoautosómicos candidatos para influir en la alta mortalidad de los embriones 45,X tenemos a *PSF2RA* localizado en PAR1 y *CSF2RA*, esencial para el correcto desarrollo de la placenta. Su desregulación en etapas muy tempranas en la diferenciación placentaria conduce a la pérdida del producto y sólo la presencia de una línea celular de rescate podría influir en su supervivencia¹⁴.

Las funciones intelectuales de las pacientes con ST suelen ser normales en comparación con los controles sanos, con excepción de algunos déficits en el campo espacio-visual, perceptual-visual y visual-construccional. Sin embargo se ha identificado que muestran una mayor habilidad de lenguaje, vocabulario, comprensión y velocidad de lectura en relación a mujeres sanas.

Se han descrito comportamientos inmaduros persistentes, en comparación con controles sanos de la misma edad, así como poca actividad social y dificultad para mantener relaciones personales, lo que las hace más aisladas socialmente. La hiperactividad e impulsividad son caracteres que también suelen observarse en el ST^{9,15}.

1.7.3 Mosaicismo en Síndrome de Turner

Se considera que la presencia de un mosaico con al menos una línea celular con los dos cromosomas sexuales originada en tejidos o en periodos críticos durante la embriogénesis^{10,11} puede ser la razón de que las pacientes con ST lleguen a nacer vivas.

Se puede asumir que dependiendo del momento en que se suscite una pérdida o rescate cromosómico de la aneuploidía con la que inició el embrión, será la proporción de los tejidos que lo presenten, es decir, entre mas temprano sea el cambio en el número cromosómico, mas tipos de tejidos presentarán ese mosaico. Si se da más tardíamente el mosaico se encontrará limitado a los tejidos o tejido donde se haya presentado, quedando incluso restringido a tejidos extraembrionarios como la placenta.

El origen de esta pérdida o ganancia se atribuye a un retraso durante el proceso de la anafase o durante otro evento de la mitosis, después de la fertilización¹⁴. En el caso de las pacientes con ST se considera que inician con una aneuploidía que se rescata replicando el mismo cromosoma y por lo tanto generando una disomía uniparental durante el desarrollo embrionario y es por ello que el cariotipo mas común después del 45,X sea un mosaico 45,X/ 46, XX¹⁸. A excepción de aquellos casos en los que la línea de rescate es 46,XY, donde lo mas probable es que la pérdida del cromosoma Y fuera la que llevara a la aneuploidía en la mayoría de los tejidos, la incidencia es, sin embargo, menor¹⁴.

Clínicamente se ha reconocido que la presencia de una línea 45,X en un mosaico puede conducir a un fenotipo asociado al ST y sin embargo, no necesariamente presentar el síndrome, especialmente cuando hay líneas 46,XX y 46,XY en el cariotipo¹⁴.

Aún no se ha podido explicar el porqué aún en pacientes con cariotipos 45,X aparentemente sin mosaico, el fenotipo es altamente variable. Las propuestas son que el mosaico existe en muy baja proporción o en tejidos que ya no están disponibles para estudio como los

extraembrionarios.^{10,16} Fig. 1.10.

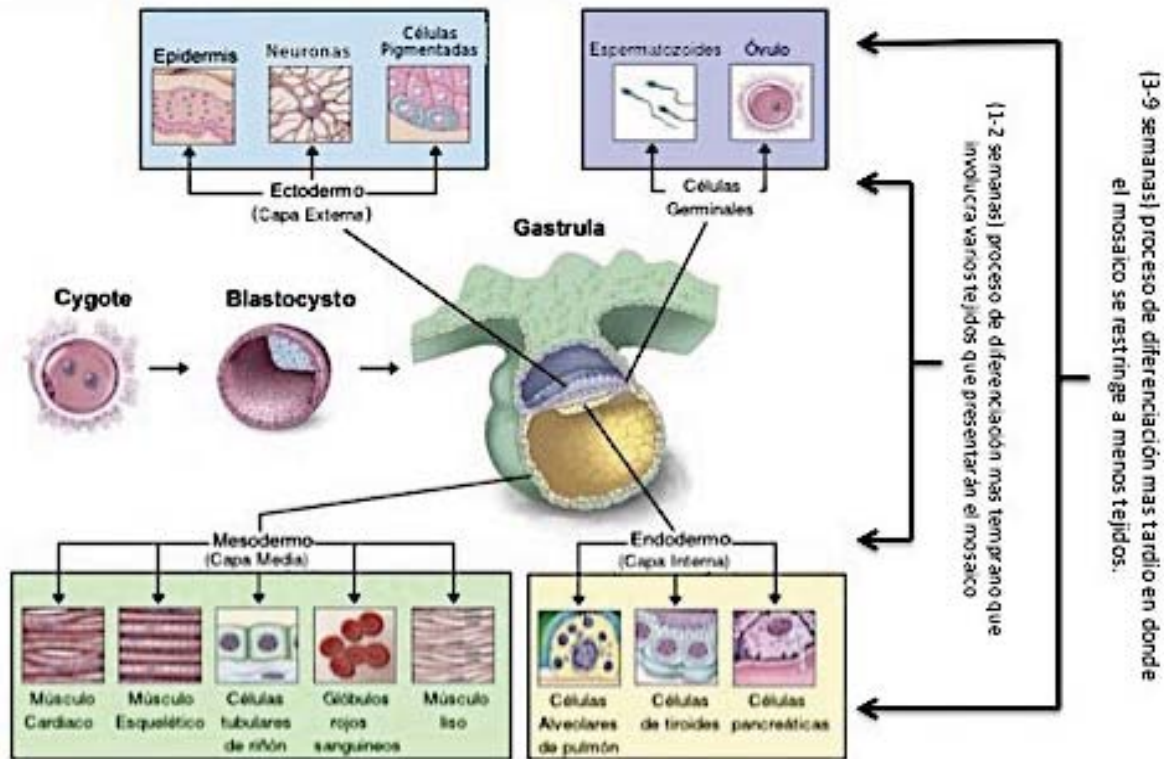


Fig. 1.10 Esquema de la diferenciación de las capas embrionarias a los distintos tejidos que componen a un individuo y las semanas en que se llevan a cabo. Fuente: <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/267250>

La detección de mosaicismo se encuentra determinada por cuatro factores:

- Tipo y número de tejidos analizados.
- Número de células estudiadas.
- Sensibilidad de la técnica usada.
- Posibilidad de selección de células a analizar (que puede resultar en la desaparición de la línea celular).

En relación a estos cuatro factores se puede explicar porqué hay un bajo porcentaje de mosaicismo que no se puede detectar por la citogenética clásica; principalmente considerando el alto número de células que requieren ser analizadas y que puede verse limitada a ciertos tipos celulares (como los linfocitos de sangre periférica y fibroblastos)^{16,17}.

El análisis citogenético convencional para diagnosticar pacientes con ST elige normalmente la lectura de metafases de linfocitos obtenidas a partir de sangre periférica por ser un tejido de fácil acceso y generalmente se realiza una lectura de 25-30 metafases, a partir de las cuales se podrían detectar mosaicos presentes en un 10 % de las células del individuo, sin embargo, si se considera que el porcentaje puede encontrarse en un 1-2% o menor, la detección no sería posible con este número de células^{10,11,16}.

El uso de técnicas moleculares como la hibridación Fluorescente *In situ* (FISH) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han mejorado notablemente la detección de líneas celulares en bajas frecuencias e inclusive algunas anomalías estructurales^{10,16}, sin embargo aún se pueden encontrar anomalías cromosómicas que se pierden por estas técnicas.

Estudios recientes han propuesto que la alta letalidad de los embriones 45,X se relaciona con un defecto en la diferenciación de las células troncales embrionarias humanas (CTEH) en la placenta del trofoectodermo, ocasionado por la pérdida del segundo cromosoma sexual¹⁰. El trofoectodermo es el epitelio precursor de la placenta y el primer componente del sistema de estructuras extraembrionarias. Una vez liberada la zona pelúcida, las células del trofoectodermo establecen un estrecho contacto con la pared del útero, en la que se implanta el embrión¹ Fig.1.11, de manera que si se pierde el segundo cromosoma sexual antes de que el trofoectodermo se establezca correctamente, el embrión será abortado.

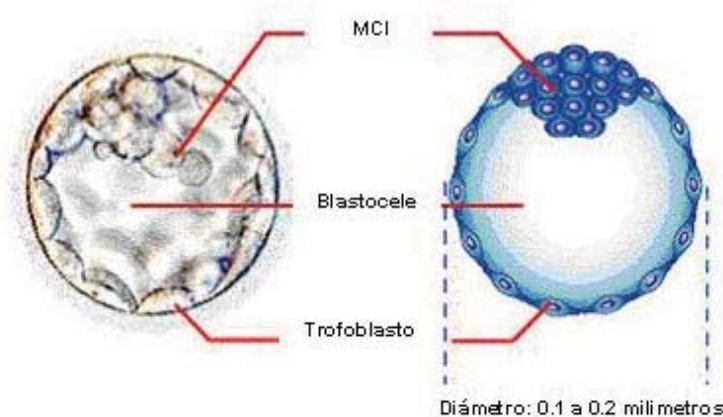


Fig. 1.11 Imagen e ilustración de un blastocito. El blastocito posee una cavidad llamada blastocelo con dos poblaciones celulares, el macizo celular interno (MCI) que dará origen propiamente al embrión y el trofoectodermo, el cual es el progenitor de las células del trofoblasto (TB) que dará origen a las estructuras extraembrionarias¹.

Fuente:<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v7n2/fontana.htm>

http://sps.k12.ar.us/massengale/stemcell_article.htm

Se ha estudiado la posibilidad de que el origen del cromosoma X que se herede en las pacientes (y por tanto la impronta que éste porte) tenga implicaciones diferenciales en el fenotipo que se presenta en el ST. Sin embargo existe poca evidencia de que esto tenga una influencia y por tanto permanece controversial^{9,10}.

1.7.4 Patogénesis de los embriones 45,X y muerte fetal

Estudios en abortos 45,X han sugerido que el mecanismo de muerte está relacionado a alteraciones vasculares y/o anomalías en el equilibrio de fluidos que conllevan a una circulación anormal entre el embrión y la placenta, ocasionando un exceso de volumen de líquidos en el feto. Así como también malformaciones cardíacas, renales y gastrointestinales asociadas comúnmente con el síndrome de Turner¹⁸.

Este tipo de estudios, en donde se explican las causas de los abortos de productos aneuploides abarca la mayoría de la literatura. Sin embargo aún se desconoce desconoce en gran medida los mecanismos que rescatan los desbalances genómicos de los embriones con trisomía o monosomía y que les permiten llegar a término; la evidencia indica que a excepción de algunas aneuploidías como las polisomías de cromosomas sexuales (en las que se observa corrección de dosis génica por silenciamiento)¹⁹, las trisomías y monosomías se abortan en un porcentaje mayor al 90%, de manera que los nacidos vivos con trisomías 13, 18 y 21 así como la monosomía X, son excepciones a la regla de letalidad y la razón de esto prácticamente no ha sido explorada en la literatura.

1.8 Variantes en el número de copia (CNV)

Dentro de las variaciones estructurales genómicas que mas sobresalen por su cantidad, distribución en el genoma y rango de tamaño son las CNV (copy number variation). Son secuencias de DNA que varían en su número de copias de un genoma a otro y son resultado de diferentes eventos como deleciones, duplicaciones, triplicaciones, inserciones y translocaciones que pueden llegar a ser desde cambios polimórficos que tengan o no un efecto fenotípico, hasta cambios con una influencia patológica en un individuo. La pérdida o ganancia de copias en las CNV se presenta en segmentos de DNA >1kb hasta varias megabases y pueden ser de estructura simple, en tándem o de estructura compleja,

generando modificaciones estructurales dentro del genoma que pueden causar alteración de la expresión génica²⁰ al interrumpir genes, alterar su dosis o al involucrarse en secuencias reguladoras. Las CNV pueden involucrar un solo gen o bien incluir varios genes contiguos sensibles a dosis que conduzcan al individuo a un proceso de adaptación o a enfermedades como los síndromes de microdeleciones o microduplicaciones o confiriendo riesgos para presentar enfermedades complejas como la infección por HIV-1 y cáncer^{21,22} entre otras.

Las CNV parecen concentrarse en regiones donde hay secuencias con un número bajo de copias (LCR, por su nombre en inglés, Low Copy Repeats), en regiones de heterocromatina (como centrómeros y telómeros), en sitios de origen y terminación de la replicación, donde hay secuencias para la unión de un andamio de proteínas y donde prevalecen los elementos LINE y SINE²³.

Aunque se ha asumido que las CNV encontradas en la población “normal” podrían considerarse como benignas y las guías actuales para la interpretación clínica de CNV proponen que las CNV heredadas de padres reportados como normales también se deben pensar como benignos, es necesario tener precaución con estas aseveraciones y considerar siempre el contexto de la presentación clínica familiar. Existen varios ejemplos de CNV patogénicas que muestran una penetrancia reducida y/o una expresividad variable que produce severos fenotipos en niños afectados con CNV provenientes de padres aparentemente normales.

Las CNV observadas en poblaciones aparentemente normales podrían conferir cambios no inocuos, desafiando con ello la idea de que las variaciones encontrada en poblaciones normales son predominantemente benignas..Usando la información disponible de los efectos fenotípicos que tienen los genes y la sensibilidad de dosis que presentan, uno puede extrapolar cuáles características fenotípicas podrían ser explicadas por las CNV e inclusive problemas de salud que el paciente podría presentar en el futuro²⁴.

Aún cuando no se ha podido determinar el total de CNV presentes en el humano (se considera un 13%), así como tampoco la posición, el número de genes directamente involucrados con este tipo de secuencias y su distribución en la población de cada uno de ellos. Especialmente las CNV de tamaño pequeño (1-5 kb) por la dificultad de conseguir un método molecular para su análisis y estudio²⁰. Se ha podido identificar con mayor certeza la cantidad, número de copias y localización de CNV en cada vez más regiones del genoma al

desarrollar mejores plataformas de análisis genómico como la secuenciación de siguiente generación²³.

Las CNV han sido catalogadas en bases de datos públicas como; DGV (Toronto Database of Genomic Variants), DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensemble Resources, <https://decipher.sanger.ac.uk>) que incluye las CNV clínicamente relevantes y EUCARUCA (European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosomal Aberrations, <http://agserver01.azn.nl:8080/ecaruca/ecaruca.jsp>)²⁰.

Entre los elementos del genoma en los que pueden tener influencia las CNV, se encuentran los miRNAs que son RNA no codificante con una extensión de 20 nucleótidos aproximadamente y son reconocidos como importantes reguladores de la traducción y la transcripción génica que al verse alterados en sus funciones (por cambios en su estructura o la de sus precursores, la eficiencia de su procesamiento o el reconocimiento de sus secuencias blanco) afectan a su vez vías génicas completas en las que se encuentran involucrados, volviéndolos un importante elemento a considerar cuando se tienen fenotipos anormales. Aunque el polimorfismo que afecta de forma más común la función de los miRNAs son los cambios de un único nucleótido (SNP), recientemente se han estudiado los efectos que una alteración de CNV podría generar en este tipo de secuencias, ya que aún se sabe muy poco de las regiones en donde pueden darse y sus potenciales consecuencias²⁵.

Los miRNAs localizados en regiones con CNV cortas formarán en la mayoría de los casos copias en tándem cuando se multiplican, conservando un mismo promotor. Una parte de esas copias, podrían modular el número de moléculas precursoras al miRNA (los pre-miRNAs) que se presentan en el transcrito primario (pri-miRNA) y con ello modular la expresión del miRNA final. Si el cambio en la CNV incluye al promotor podría aumentar aún mas su transcripción al contar con más de un sitio de inicio de la transcripción^{25,26}.

La expresión de un miRNA cuyo gen se encuentra parcialmente embebido en una CNV puede ser modificada dependiendo de la estabilidad del transcrito y de la localización de la CNV. Los resultados pueden ser diferentes si se involucra la parte 5', 3' o la que transcribe la secuencia que va a ser madurada posteriormente del pri-miRNA. (Fig. 1.12)²⁵.

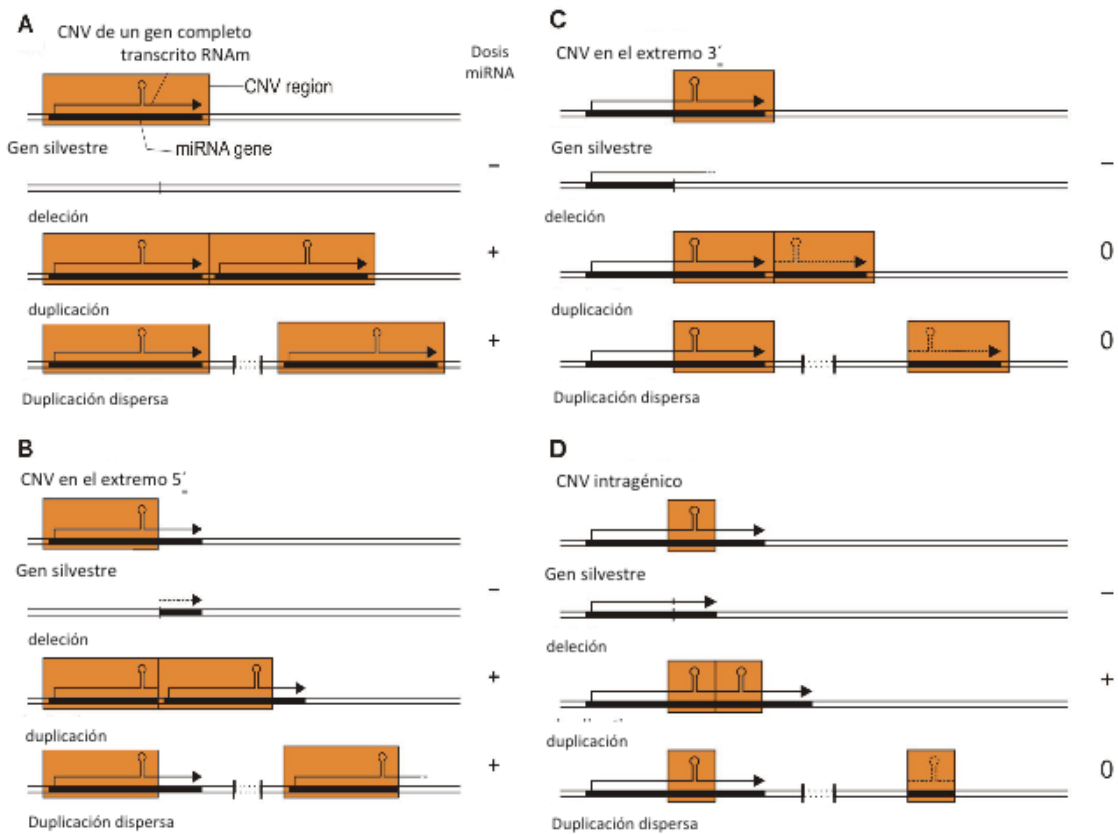


Fig. 1.12 Mecanismos potenciales para la variación de dosis de los miRNAs mediada por CNV. La representación del gen y de su transcrito se diferencian marcando el RNAm con una flecha negra. El fragmento del RNAm que corresponde al pre-miRNA se ilustra con un asa en la línea del RNAm. Las regiones que no se transcriben se marcan con gris claro en la línea que corresponde al RNAm y la perspectiva de un aumento o decremento de dosis está señalado con los símbolos +/- junto a cada ejemplo de cada panel. Los rectángulos naranjas representan la región CNV y se ejemplifica su efecto en el transcrito, al deletarse /duplicarse en tándem o en fragmentos distanciados. A) La región CNV incluye todo el gen y su promotor. B) El gen está incluido en un CNV únicamente en su extremo 5'. C) El Gen está incluido en un CNV únicamente en su extremo 3'. D) La región incluida del gen en el CNV corresponde a la que transcribe el miRNA. (Modificada de ²⁵)

Por lo anterior, la alteración en la dosis génica y el cambio en la estructura del genoma de un individuo, causados por diferencias en sus CNV, podrían considerarse entre los factores “compensadores” en la pérdida o ganancia de productos aneuploides, favoreciendo sus probabilidades de sobrevivir el proceso de desarrollo embrionario y llegar al nacimiento²⁰.

2. JUSTIFICACIÓN

El desbalance de cromosomas completos es generalmente incompatible con la vida, por lo que más del 99% de los embarazos con monosomía X se pierden como abortos tempranos. Sin embargo una proporción pequeña (1%) de monosomías X pueden llegar a término, aún considerando las malformaciones congénitas características del síndrome que esta monosomía ocasiona. La causa o los factores que permiten la llegada a término de estos productos se desconoce. Se propone que las CNV pueden ser un factor importante que se comporten como un “compensador” que permita que las concepciones con monosomía X puedan llegar a término e inclusive alcanzar la edad adulta.

La cantidad de CNV, el tipo de éstas y las regiones del genoma en las que se encuentren, podrían asociarse a la letalidad o sobrevida de los individuos aneuploides y es posible que también puedan relacionarse con la variabilidad fenotípica del Síndrome de Turner. Hasta el momento no hay estudios que relacionen las CNV con estos aspectos del desarrollo ontogénico en estos síndromes y su estudio podría no sólo generar conocimiento sobre la biología de las aneuploidías, sino también información importante respecto del pronóstico y manejo de estos pacientes con aplicación en la medicina preventiva y el consejo genético.

3. OBJETIVO GENERAL

Identificar CNV que podrían estar asociadas a la sobrevivencia de individuos con monosomía X.

3.1 Objetivos particulares

1. Identificar y agrupar regiones CNV que sean diferenciales entre pacientes con síndrome de Turner y abortos con monosomía del cromosoma X.
2. Identificar los elementos genómicos que se encuentran en las regiones CNV seleccionadas
3. Proponer cuáles CNV podrían estar influyendo en la sobrevida de las pacientes por su frecuencia diferencial entre pacientes y abortos espontáneos, usando controles sanos como referencia, así como por la información que se revisó en la literatura de la función que tienen los elementos genómicos encontrados en las secuencias de dichos CNV.

4. MATERIALES Y MÉTODO

4.1 Población de estudio y tipo de estudio

Se captaron pacientes con monosomía X, del Instituto Nacional de Pediatría y del Hospital General Dr. Manuel Gea González y abortos con monosomía del X del Instituto Nacional de Perinatología y del Hospital Ángeles Lomas.

Estudio de tipo comparativo, transversal, observacional y prospectivo.

4.1.1 Tamaño de muestra

El tamaño de muestra fué a conveniencia, se captaron muestras de pacientes y abortos con monosomía X a lo largo de 18 meses. Los grupos quedaron constituidos de la siguiente manera:

1. Individuos con monosomía X
2. Abortos espontáneos con monosomía X
3. Individuos sanos femeninos e individuos sanos masculinos

4.1.2 Criterios de inclusión

- Pacientes con cuadro clínico de síndrome de Turner que por cariotipo en sangre periférica se compruebe la monosomía X (no mosaicos ni otras alteraciones cromosómicas).
- Mestizos mexicanos que tengan 4 abuelos nacidos en México
- Que los padres de todos los participantes acepten firmar una carta de consentimiento informado (Anexo .
- Abortos espontáneos de primero o segundo trimestre con monosomía de cromosoma X, detectado por cariotipo convencional con bandas G o FISH.

4.1.3 Criterios de exclusión

- Se excluirán los casos en los que no se logre obtener la muestra de tejido adecuada para el estudio.
- Se excluirán temporalmente aquellas nacidas vivas con monosomía del cromosoma X, que hayan sido transfundidas en los últimos tres meses.

4.2 Muestras biológicas.

Leucocitos de sangre periférica. Células obtenidas a partir de la toma de sangre periférica. Su función está relacionada con los mecanismos de defensa del organismo y se diferencian en granulocitos y monocitos²⁷.

Su clasificación puede establecerse por la forma del núcleo de cada tipo celular:

Núcleo sin lóbulos o mononucleares.

- Linfocitos: Con núcleo esférico y poco citoplasma²⁷.
 - Linfocitos T (timo dependientes).
 - Linfocitos B (bursa dependientes).
 - Células asesinas naturales, Natural Killer (NK) o linfocito grande granular.
- Monocitos: con núcleo esférico, en herradura o irregular y con mayor cantidad que los linfocitos.¹.

Núcleos lobulados o polimorfonucleares.

- Neutrófilos: Son células con núcleo multilobulado y gránulos citoplasmáticos.
- Basófilos: Con núcleo esférico irregular y gránulos basófilos.
- Eosinófilos: Con núcleo bilobulado y gránulos citoplasmáticos acidófilos.

Utilizando tinción en las células surge un tipo distinto de clasificación:

- Granulocitos. Presentan gránulos en su citoplasma



Neutrófilo

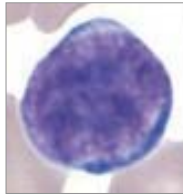


Eosinófilo



Basófilo

- Agranulocitos. No presentan gránulos en su citoplasma.



Linfocito

* Fuente de las Imágenes. <http://es.wikipedia.org/wiki/Leucocito>

Fibroblastos. Células obtenidas de explantes tomados de muestras de abortos 45,X. Los tejidos seleccionados para el desarrollo de un cultivo primario fueron vellosidades coriónicas, bolsa amniótica o epitelio del feto. Su estructura es fusiforme o estrellada con prolongaciones citoplásmicas irregulares; su núcleo es central y ovalado²⁷.



4.3 Selección de tejidos sin mosaicismo

La selección de las pacientes y los abortos espontáneos se realizó considerando un cariotipo previo de 45,X que se revisó en el expediente de las pacientes o en el reporte del estudio de diagnóstico citogenético del aborto (anexo 1). Posteriormente se complementó la exclusión de mosaicismo con un estudio por FISH en células en interfase por medio de una cosecha directa de la sangre periférica de las pacientes (que permitiera incluir todos los tipos celulares de los leucocitos); en el caso de los abortos, una muestra de las células en cultivo que se usaron para el diagnóstico citogenético (ANEXO 2). El estudio por FISH permitió aumentar la lectura de las células analizadas, y detectar células con un número cromosómico diferente, aún en muy pequeños porcentajes.

Para el análisis de las señales de FISH en núcleos en interfase se analizaron 500 núcleos en un microscopio de fluorescencia Zeiss Axioplan equipado con una óptica de contraste de fases, una lámpara de mercurio (Osram) HBO 100 W/2 y los filtros (Chroma Technology, Brattle-boro, VT): triple banda (DAPI/FITC/Texas red), doble banda (FITC-Texas Red, and DAPI-Aqua) y banda única (DAPI, FITC, and Texas Red).

Los criterios utilizados para el análisis de los núcleos fueron:

- Para considerar un núcleo para el análisis se observó que estuviera aislado y presentara una integridad de membrana celular al mostrar un contorno definido observado por el filtro para DAPI.
- Para considerar dos señales del mismo color como independientes, debían presentar entre si la distancia de al menos la mitad del diámetro de una de las señales, así como también un tamaño, forma e intensidad similar entre si.
- Cada célula se analizó usando la tripe banda donde se pudieran observar todas las señales al mismo tiempo, incluyendo el DAPI.
- Cada señal se analizó individualmente con el filtro correspondiente a su fluorescencia.
- Para considerar un núcleo con la monosomía de debía observar 1 señal para el cromosoma X, 2 señales para el cromosoma 18 y 0 señales para el cromosoma Y.

Para definir los valores de corte que determinarían un mosaicismo en las lecturas de núcleos en interfase por FISH en nacidas vivas y en los abortos, se consideraron dos aspectos importantes para cada población. En el caso de las nacidas vivas se tomaron en cuenta los estándares del ISCN 2013, donde establece la presencia de al menos 3 células con un cariotipo diferente al que se ha encontrado en el resto de las células analizadas para considerarlo un mosaico. En el caso de los abortos se consideró un criterio del 5% propuesto en el primer reporte que estudia la frecuencia de mosaico en abortos espontáneos empleando la técnica de FISH²⁸.

4.4 Extracción de DNA

La extracción de DNA a partir de las muestras se llevó a cabo con el Kit de QIAGEN Genra Puregen (No. Cat. 138422) para extracción de DNA a partir de sangre total y células en cultivo, siguiendo el protocolo estandarizado del kit.

4.4.1 Extracción de DNA de Sangre periférica

1. Se colocaron 3ml de sangre periférica en un tubo de 15ml y se le dieron dos a tres lavados con la solución de lisado de células rojas (RBC cell lysis solution) con la que se dejaron únicamente los leucocitos de la muestra. El primer lavado se dio con 10 ml de la solución RBC y se encubó por 30 min a 37°C, pasado ese tiempo se centrifugó la muestra a 2000 g por 10 min y se retiró el sobrenadante sin tocar el botón. Se continuó con los siguientes lavados con el mismo procedimiento modificando únicamente la cantidad de solución RBC a 5 ml; hasta que el botón quedara blanco y sin restos de eritrocitos.
2. Se desechó el sobrenadante dejando aproximadamente 200 µl y cuidando de disgregar el botón celular con ayuda de un vortex en el sobrenadante residual. Se agregaron 3 ml de la solución de lisado de células (cell lysis solution) en el que se disolvió el botón nuevamente con ayuda del vortex.
3. Se enfrió la muestra a temperatura ambiente y se adicionaron 15 µl de RNasa (RNase later) incubándola a 37°C por 30 min. Se agregaron 15 µl de proteinasa K (puregene proteinase K) y se dejó incubando la muestra a 55°C durante dos horas o hasta que se disgregara totalmente el botón y no se vieran cúmulos en la solución.
4. Pasado este tiempo se adicionaron 3 ml de la solución precipitadora de proteínas (Protein precipitation solution) y se enfrió en hielo por 15 min.
5. Se centrifugó la muestra a 2200 g por 10 min 4°C y se revisó que el botón con los restos celulares se observara blanco y compacto, así como el sobrenadante sin residuos. Se pasó el sobrenadante a un nuevo tubo de 15 ml, cuidando de no tocar el botón con los restos celulares ni las paredes del tubo con la muestra.

6. Se agregaron 3 ml de Isopropanol al sobrenadante que habíamos apartado en un nuevo tubo. Se mezcló por inversión hasta que no se observaron dos fases y se precipitó el DNA hasta que formara hilos blancos. En caso de ser necesario, la muestra se dejó en hielo por una noche para precipitar cantidades pequeñas de DNA.
7. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se desechó el sobrenadante cuidando de no tocar el botón de DNA. Se agregaron 5 ml de Etanol al 70% y dando golpes suaves se desprendió el botón de DNA del tubo lavándolo en el Etanol. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se repitió nuevamente el lavado con Etanol.
8. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se desechó el sobrenadante dejando únicamente 500 μ l para resuspender el botón y poder tomarlo con una micropipeta. Cuidadosamente se pasó el botón a un tubo eppendorf de 1.5 ml y se agregó 1 ml de Etanol. Invirtiéndolo suavemente para lavar el botón.
9. Se centrifugó a 12 000 rpm por 5 min y se retiró el Etanol dejando secar el botón completamente. Se agregaron 20 μ l de solución de hidratación de DNA (DNA Hydration Solution). La cantidad usada para la dilución total dependió de la concentración del DNA de cada muestra.

4.4.2 Extracción de DNA de fibroblastos

1. Se lavó dos veces con PBS la caja con el cultivo celular (caja de cultivo de 75 cm²) y se levantaron las células con tripsina para pasarlas a un tubo de 15 ml. Se centrifugó a 2000 g por 10 min, retirando el sobrenadante y volviendo a lavar las células con PBS al resuspender el botón con ayuda de un vortex. Se centrifugó a 2000 g por 10 min y repitió el lavado con PBS.
2. Se centrifugó a 2000 g por 10 min y se retiró el sobrenadante. Se agregaron 3 ml de la solución de lisado de células (cell lysis solution) y se disolvió el botón nuevamente con ayuda del vortex.
3. Se enfrió la muestra a temperatura ambiente y se adicionaron 15 μ l de RNasa (RNase later) incubándola a 37°C por 30 min.

4. Se agregaron 15 μ l de proteinasa K (puregene proteinase K) y se dejó incubando la muestra a 55°C durante dos horas o hasta que se disgregara totalmente el botón y no se vieran cúmulos en la solución. Pasado este tiempo se adicionaron 3 ml de la solución precipitadora de proteínas (Protein precipitation solution) y se enfrió en hielo por 15 min.
5. Se centrifugó la muestra a 2200 g por 10 min 4°C. y se revisó que el botón con los restos celulares se observara blanco y compacto, así como el sobrenadante sin residuos. Se pasó el sobrenadante a un nuevo tubo de 15 ml, cuidando de no tocar el botón con los restos celulares ni las paredes del tubo con la muestra.
6. Se agregaron 3 ml de Isopropanol al sobrenadante que habíamos apartado en un nuevo tubo. Se mezcló por inversión hasta que no se observaron dos fases y se precipitó el DNA hasta que formaran hilos blancos. En caso de ser necesario, la muestra se dejó en hielo por una noche para precipitar cantidades pequeñas de DNA.
7. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se desechó el sobrenadante cuidando de no tocar el botón de DNA. Se agregaron 5 ml de Etanol al 70% y dando golpes suaves se desprendió el botón de DNA del tubo lavándolo en el Etanol. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se repitió nuevamente el lavado con Etanol.
8. Se centrifugó a 2200 g por 10 min y se desechó el sobrenadante dejando únicamente 500 μ l para resuspender el botón y poder tomarlo con una micropipeta. Cuidadosamente se pasó el botón a un tubo eppendorf de 1.5 ml y se agregó 1 ml de Etanol. Invirtiéndolo suavemente para lavar el botón.
9. Se centrifugó a 12 000 rpm por 5 min y se retiró el Etanol dejando secar el botón completamente. Se agregaron 20 μ l de la solución de hidratación de DNA (DNA Hydration Solution). La cantidad usada para la dilución total dependió de la concentración del DNA de cada muestra.

4.4.3 Cuantificación y calidad del DNA

La concentración del DNA se determinó por la medida de la absorbancia de la muestra por espectrofotometría, utilizando el equipo NanoDrop® (Nanodrop Technologies). Se consideraron los valores de la relación 268/280 y 230/260 para estimar la pureza del DNA con respecto a contaminantes (Manual de uso NanoDrop®).

- 260/280: Para un DNA puro se esperaba un valor de 1.7-1.9. Valores menores a 1.7 podrían indicar contaminación por proteínas.
- 230/260: Para un DNA puro se esperaba un valor de 2.0-2.2. Valores menores a 2.0 podrían indicar contaminantes con un absorbancia de 230nm como carbohidratos, fenoles y alcoholes.

La calidad del DNA se determinó corriendo las muestras en un gel de agarosa al 0.8% en TBE y comprobando que el DNA no estuviera degradado al observar bandas bien definidas.

4.5 Microarreglos

4.5.1 Descripción de la plataforma empleada.

Los microarreglos empleados para este trabajo fueron: Genome-Wide Human SNP 6.0 de la marca Affymetrix, con sondas diseñadas sobre la versión de febrero de 2009 GRCh37/hg 19 del genoma humano.

Estos microarreglos se seleccionaron por su alta sensibilidad, que nos permitió analizar en el genoma CNV de tamaño intermedio (≈ 5 kb a 50 kb) a largo (50 kb a 3 Mb), (Tuzu et al. 2005; Conrad et al. 2006; Khaja et al. 2006; McCarroll et al. 2006). La sensibilidad que presentan estos microarreglos se definen por la distribución y tamaño de las sondas usadas en los *chips*. Específicamente el GW SNP 6.0 cuenta con 1,880,794 que están distribuidos entre 906,600 sondas para SNP y 946,000 sondas para la detección de CNV.

4.5.2 Procedimiento para el uso del microarreglo Genome-Wide Human SNP 6.0, Affymetrix

1. Se preparó la placa con las muestras, agregando 250 ng de DNA genómico por pozo. Se hicieron dos réplicas de cada muestra, ya que una sería procesada con NspI y la otra con Styl.
2. Se digirió el DNA con las enzimas NspI o Styl y se ligaron los fragmentos resultantes con los adaptadores que reconocen los extremos cohesivos de 4 pb que resultaron de la digestión. A todos los fragmentos resultantes de la digestión, se les ligaron los adaptadores correspondientes, sentido y antisentido.
3. Utilizando un *primer* genérico que reconociera la secuencia adaptadora se amplificaron los fragmentos de DNA en una reacción de PCR. Las condiciones debieron ser optimizadas para amplificar preferencialmente fragmentos de 200 a 1,100 pb.
4. Los productos amplificados por PCR de cada digestión, se mezclaron y se purificaron utilizando cuentas de poliestireno. Finalmente el DNA amplificado se marcó e hibridó en el microarreglo SNP 6.0.

5. Después de la hibridación los microarreglos se tiñeron, lavaron y digitalizaron en el equipo Affymetrix.

4.5.3 Análisis de los microarreglos Genome-Wide Human SNP 6.0, Affymetrix

La información que se obtuvo de los microarreglos se interpretó por la consola Affymetrix GeneChip Command Console (AGCC), para producir los CEL files y los ARR files que podrían analizarse en la aplicación Genotyping Console de Affymetrix. En esta aplicación se tomaron los datos de los CEL files para analizar el número de copias: Los resultados se mostraron en los archivos CNCHP; los cuales nos permitieron hacer un nuevo análisis con el programa de Affymetrix Chromosome Analysis Suite 1.2.2 (ChAS).

El programa ChAS (figura 4.1) permitió visualizar las regiones con cambios, comparando los datos obtenidos de la muestra analizada con el microarreglo contra el HapMap 270 (hg19) como referencia.

El rigor de análisis que se utilizó corresponde a la opción “High Resolution” que nos dió un total de 50 marcadores por cada 100Kb, con lo que se puede estar seguro de observar ganancias o pérdidas desde 100Kb.

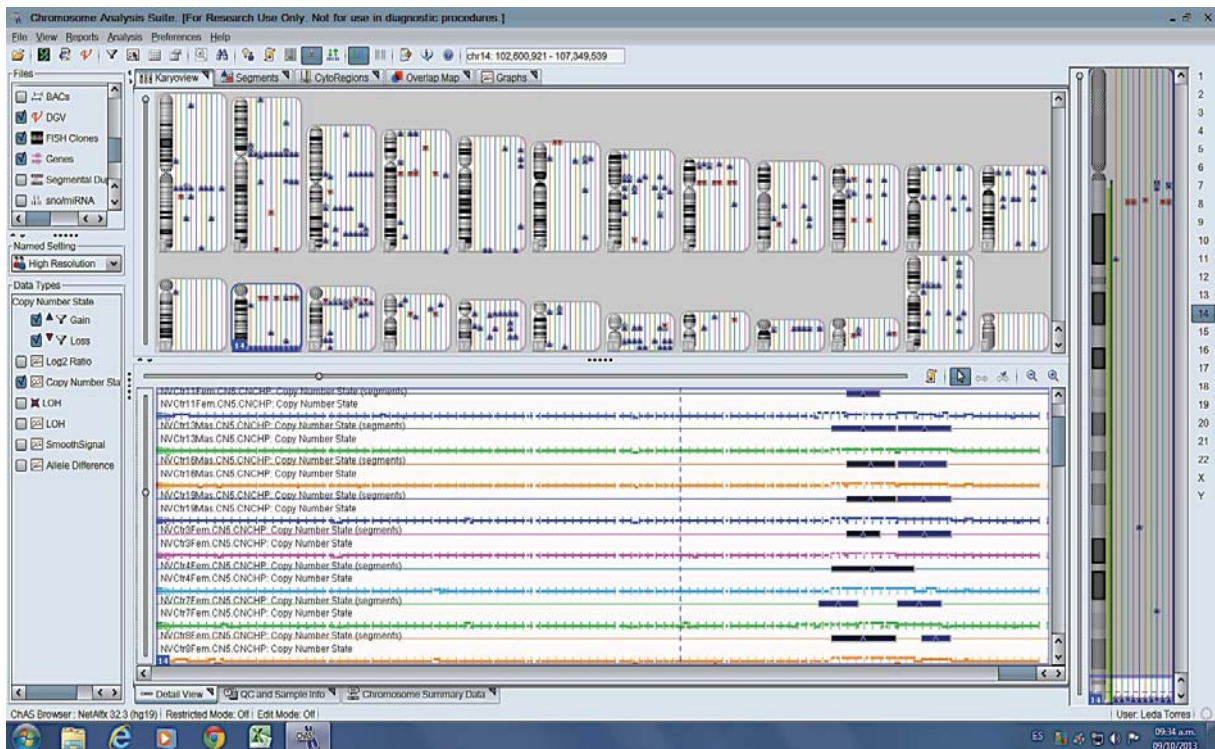


Figura 4.1. Imagen tomada del programa ChAS, donde se muestran los iconogramas de los cromosomas autosómicos y sexuales con las regiones modificadas. Las opciones de búsqueda se encuentran en los paneles a la izquierda y a la derecha el cromosoma seleccionado amplificado. Al centro inferior se especifica la información solicitada de la región seleccionada. Las ganancias se muestran en azul y las pérdidas en rojo.

Con una comunicación directa al UCSC Genome browser (<http://genome.ucsc.edu/>) se pudo analizar minuciosamente cada región seleccionada y partiendo de esa base de datos se continuó el análisis con otras bases de datos disponibles en la red, como:

- Database of Genomic Variants, DGV (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)
- DECIPHER(<https://decipher.sanger.ac.uk>)
- ISCA (<http://ucscbrowser.genap.ca/cgi-bin/hgTrackUi?db=hg19&g=iscaComposite>)
- NCBI (GenBank, OMIM) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- Gene Ontology (<http://geneontology.org/>)
- miRBASE (<http://mirbase.org/>)
- Programa miRANDA para predecir los RNAm que sean blancos probables de miRNAs (<http://www.microna.org>).
- Clin Var (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>).

4.6 Validación de CNV

4.6.1 PCR cuantitativo.

La validación de las regiones con cambio se realizó por PCR cuantitativo. Se diseñaron oligonucleótidos específicos que delimitaran las regiones con cambio y oligonucleótidos para una región cercana como control de dosis con el sistema Universal Probes (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) y Primer3 Plus²⁹, se verificó que no tuvieran complementariedad ni estructuras secundarias con el programa OligoAnalyzer 3.1 de IDT (www.idtdna.com/calc/analyzer). Para la amplificación se utilizó el kit Light Cycler Taq Man Master (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) en un equipo Light Cycler 2.0 Carousel Roche utilizando las siguientes condiciones Tabla 1.3:

Tabla 1.3. Condiciones de la reacción de PCR cuantitativa.

Etapa	Temperatura	Tiempo	No. De ciclos
Desnaturalización	95°C	10 min	1 ciclo
Amplificación	95°C	10 seg	45 ciclos
	56°C	30 seg	
	72°C	5 seg	
Enfriamiento	40°C	30 seg	∞

La dosis génica para cada una de las regiones con cambios se calculó con la fórmula:

$$DG = 2^{-\Delta CT}$$

5. RESULTADOS.

5.1 Control y selección de muestras.

Se capturaron un total de 10 muestras de individuos control, 5 femeninos y 5 masculinos (Ctrl). Así como un total 29 pacientes nacidas vivas con monosomía X (NVX0) y 17 abortos espontáneos (AEX0).

De las muestras captadas NVX0 y AEX0 se excluyeron todas las que se detectaron como mosaico por FISH, este análisis se realizó en todas las nacidas vivas, sin embargo en los abortos espontáneos, se llevó a cabo solamente en las muestras con cantidad suficiente para ello. Para establecer el porcentaje límite de células diploides con las que aún se consideraría como no mosaico se tomó de referencia un límite de corte de 5% de acuerdo a Vorsanova, 2005. En la tabla 5.1 y la tabla 5.2 se enlistan, respectivamente, las muestras NV y AE analizadas por FISH y aceptados para extacción del DNA.

Tabla 5.1 Cariotipo y FISH de las 29 pacientes nacidas vivas 45,X captadas en este estudio.

Nacidas Vivas Turner (NVXO)		
Código	Cariotipo	FISH
NV10X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV19X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV28X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV29X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV31X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV34X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV40X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV41X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV52X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV60X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV102X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[500]
NV115X0	45,X [50]	45,X[50].nuc ish(CEP X) x1[500]
NV117X0	45,X [25]	45,X[25].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV118X0	45,X [15]	45,X[15].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV119X0	45,X [40]	45,X[40].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV120X0	45,X [17]	45,X[17].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV121X0	45,X [25]	45,X[25].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV122X0	45,X [25]	45,X[25].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV123X0	45,X [15]	45,X[15].nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV111X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[999/1000]/(CEP X) x2[1/1000]
NV132X0	45,X [17]	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV133X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[999/1000]/(CEP X) x2[1/1000]
NV131X0	45,X [30]	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
Nv129X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[997/1000]/(CEP X) x2[3/1000]
NV130X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]
NV112X0	45,X [41]	MI
NV114X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[956]
NV106X0	45,X [15]	MI
NV124X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[1000]

Tabla 5.2 Cariotipo y FISH de los 17 abortos espontáneos 45,X captados en este estudio.

Abortos Espontáneos con monosomía X (AEXO)		
Código	Cariotipo	FISH
AE7X0	45,X [15]	45,X.nuc ish(CEP X) x1[452/500]/(CEP X) x2[48/500]
AE11X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[496/500]/(CEP X) x2[4/500]
AE15X0	45,X	MI
AE37X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[491/500]/(CEP X) x2[9/500]
AE56X0/ctrAE2	45,X	MI
AE51X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[499/500]/(CEP X) x2[1/500]
AE55X0	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[500]
AE61X0	45,X	MI
AE62X0 VC	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[986/1000]/(CEP X) x2[14/1000]
AE67X0 MA	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[997/1000]/(CEP X) x2[3/1000]
AE67X0 Cord	45,X	MI
AE70X0 MA	45,X	45,X.nuc ish(CEP X) x1[998/1000]/(CEP X) x2[2/1000]
AE71X0	45,X	MI
AE79X0	45,X	MI
AE79X0	45,X	MI
AE77X0	45,X	MI
CT1591 VC	45,X	MI
AE78X0	45,X	MI
CT1591 VC	45,X	MI

*MI. Muestra insuficiente

A las muestras a las que se les extrajo el DNA se les realizó un segundo filtro de acuerdo con la calidad y cantidad de DNAg para ser aceptadas en el protocolo. La lista de muestras con calidad óptima a las que se les realizaron los microarreglos se muestran en las tablas 5.3, 5.4 y 5.5

Tabla 5.3 Microarreglos en muestras de controles. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.

Controles				
Nacidos Vivos				
	Muestra	Cariotipo	CEL	CNCHP
1	NVCtr3Fem	46,XX	OK	OK
2	NVCtr4Fem	46,XX	OK	OK
3	NVCtr7Fem	46,XX	OK	OK
4	NVCtr8Fem	46,XX	OK	OK
5	NVCtr11Fem	46,XX	OK	OK
6	NVCtr5Mas	46,XY	OK	OK
7	NVCtr10Mas	46,XY	OK	OK
8	NVCtr13Mas	46,XY	OK	OK
9	NVCtr16Mas	46,XY	OK	OK
10	NVCtr19Mas	46,XY	OK	OK

*OK: Adecuada

Tabla 5.4 Microarreglos en muestras de nacidas vivas 45,X. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.

Monosomía X				
Nacidas Vivas				
	Muestra	Cariotipo	CEL	CNCHP
1	NV10X0	45,X	OK	OK
2	NV19X0	45,X	OK	Regular
3	NV31X0	45,X	OK	Regular
4	NV34X0	45,X	OK	Regular
5	NV28X0	45,X	OK	Regular
6	NV29X0	45,X	OK	Regular
7	NV40X0	45,X	OK	OK
8	NV41X0	45,X	OK	OK
9	NV42X0	45,X	OK	OK
10	NV52X0	45,X	OK	OK
11	NV60X0	45,X	OK	OK
12	NV102X0	45,X	OK	OK
13	NV111X0	45,X	OK	Regular
14	NV115X0	45,X	OK	OK
15	NV117X0	45,X	OK	OK
16	NV130X0	45,X	OK	OK
17	NV132X0	45,X	OK	OK
18	NV124X0	45,X	OK	Regular
19	NV192X0	45,X	OK	OK
20	NV158X0	45,X	OK	OK

*OK: Adecuada

Tabla 5.5 Microarreglos en muestras de abortos espontáneos 45,X. Se muestra el cariotipo y la calidad de los CEL y CNCHP files que se obtuvieron con los programas AGCC y GC de Affymetrix.

Monosomía X				
Abortos Espontáneos				
	Muestra	Cariotipo	CEL	CNCHP
1	AE11X0	45,X	OK	Regular
2	AE15X0	45,X	OK	Regular
3	AE56X0	45,X	OK	Regular
4	AE62X0	45,X	OK	OK
5	AE67X0	45,X	OK	Regular
6	AE70X0	45,X	OK	Mala
7	AE71X0	45,X	OK	OK
8	AE77X0	45,X	OK	Regular
9	AE78X0	45,X	OK	OK
10	AE79X0	45,X	OK	OK

*OK: Adecuada

5.2 Análisis de las regiones CNV identificadas con los microarreglos.

Del análisis realizado a los datos obtenidos de los microarreglos, se identificaron varias regiones que mostraron diferencias en las CNV de cada una de las muestras. Únicamente se focalizó en aquellas regiones de CNV que compartían en la mayoría de las muestras de cada grupo (Anexo 3); pacientes 45,X, aborto espontáneo con monosomía X y nacidos vivos control. La diferencia en el número de copias y el número de muestras que presentaban esa misma variación en el número de copias de cada región se organizó en la tabla 5.6.

Tabla 5.6. Principales regiones que muestran un cambio de CNV entre los tres grupos de estudio. El tamaño de la muestra (n) se indica en cada grupo, así como el número de individuos (número de individuos/n) que muestra las diferentes variables en el número de copias en cada caso. El número de copias (NC) que se detectaron va de una copia a cuatro copias.

Región	Nacidos Vivos		Abortos espontáneos	Hallazgos
	Control (n=10)	Monosomía X (n=20)	Monosomía X (n=10)	
8p11.22 392335590 a 39385182	NC=1 (6/10)	NC=1 (10/20)	NC=1 (0/10)	ADAM5P y ADAM3A. Seudogenes cuyo producto no es funcional, por una variedad de deleciones e inserciones en su secuencia.
	NC=2 (4/10)	NC=2 (10/20)	NC=2 (10/10)* **	
	NC=3 (0/10)	NC=3 (0/20)	NC=3 (0/10)	
	NC=4 (0/10)	NC=4 (0/20)	NC=4 (0/10)	
9q34.2 137225102 a 137375773	NC=1 (0/10)	NC=1 (0/20)	NC=1 (0/10)	RXRA. El producto de este gen funciona como un receptor nuclear transactivador dependiente de un ligando. Se le relaciona en vías de morfogénesis, crecimiento, diferenciación celular y homeostasis durante etapas tempranas del desarrollo embrionario
	NC=2 (10/10)	NC=2 (15/20)	NC=2 (3/10)	
	NC=3 (0/10)	NC=3 (4/20)*	NC=3 (6/10)*	
	NC=4 (0/10)	NC=4 (1/20)*	NC=4 (1/10)*	
14q32.33 106342304 a 106448068	NC=1 (0/10)	NC=1 (0/20)	NC=1 (0/10)	KIAA0125: Gen cuyo producto corresponde a un RNA no codificante. ADAM6: Pseudogen cuyo producto no es funcional en humanos
	NC=2 (2/10)	NC=2 (4/20)	NC=2 (0/10)	
	NC=3 (3/10)	NC=3 (11/20)	NC=3 (4/10)	
	NC=4 (5/10)	NC=4 (5/20)	NC=4 (6/10)	
17q25.3 021202 a 79144428	NC=1 (0/10)	NC=1 (0/20)	NC=1 (0/10)	BAIAP2: Codifica para una proteína de unión a un inhibidor de la angiogénesis en cerebro. AATK: Codifica para una proteína cuya expresión se propone es necesaria para la inducción del arresto del crecimiento celular y de la apoptosis en células precursoras mieloides. MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250: miRNA asociados con regulación en tumorigénesis. LOC388428: RNA no codificante
	NC=2 (10/10)	NC=2 (16/20)	NC=2 (4/10)	
	NC=3 (0/10)	NC=3 (3/20)	NC=3 (6/10) ** **	
	NC=4 (0/10)	NC=4 (1/20)	NC=4 (0/10)	
21q11.2 11083846 a 11163915	NC=1 (0/10)	NC=1 (0/20)	NC=1 (0/10)	BAGE3, BAGE2, BAGE5 y BAGE4. Familia de genes tejido específico que codifica para una proteína expresada únicamente en testículo.
	NC=2 (4/10)	NC=2 (9/20)	NC=2 (9/10) * **	
	NC=3 (6/10)	NC=3 (11/20)	NC=3 (1/10)	
	NC=4 (0/10)	NC=4 (0/20)	NC=4 (0/10)	
22q11.22 23121204 a 23258603	NC=1 (0/10)	NC=1 (0/20)	NC=1 (0/10)	MIR650: Los blancos de este miRNA son secuencias de RNAm que codifican para proteínas importantes en proliferación celular y su sobrevivencia; como son la ciclina IGLL5: Este gen codifica para uno de los polipéptidos de la inmunoglobulina tipo lambda dependiente de CDK1, ING4 y EBF3.
	NC=2 (8/10)	NC=2 (3/20)	NC=2 (1/10)	
	NC=3 (2/10)	NC=3 (17/20)	NC=3 (8/10)*	
	NC=4 (0/10)	NC=4 (0/20)	NC=4 (1/10)*	

El resultado del análisis estadístico se ve señalado en la tabla por medio de:

* p<0.05 con respecto a Controles

** p<0.05 con respecto a NVXO

Muestras	Regiones CNV						Muestras	Regiones CNV					
	8p11.22	9q34.2	14q32.33	17q25.3	21q11.2	22q11.22		8p11.22	9q34.2	14q32.33	17q25.3	21q11.2	22q11.22
NV31X0	1	2	3	2	2	2	AE11X0	2	2	3	2	2	2
NV34X0	1	2	3	2	2	2	AE15X0	2	2	3	2	2	2
NV28X0	1	2	3	2	2	2	AE56X0	2	2	3	2	2	2
NV29X0	1	2	3	2	2	2	AE62X0	2	2	3	2	2	2
NV124X0	2	3	2	3	2	2	AE67X0	2	2	3	2	2	2
NV102X0	1	2	3	2	2	2	AE70X0	2	3	3	2	2	2
NV41X0	1	2	2	2	2	2	AE71X0	2	2	3	2	2	2
NV52X0	1	2	2	2	2	2	AE77X0	2	2	3	2	2	2
NV60X0	2	2	2	2	2	2	AE78X0	2	2	2	2	2	2
NV111X0	1	2	2	2	2	2	AE79X0	2	2	2	2	2	2
NV115X0	2	2	2	2	2	2							
NV117X0	2	2	2	2	2	2							
NV130X0	2	2	2	2	2	2							
NV132X0	2	2	2	2	2	2							
NV192X0	1	2	2	2	2	2							
NV40X0	2	2	2	2	2	2							
NV10X0	2	2	2	2	2	2							
NV19X0	1	2	2	2	2	2							
NV42X0	2	2	2	2	2	2							
NV158X0	2	2	2	2	2	2							

Tabla. 5.7 Tabla de las muestras incluidas en los grupos de estudio de las Nacidas vivas y Abortos espontáneos con monosomía del cromosoma X, mostrado en cada una de ellas el número de copias de las seis regiones identificadas en los microarreglos que mostraron cambios entre estos grupos con los controles sanos. El código de colores empleado para representar el número de copias es 1 copia = Anaranjado, 2 copias = Verde, 3 copias = Azul y 4 copias = Morado.

Los contenidos de estas regiones incluyen diferentes genes o miRNA a los que se les ha asociado con una función cuando su producto se expresa (funcionales o no en humanos) y se enlistan a continuación:

Cromosoma 8.

ADAM5P y *ADAM3A*: Seudogenes cuyo producto no es funcional, por una variedad de deleciones e inserciones en su secuencia. Su ortólogo funcional codifica para una proteína con actividad metaloendopeptídica que cataliza la hidrólisis interna de los puentes aflu-peptídicos de cadenas polipeptídicas y como una proteína de unión no covalente con iones de zinc; esta proteína se ha visto relacionada con el reconocimiento del esperma con la zona pelucida del óvulo durante el proceso de fecundación en ratones y simios^{30,31}

Cromosoma 9.

RXRA: Gen que pertenece a la superfamilia de receptores nucleares, específicamente a la subfamilia RXRs, cuyo producto funciona como un transactivador dependiente de un ligando a través de un complejo de dímeros o independiente al formar complejos de heterodímeros no permisivos. El surgimiento temprano en la evolución de los receptores RXRs en comparación a otros receptores nucleares les permitió desarrollar propiedades únicas como reguladores transcripcionales, volviéndolos más complejos por su habilidad para activar transcripcionalmente en forma de homodímeros o de heterodímeros con numerosos miembros de la misma familia, entre los cuáles se incluye el receptor de ácido retinoico (RAR), el receptor de vitamina D (VDR), el receptor de hormona tiroidea, el receptor constitutivo de androsterona entre otros^{30,32}.

La distribución general de los receptores retinóicos RAR α , RXR α y RXR β es dispersa en comparación con los patrones de expresión tejido específico que se observa en RAR β , RAR γ y RXR γ ³³.

La compleja red de vías de señalización reguladas por el producto de este gen están involucradas en la activación de genes implicados en morfogénesis, crecimiento, diferenciación celular y homeostasis durante etapas tempranas del desarrollo embrionario. Se le ha considerado un gen candidato para distintas alteraciones y afecciones sistémicas en varios órganos e inclusive un participante en el desarrollo de cáncer por su interacción con proteínas quiméricas resultantes de una translocación³²⁻³⁴.

Cromosoma 14.

KIAA0125: Gen cuyo producto corresponde a un RNA no codificante. El gen se localiza en el locus de la una cadena pesada de inmunoglobulinas y se ha sugerido que tiene la capacidad de codificar una proteína hipotética (denominada LOC9834) cuya función no se ha determinado aún. Por otra parte se han observado secuencias de 76-78 nucleótidos que se repiten 6 veces en la región no traducida de *KIAA0125*, que podrían considerarse con función reguladora³⁵ que le permiten actuar como antagonista de los factores de transcripción de un gen miembro de la subfamilia neurogenina, *NEUROG2*, jugando un papel importante en la neurogenesis.

NEUROG2 se ha hipotetizado que es tanto un regulador, como el responsable de vías de señalización genéticas que especifican el destino de las neuronas en el cordón espinal ventral. De modo que *KIAA0125* podría estar involucrado en el proceso de neurogénesis al prevenir la generación de neuronas dopaminérgicas o incluso en la inducción de astrocitos³⁶.

ADAM6: Pseudogen cuyo producto no es funcional en humanos. Su ortólogo corresponde a una metalopeptidasa.

Cromosoma 17.

BAIAP2: Gen que codifica para una proteína a la que se le identificado como una proteína de unión a un inhibidor de la angiogénesis en cerebro (BAI1). Esta proteína adaptadora une proteínas de membrana ligadas a proteínas G con proteínas efectoras del citoplasma. Su función tipo “receptor de insulina tirosín-cinasa” sugiere que podría estar también relacionada con una función en el efecto de la insulina a nivel de sistema nervioso³⁷.

AATK: Este gen codifica para una proteína con un dominio tirosin-cinasa y su expresión se induce durante la apoptosis. Se propone que su expresión es necesaria para la inducción del arresto del crecimiento celular y de la apoptosis en células precursoras mieloides, también se ha visto que su producto proteico es capaz de producir diferenciación neuronal en neuroblastomas³⁸.

MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250: miRNA asociados con regulación en tumorigénesis al interactuar con los potenciadores de genes involucrados en vías de activación de genes o con las proteínas que en sí funcionan como factores de transcripción^{39,40}.

LOC388428: RNA no codificante.

Cromosoma 21.

BAGE3, BAGE2, BAGE5 y BAGE4: *BAGE* es un gen tejido específico que codifica para una proteína expresada únicamente en testículo. Esta proteína puede expresarse en células tumorales de tejido diferentes como mama, riñón entre otros y por tanto, al ser reconocidos como antígenos extraños a esos órganos son blanco de los linfocitos T citolíticos para su degradación⁴¹.

Cromosoma 22.

MIR650: La expresión del gen que codifica este miRNA es regulada por el promotor del gen *Igλ* al que se encuentra acoplado y por un grupo de citocinas llamadas TNF (Factor de Necrosis Tumoral). Este factor regula no sólo el *MIR650* maduro cuyo nombre es *hsa-miR-3612*, sino también su pre-miRNA. Cuando se activa por TNF forman un complejo en el que se incluyen más moléculas del miRNA para regular la cascada de señalización de varios procesos que de ser afectados resultan en enfermedades severas⁴².

Los blancos de este miRNA son secuencias de RNAm que codifican para proteínas importantes en proliferación celular y su sobrevivencia; como son la ciclina dependiente de cinasa 1 (CDK1), el inhibidor de crecimiento 4 (ING4) y el factor de crecimiento temprano 3 (EBF3). Este miRNA se ha visto implicado en cáncer (principalmente en leucemia crónica linfoblástica, gástrico, hepatocelular y colorectal) favoreciendo el proceso de tumorigénesis cuando se desregula^{25,26,43}.

IGLL5: Este gen codifica para uno de los polipéptidos de la inmunoglobulina tipo lambda que está localizada en el locus de las inmunoglobulinas lambda, pero que no requiere de rearrreglos somáticos para su expresión. Puede expresarse en diferentes etapas de la maduración de las células B⁴⁴.

5.3 Validación de los CNV por PCR.

Al analizar las regiones con CNV, se eligió la región 9q34.2 para la validación por PCR cuantitativo. Para amplificar la región con ganancia y tener un control de otra región cercana con un NC=2 se diseñaron los siguientes oligonucleótidos (Tabla 5.9.) con ayuda de los programas:

- Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)
- Universal Probe Library de Roche (<http://lifescience.roche.com/shop/en/mx/overviews/brand/universal-probe-library>)
- OligoAnalyzer Tool (<http://www.idtdna.com/calc/analyzer>).

Tabla 5.8. Oligos usados en la reacción de PCR de los genes *RXRA* y *LHX6*

Validación de CNV en Monosomía X						
REGIÓN	OLIGO	SECUENCIA (5'-3')	Longitud	TM	Annealing	Sonda UPL (Roche)
9q34.2	<i>RXRA</i> -F	AGACTCGGCCACCCCTTA	18	58	57	28
	<i>RXRA</i> -R	AAGCCCTCTCTACCCAGAC	20	64		
	<i>LHX6</i> -F	CTTCATTAGAGAGACACCGCTTT	23	66	60	60
	<i>LHX6</i> -R	CCGAACAATGAGTCCTAACTTTG	23	66		

Para amplificar el gen a validar, junto con su gen control, se utilizó una mezcla de varias muestras de DNAg utilizadas en los microarreglos en concentraciones equivalentes de 100 ng cada una. Los grupos formados de cada mezcla se enlistan en la tabla 5.9. También se analizaron de manera individual las muestras NV60X0 y NV117X0.

Tabla 5.9 Muestras incluidas en cada grupo de controles, nacidas vivas y abortos espontáneos.

Grupos	Muestras incluidas.
Control	Ctrl3, Ctrl4, Ctrl5, Ctrl7, Ctrl8, Ctrl11, Ctrl10, Ctrl13, Ctrl16 y Ctrl19
Nacidas Vivas X0	NV10X0, NV19X0, NV31X0, NV34X0, NV28X0, NV29X0, NV40X0, NV41X0, NV42X0, NV50X0, NV60X0, NV115X0, NV117X0, NV130X0, NV158X0
Abortos Espontáneos X0	AE11X0, AE62X0, AE56X0, AE67X0, AE70X0, AE77X0, AE78X0

El valor de los CT de cada grupo para el gen *RXRA* y su gen control *LHX6*, sus repeticiones y el promedio de cada uno se muestra en la tabla 5.10. Seguido por las fórmulas utilizadas para obtener la dosis génica que se resume en la tabla 5.11.

Tabla 5.10. Valores CT y su promedio del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de los tres grupos de estudio, control, nacidas vivas y aborto espontáneo.

9q34.2

Grupo	Gen	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4	Promedio CT
Control	<i>RXRA</i>	25.73	25.73	28.24	28.52	27.05
	<i>LHX6</i>	26.22	26.28	24.68	24.73	25.47
Nacidas Vivas	<i>RXRA</i>	28.83	28.82	25.93	25.02	27.15
	<i>LHX6</i>	25.3	25.27	25.50	25.45	25.38
Aborto Espontáneo	<i>RXRA</i>	25.78	25.79	28.64	28.63	27.21
	<i>LHX6</i>	25.53	25.67	26.15	26.27	25.90

$$\text{Dosis Génica (DG)} = 2^{-\Delta\text{CT}}$$

$$RXRA \text{ NV CT} = 27.15 \quad RXRA \text{ Ctr CT} = 27.05 \quad \Delta\text{CT} = (27.15-27.05) = 0.1$$

$$DG = 2^{-\Delta\text{CT}} = 0.99$$

$$LHX6 \text{ NV CT} = 24.88 \quad LHX6 \text{ Ctr CT} = 25.47 \quad \Delta\text{CT} = (25.38-25.47) = -0.09$$

$$DG = 2^{-\Delta\text{CT}} = 1.06$$

$$RXRA \text{ AE CT} = 27.21 \quad RXRA \text{ Ctr CT} = 27.05 \quad \Delta\text{CT} = (27.21-27.05) = 0.16$$

$$DG = 2^{-\Delta\text{CT}} = 0.89$$

$$LHX6 \text{ AE CT} = 25.90 \quad LHX6 \text{ Ctr CT} = 25.47 \quad \Delta\text{CT} = (25.90-25.47) = 0.43$$

$$DG = 2^{-\Delta\text{CT}} = 0.74$$

Tabla 5.11. Dosis génica del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de los grupos de estudio de las nacidas vivas y los abortos espontáneos. La dosis génica = 2 corresponde a un valor del $2^{-\Delta CT} = 1$.

Grupo	Gen	2 ^{-ΔCT}	DOSIS
Nacida Viva	<i>RXRA</i>	0.99	2
	<i>LHX6</i>	1.06	2
Aborto Espontáneo	<i>RXRA</i>	0.89	2
	<i>LHX6</i>	0.74	2

Tabla 5.12. Valores CT y su promedio del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de muestras individuales

9q34.2

Muestra	Gen	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4	Promedio CT
Control	<i>RXRA</i>	19.25	19.06	19.24	19.26	19.20
	<i>LHX6</i>	20.25	20.23	20.24	20.70	20.35
NV60X0	<i>RXRA</i>	19.84	19.81	19.33	19.35	19.58
	<i>LHX6</i>	20.5	20.27	20.48	20.25	20.37
NV117X0	<i>RXRA</i>	18.33	18.55	18.64	19.01	18.63
	<i>LHX6</i>	19.83	19.84	19.98	20.02	19.91

$$\text{Dosis Génica (DG)} = 2^{-\Delta CT}$$

$$RXRA \text{ NV60X0 CT} = 19.58 \quad RXRA \text{ Ctr CT} = 19.20 \quad \Delta CT = (19.58 - 19.20) = 0.38$$

$$DG = 2^{-\Delta CT} = 0.76$$

$$LHX6 \text{ NV60X0 CT} = 20.37 \quad LHX6 \text{ Ctr CT} = 20.35 \quad \Delta CT = (20.37 - 20.35) = 0.02$$

$$DG = 2^{-\Delta CT} = 0.98$$

$$RXRA \text{ NV117X0 CT} = 18.63 \quad RXRA \text{ Ctr CT} = 19.20 \quad \Delta CT = (18.63 - 19.20) = -0.57$$

$$DG = 2^{-\Delta CT} = 1.48$$

$$LHX6 \text{ NV117X0 CT} = 19.88 \quad LHX6 \text{ Ctr CT} = 20.35 \quad \Delta CT = (19.88 - 20.35) = -0.47$$

$$DG = 2^{-\Delta CT} = 1.34$$

Tabla 5.11. Dosis génica del gen *RXRA* y el gen control *LHX6* de los grupos de estudio de las nacidas vivas y los abortos espontáneos. La dosis génica = 2 corresponde a un valor del $2^{-\Delta CT} = 1$.

Muestra	Gen	2- ΔCT	DOSIS
NV60X0	<i>RXRA</i>	0.76	2
	<i>LHX6</i>	0.98	2
NV117X0	<i>RXRA</i>	1.48	3
	<i>LHX6</i>	1.34	2

La qPCR usada para validar nuestros microarreglos muestra como el delta CT del gen *RXRA* tiene una CNV confirmada de tres copias como dosis génica para la muestra NV117X0 y que efectivamente el gen *LHX6* funcionó como control con una DG de dos copias.

Aunque se realizó la validación en un conjunto de muestras de cada grupo, se esperaba que de existir el cambio en el NC de *RXRA* el valor se vería reflejado por aquellas muestras que lo presentaban y que aquellas que no lo tenían cambiarían ligeramente la delta CT, pero siempre manteniendo una similitud muy cercana al valor que corresponde al número de copias esperado. Sin embargo, en los grupos NV y AE se observó un número de copias de 2 para el gen control *LHX6* y para el gen problema *RXRA*.

Solamente en la muestra individual NV117X0 se validó la ganancia en la región que contiene al gen *RXRA*, al compararla con el grupo AE que presenta la misma aneuploidía y con el grupo control.

La dosis génica del grupo de los abortos y de las nacidas vivas con monosomía del cromosoma X se vió alterada por la presencia de muestras con un número de copias de dos. Influenciando en que se vieran menos representadas aquellas que tenían un número de copias mayor. Aparte de contar con una calidad de DNA mínima en algunas de las muestras, influenciando en las repeticiones de la qPCR.

6. DISCUSIÓN

El Síndrome de Turner es resultado de un evento esporádico de no disyunción en el que se pierde total o parcialmente uno de los cromosomas sexuales, dejando únicamente un sólo cromosoma X sin alteración. No obstante, se ha reconocido una gran variedad de mosaicos presentes en casi la mitad de las mujeres afectadas con este síndrome. Las características fenotípicas pueden ser muy distintas entre sí, aunque se puntualiza por su alta frecuencia la talla baja, la disgenesia gonadal y las alteraciones cardiovasculares que ponen en riesgo la vida de las pacientes.

Es importante resaltar la alta incidencia de 1:2500 nacidas vivas y que por lo general las pacientes mantienen un buen pronóstico y calidad de vida adulta. Su sobrevivencia al nacimiento es, por el contrario, extremadamente baja con un porcentaje del 1%, lo que vuelve excepcional el nacimiento de estas pacientes.

Se desconocen aún las condiciones que podrían estar favoreciendo la sobrevivencia de estos embriones, por lo que en este trabajo se quiso hacer un acercamiento al problema enfocándonos en las secuencias de DNA con mayor variabilidad entre cada individuo, las CNV. Siendo secuencias variables en el número de copias que presentan de una persona a otra, se ha observado que pueden tener un efecto benigno o patológico cuyo mecanismo se mantiene aún poco entendido. Los estudios que explican cómo se relacionan con el genoma y la manera en que un mismo número de copias de un CNV puede tener efectos distintos en diferentes poblaciones apenas comienzan a elucidarse⁴⁵.

Las CNV no tienen únicamente un efecto directo en el fenotipo por pérdida/ganancia de genes o secuencias reguladoras, sino también una influencia relativa que modifica la eficiencia de un gen al encontrarse en regiones intragénicas de exones correspondientes a dominios importantes o a sitios de empalme. El tamaño de la CNV, su localización y la presencia de otras regiones CNV le darán un efecto diferente a cada combinación de factores²⁴.

Esta característica de comportarse y presentar un número de copias diferencial entre poblaciones vuelve a los CNV un buen candidato para iniciar la búsqueda de elementos que compensen la falta del cromosoma X y que con ello permitan la sobrevivencia de un producto aneuploide.

Tomando en cuenta cómo se realizaron los trabajos de Urbach A, Benvenisty N (2009) y Ashleigh A, Vidu G (2010) para obtener sus propuestas de los genes que tienen una influencia en el resultado de los productos 45,X y de enfermedades congénitas cardíacas respectivamente, hemos empleado en este trabajo una estrategia muy similar usándolos como una guía de la metodología que nos diera el mejor acercamiento

Considerando que no teníamos un sitio específico de búsqueda, el uso de microarreglos nos permitió hacer un exploración amplia en todo el genoma de cada muestra para después, con ayuda de los software, analizar cuáles regiones mostraron en la mayoría de los casos de cada grupo una diferencia en comparación con otro grupo.

Las regiones descritas en los resultados plantean una propuesta de los diferentes genes y miRNAs que se encuentran dentro de las regiones CNV que encontramos en nuestro tamizaje con los microarreglos SNP 6.0 y que podrían estar involucrados en la sobrevivencia de los embriones aneuploides.

Nuestros resultados muestran que existen dos regiones CNV polimórficas en la totalidad de nuestra población, tanto de nacidas vivas (controles y pacientes) y abortos. Una en el cromosoma 8p11.22 y la otra en el cromosoma 14q32.33. Estas regiones contienen pseudogenes (*ADAM* y *KIAA0125* respectivamente) y podrían no tener ningún efecto, pero es importante reconocerlas como variantes que podrían estar siendo más frecuentes en nuestra población en comparación a otras. Empezar a conocer el estado de los polimorfismos de las CNV en nuestra población es importante para evitar asociaciones falsas.

Llama la atención que aún siendo regiones que presentan genes no funcionales en humanos, como la familia *ADAM* y *KIAA0125*, se les ha asociado al desarrollo de procesos de malignidad o posibles actividades reguladoras en el neurodesarrollo. Estos genes ameritan por tanto futuros estudios donde no solo se considere el número de copias, sino su secuencia y una posible recuperación de función en humanos.

Uno de los hallazgos más relevantes de nuestro estudio fue el encontrar que la CNV presente en región 9q34.2, se encuentra en un mayor número de copias en los abortos 45,X, en este

grupo encontramos que 7/10 muestras tuvieron 3 o 4 representantes de esta CNV, el grupo de las nacidas vivas 45,X tuvo 5/20 individuos con 3 o 4 copias y ningún individuo del grupo de nacidos vivos normales presentó este incremento. Sin embargo, esta región se ha reportado como una región polimórfica en otras poblaciones. Esta región alberga a *RXRA*, uno de los genes de regulación que controla a una gran red de vías de señalización para el correcto desarrollo embrionario, crecimiento y diferenciación celular. Su ausencia tiene un efecto fenotípico grave, ocasionando alteraciones en la morfogénesis y diferenciación celular e incluso la muerte del embrión cuando se deleta en líneas germinales. Este gen influye por tanto, directamente en la sobrevivencia del producto en formación^{30,34} y puede ser un candidato para considerarse una variante genómica que podría modificar la sobrevivencia de los embriones 45,X.

Las alteraciones en la expresión de *RXRA* podrían cambiar a varios niveles el desenlace del desarrollo del embrión al impactar en todas estas vías y aunque existen mecanismos de respaldo con otros receptores nucleares (*RAR*) que podrían entrar al rescate de las funciones alteradas por el cambio en CNV de *RXRA* (ya sea en pérdida o ganancia, como es el caso de nuestro estudio con el aumento del número de copias) podrían aún no ser igual de eficientes en la regulación de todas las vías al considerar sus propiedades únicas como regulador transcripcional³².

Cuando se trata de valorar el efecto de un cambio en la CNV de una región que contiene un gen como *RXRA* es necesario tener en cuenta los mecanismos que regulan su expresión, ya que un aumento en el número de copias no siempre es sinónimo de sobreexpresión o de mejor desempeño. Desafortunadamente para este caso en particular la regulación de *RXRA* en el humano aún no es bien conocida y falta por ser clarificada. *RXRA* es un gen dinámico que se expresa en un patrón de tiempo y tejido específico que habla de una fina regulación que podría no estar definida únicamente por el número de copias. Existen estudios que indican que los miRNAs, específicamente el miR-34a, están involucrados en la regulación de *RXRA* en hígado, por lo que el balance de la transcripción se podría ver influenciada por varios factores aparte de la CNV^{30,46}.

La región 17q27.3 con cambios en el número de copias presenta genes y miRNAs relevantes en la regulación de apoptosis, crecimiento celular y diferenciación celular. Aunque las CNV en genes que transcriben para miRNAs se encuentran aún poco estudiados, se ha

reportado que pueden hacerlos susceptibles a cambios en su transcripción.

La variación en el número de copias en miRNAs funcionalmente relevantes puede modular o predisponer diferentes fenotipos o enfermedades al impedir que silencien sus múltiples objetivos. Por ello los miRNA-CNV son potenciales variantes funcionales que deben ser consideradas como candidatos importantes en los estudios de asociación de genotipo-fenotipo²⁶.

El cromosoma 22 tiene una alta concentración de miRNA-CNV. Específicamente en la posición 22q11.22, la cuál coincide con cambios encontrados entre nuestra población aneuploide (NV y AB) y los controles. El gen del miRNA que se localiza en este locus es el *MIR650*, involucrado en la regulación de diferentes vías de proliferación y supervivencia. El aumento en el número de copias que se observa en nuestros resultados coincide en ambas poblaciones aneuploides, en las que podemos encontrar casos de pacientes que presentan malformaciones congénitas cardíacas, trastornos del desarrollo y vasculares. Es probable que exista una posible asociación entre alteraciones cardiovasculares en Turner con este miRNA.

De acuerdo a nuestros resultados, las diferencias encontradas en las CNV del gen *RXRA* con un aumento de 3 a 4 copias en 5 de 20 muestras en el caso de las pacientes y 7 de 10 abortos aneuploides, así como el miRNA hsa-miR-3612 con aumento de 3 a 4 copias en 9 de 10 en abortos aneuploides y de tres copias en 17 de 20 pacientes, pueden ser elementos con influencia en la supervivencia de pacientes con Síndrome de Turner. Aún cuando no es claro su mecanismo de acción son importantes participantes de la regulación del desarrollo embrionario que trabajos posteriores podrían tener como referencia en sus búsquedas y análisis de poblaciones más grandes.

7. CONCLUSIONES

Nuestros resultados mostraron dos CNV polimórficas, al parecer altamente frecuentes en nuestra población, ya que se encontraron en todos los grupos estudiados en un número de copias similar entre sí. Una en el cromosoma 8p11.22, presente en 1 o 2 copias en los tres grupos y la otra en el cromosoma 14q32.33 presente en 2 a 4 copias en proporciones similares en los tres grupos.

Se detectaron cuatro regiones CNV con diferencias importantes entre nuestros grupos de estudio de pacientes Turner, abortos con monosomía del cromosoma X y controles sanos en 9q34.2, 17q25.3, 21q11.2 y 22q11.22.

La región 9q34.2 que se encontró en nuestro estudio a la alta en 7 de 10 abortos aneuploides con un aumento de 3 a 4 copias e involucra a *RXRA*, uno de los genes de regulación que controla a una gran red de vías de señalización para el correcto desarrollo embrionario, crecimiento y diferenciación celular, podría influenciar a varios niveles el desenlace del embrión al impactar en todas estas estas vías.

Las regiones 17q25.3 y 21q11.2 con un aumento de 3 copias en 6 de 10 abortos y una baja de 2 copias en 9 de 10 abortos respectivamente, incluyen genes y miRNAs relevantes en la regulación de apoptosis, crecimiento celular y diferenciación celular. De presentar cambios en la dosis por variaciones en las CNV, podrían modular o predisponer diferentes fenotipos o enfermedades.

El cromosoma 22 contienen una alta densidad de miRNA-CNV con regiones donde se ven altas tasas de cambios en el número de copias; uno de estos sitios corresponde a 22q11.22. Esta región se encuentra aumentada con 3 a 4 copias en 17 de 20 pacientes y en 9 de 10 abortos. El gen *MIR650* que se localiza en este locus y codifica para el hsa-miR-650 que se ha visto involucrado en la regulación de diferentes vías de proliferación y supervivencia.

Proponemos que estas cuatro regiones se mantengan a consideración en estudios subsecuentes donde cohortes mas grandes confirmen su frecuencia y número de copias, así como cambios en la dosis y en la eficiencia de la función de los genes y miRNAs involucrados en ellas, por efecto de diferencias en sus CNV.

8. LITERATURA CITADA

1. Alberts, B., Bray, D. & Lewis, J. *Biología Molecular de La Celula - 3b: Edición*. (Omega, 1999).
2. by. Molecular Cell Biology. *Barnes & Noble* at <<http://www.barnesandnoble.com/w/molecular-cell-biology-harvey-lodish/1116753899>>
3. Shaffer, L. G., McGowan-Jordan, J. & Schmid, M. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013)*. (Karger Publishers, 2012).
4. Karp, G. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. (John Wiley & Sons, 2009).
5. Gardner, R. J. ., Sutherland, G. R. & Shaffer, L. G. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. (Oxford University Press, 2011). at <<http://oxfordmedicine.com/view/10.1093/med/9780195375336.001.0001/med-9780195375336>>
6. Eggers, S. & Sinclair, A. Mammalian sex determination—insights from humans and mice. *Chromosome Res.* **20**, 215–238 (2012).
7. Santos, V. *et al.* [Turner syndrome. From child to adult... A multidisciplinary approach]. *Acta Med Port* **23**, 873–882 (2010).
8. Carlson, B. M. *Embriología humana y biología del desarrollo*. (Elsevier Science Health Science Division, 2005).
9. Kesler, S. Turner Syndrome. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* **16**, 709–722 (2007).
10. Urbach, A. & Benvenisty, N. Studying Early Lethality of 45,XO (Turner's Syndrome) Embryos Using Human Embryonic Stem Cells. *PLoS ONE* **4**, e4175 (2009).
11. Oliveira, R. M. R. de *et al.* Y chromosome in Turner syndrome: review of the literature. *Sao Paulo Med J* **127**, 373–378 (2009).
12. Donaldson, M. D. C., Gault, E. J., Tan, K. W. & Dunger, D. B. Optimising management in Turner syndrome: from infancy to adult transfer. *Arch. Dis. Child.* **91**, 513–520 (2006).
13. *Management of Genetic Syndromes*. (Wiley-Liss, 2010).
14. Hook, E. B. & Warburton, D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum. Genet.* **133**, 417–424 (2014).
15. Hong, D., Kent, J. S. & Kesler, S. COGNITIVE PROFILE OF TURNER SYNDROME. *Dev Disabil Res Rev* **15**, 270–278 (2009).
16. Nazarenko, S. A., Timoshevsky, V. A. & Sukhanova, N. N. High frequency of tissue-specific mosaicism in Turner syndrome patients. *Clinical Genetics* **56**, 59–65 (1999).
17. Fritz, B. *et al.* Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)-Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions. *Eur. J. Hum. Genet.* **9**, 539–547 (2001).
18. N, C., D, W. & J, B. Morphological characteristics of monosomy X in spontaneous abortions. *Ann Genet* **31**, 4–13 (1987).
19. Hassold, T. & Hunt, P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat. Rev. Genet.* **2**, 280–291 (2001).
20. Stankiewicz, P. & Lupski, J. R. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu. Rev. Med.* **61**, 437–455 (2010).
21. Speleman, F. *et al.* Copy number alterations and copy number variation in cancer: close encounters of the bad kind. *Cytogenet. Genome Res.* **123**, 176–182 (2008).
22. Redon, R. *et al.* Global variation in copy number in the human genome. *Nature* **444**, 444–454 (2006).
23. *Genomic structural variants: methods and protocols*. (Humana Press ; Springer, 2012).

24. Riggs, E. R., Ledbetter, D. H. & Martin, C. L. Genomic Variation: Lessons Learned from Whole-Genome CNV Analysis. *Curr Genet Med Rep* **2**, 146–150 (2014).
25. Marcinkowska, M., Szymanski, M., Krzyzosiak, W. J. & Kozlowski, P. Copy number variation of microRNA genes in the human genome. *BMC Genomics* **12**, 183 (2011).
26. Veerappa, A. M. *et al.* Copy Number Variations Burden on miRNA Genes Reveals Layers of Complexities Involved in the Regulation of Pathways and Phenotypic Expression. *PLoS One* **9**, (2014).
27. Flores, E. E. & Aranzábal, M. del C. U. *Atlas de histología de vertebrados*. (UNAM, 2002).
28. Vorsanova, S. G. *et al.* Evidence for High Frequency of Chromosomal Mosaicism in Spontaneous Abortions Revealed by Interphase FISH Analysis. *J Histochem Cytochem* **53**, 375–380 (2005).
29. Untergasser, A. *et al.* Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Res.* **35**, W71–74 (2007).
30. Ahuja, H. S., Szanto, A., Nagy, L. & Davies, P. J. A. The retinoid X receptor and its ligands: versatile regulators of metabolic function, cell differentiation and cell death. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* **17**, 29–45 (2003).
31. Frayne, J., Dimsey, E. A., Jury, J. A. & Hall, L. Transcripts encoding the sperm surface protein tMDC II are non-functional in the human. *Biochem. J.* **341 (Pt 3)**, 771–775 (1999).
32. Chiba, H., Clifford, J., Metzger, D. & Chambon, P. Specific and Redundant Functions of Retinoid X Receptor/Retinoic Acid Receptor Heterodimers in Differentiation, Proliferation, and Apoptosis of F9 Embryonal Carcinoma Cells. *J Cell Biol* **139**, 735–747 (1997).
33. Dollé, P. Developmental expression of retinoic acid receptors (RARs). *Nucl Recept Signal* **7**, e006 (2009).
34. Kastner, P. *et al.* Genetic analysis of RXR α developmental function: Convergence of RXR and RAR signaling pathways in heart and eye morphogenesis. *Cell* **78**, 987–1003 (1994).
35. Uhrig, M. *et al.* New Alzheimer Amyloid β Responsive Genes Identified in Human Neuroblastoma Cells by Hierarchical Clustering. *PLoS ONE* **4**, e6779 (2009).
36. Scardigli, R., Schuurmans, C., Gradwohl, G. & Guillemot, F. Crossregulation between Neurogenin2 and pathways specifying neuronal identity in the spinal cord. *Neuron* **31**, 203–217 (2001).
37. Oda, K. *et al.* Identification of BAIAP2 (BAI-associated protein 2), a novel human homologue of hamster IRSp53, whose SH3 domain interacts with the cytoplasmic domain of BAI1. *Cytogenet. Cell Genet.* **84**, 75–82 (1999).
38. Tomomura, M., Fernandez-Gonzales, A., Yano, R. & Yuzaki, M. Characterization of the apoptosis-associated tyrosine kinase (AATYK) expressed in the CNS. *Oncogene* **20**, 1022–1032 (2001).
39. Fu, X. *et al.* The effect of miR-338-3p on HBx deletion-mutant (HBx-d382) mediated liver-cell proliferation through CyclinD1 regulation. *PLoS ONE* **7**, e43204 (2012).
40. Luna-Muñoz, J. *et al.* Thiazin red as a neuropathological tool for the rapid diagnosis of Alzheimer's disease in tissue imprints. *Acta Neuropathol.* **116**, 507–515 (2008).
41. Boël, P. *et al.* BAGE: a new gene encoding an antigen recognized on human melanomas by cytolytic T lymphocytes. *Immunity* **2**, 167–175 (1995).
42. Mraz, M. *et al.* MicroRNA-650 expression is influenced by immunoglobulin gene rearrangement and affects the biology of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **119**, 2110–2113 (2012).
43. Mraz, M. *et al.* MicroRNA-650 expression is influenced by immunoglobulin gene rearrangement and affects the biology of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **119**, 2110–2113 (2012).
44. Bossy, D. *et al.* Organization and expression of the lambda-like genes that contribute

- to the mu-psi light chain complex in human pre-B cells. *Int. Immunol.* **3**, 1081–1090 (1991).
45. Mauro, J. A., Butler, S., Ramsamooj, M. & Blanck, G. Copy number loss or silencing of apoptosis-effector genes in cancer. *Gene* (2014). doi:10.1016/j.gene.2014.10.021
46. Oda, Y. *et al.* Retinoid X receptor α in human liver is regulated by miR-34a. *Biochem. Pharmacol.* **90**, 179–187 (2014).

9. ANEXOS

9.1 Anexo 1. Carta de consentimiento informado



Instituto Nacional de
Pediatría



SECRETARÍA
DE SALUD

SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION EN GENETICA HUMANA CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: “Búsqueda de CNVs e individuos con trisomía 21 y monosomía X” Registro INP 84/2010

Se nos invita a participar en una investigación de familias que han tenido hijos o abortos con enfermedades de los cromosomas para analizar porqué muchos de estos embarazos se abortan y otros pueden llegar a nacer vivos.

Además se nos informa que:

- Los investigadores verán mi expediente médico para conocer la información que necesiten.
- Los investigadores tomarán una muestra de 5 mililitros de sangre de mi pareja y mía. Si tenemos un bebé enfermo, le tomarán una muestra de sangre de 5 mililitros, pero si lo que tuvimos fue un aborto, solamente se estudiará el tejido que ya está en el laboratorio.
- Para obtener la sangre se tiene que picar una vena del brazo y eso puede producir dolor leve o formar un moretón. Algunas personas sienten que se marean o se desmayan pero por lo general, la toma de sangre no produce problemas serios.
- El material genético obtenido de la muestra de sangre y del tejido del aborto, se guardará bajo la responsabilidad de los investigadores relacionados al proyecto de investigación.
- Al participar en este estudio, no recibiremos ningún beneficio personal, pero los resultados de la investigación podrían ayudar en el futuro a familias con problemas similares al nuestro
- Si los resultados de este estudio pudieran ayudar a crear productos comerciales, nosotros no recibiríamos ningún beneficio financiero.
- Los resultados de este estudio son confidenciales. Podrán ser usados para publicaciones médicas o presentaciones en congresos pero siempre respetando nuestra privacidad.
- Nuestra participación es completamente voluntaria, sin costo y podemos dejar de participar en cualquier momento, sin que esto repercuta en nuestra relación con el grupo médico, o en su caso tampoco repercutirá en la atención a nuestro hijo(a).

- Las muestras sobrantes o que no hayan sido utilizadas serán guardadas en el Laboratorio de Citogenética del Instituto Nacional de Pediatría, para realizar en un futuro algún otro estudio genético que pueda beneficiar a nuestro hijo(a) o a otros pacientes con el mismo diagnóstico. En su caso, se nos brindarán las cartas de consentimiento informado correspondientes para los nuevos proyectos.
- Si fuera necesario localizarnos podrá ser en la siguiente dirección o teléfono:
Clave lada () _____
Celular _____

Calle, número ext., num. Int., Colonia, Zona
Postal: _____

Ciudad _____

Correo electrónico _____

- Si deseamos información adicional de los miembros del grupo de investigación, en relación con el proyecto de investigación, podremos contactar a:
- Investigador responsable: Dra. Sara Frias Vázquez, tel. (55) 10-84-09-00 extensión 1436

NOMBRE DEL INVESTIGADOR QUE SOLICITA EL CONSENTIMIENTO INFORMADO:

COMENTARIOS:

CONSENTIMIENTO:

México, D.F., a ____ de _____ del 20__.

Yo

_____ padre y

yo

_____ madre

del niño (a) _____ hemos sido

informados verbalmente y por escrito sobre las características, beneficios y problemas que plantea el estudio “Búsqueda de CNVs e individuos con trisomía 21 y monosomía X”. Se nos ha explicado la naturaleza del proyecto de investigación, hemos leído el Formato de Consentimiento y hemos tenido la oportunidad de hacer preguntas las cuales fueron contestadas claramente y se nos explicó que la participación es voluntaria. Después de reflexionar estamos de acuerdo en participar en el estudio y en su caso que nuestro hijo(a) participe.

Nombre y firma del padre

Nombre y firma de la madre:

Testigo 1: _____

Testigo 2: _____

Nombre del Investigador:

Firma: _____

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE,
Y DE CELULAS DE PRODUCTOS DE ABORTOS.**

Título del Proyecto “Búsqueda de CNVs e individuos con trisomía 21 y monosomía X” Cada muestra de tejido contiene información genética, esta información puede servir para realizar estudios adicionales.

Si usted está de acuerdo en que se realicen estos estudios, se guardará absoluta confidencialidad y sólo le serán informados los resultados a quien usted decida.

Por favor, circule lo que considere apropiado

Autorizo / No autorizo que el DNA de estas muestras sea almacenado y usado de manera confidencial para investigaciones genéticas adicionales

Solicito La destrucción de las muestras utilizadas al finalizar este estudio

Solicito/ no solicito Que me informen los resultados de los estudios genéticos adicionales que se hagan con las muestras que doné

Lugar y Fecha: _____

Nombre y firma del padre: _____

Nombre y firma de la madre: _____

Testigo 1 Firma : _____

Testigo 2 Firma : _____

Médico tratante o Responsable del proyecto

Nombre y firma: _____

9.2 Anexo 2. Procedimiento para FISH en leucocitos de sangre periférica y fibroblastos

9.2.1 Cultivos de cosecha directa de sangre periférica y fibroblastos

Reactivos para el cultivo de linfocitos de sangre periférica.

- RPMI Medio 1640. Gibco BRL Linfocitos/ Amnio-max complete. Gibco Fibroblastos (500 ml)
- L-Glutamine-200 mM, 100X. Gibco BRL, solo para suplementar RPMI (100 ml)
- Antibiótico Gentamicina. Gibco

Medio RPMI 1640 Complementado	
Componentes	Cantidad
RPMI Medio 1640	500 ml
Amnio Max complete	
L-Glutamina-200 mM, 100X	5 ml
Gentamicina	2.5 ml
Antibiotico-Antimicotico, 100xX	5 ml

El medio puede mantenerse suplementado hasta por 2-3 semanas a +4°C.

Reactivos para la cosecha de Linfocitos de sangre periférica.

- Potasio Clorhídrico (KCl). MERCK Mallinckrodt
- Metanol. MERCK
- Ácido acético glacial. MERCK

Solución Hipotónica	
Componentes	Cantidad
KCl	0.075 M
Agua destilada	1 L

Fijador o Carnoy	
Componentes	Cantidad
Metanol	3 partes
Ac. acético glacial	1 parte

1. Para el cultivo de cosecha directa de los fibroblastos, se apartan las células correspondientes al 80% de confluencia de una caja de 75 cm³ previamente lavadas de tripsina o se agrega 1 ml de sangre periférica a 8 ml de solución hipotónica de KCl 0.075 M y se deja por 30 min a 37°C.
2. Pasado ese tiempo se fija con 1 ml de carnoy 3:1 frío (4°C) y se centrifuga a 1500 rpm/10 min.
3. Se retira el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular y se vuelve a dar un nuevo lavado con fijador fresco y frío.
4. Nuevamente se centrifuga a 1500 rpm/10 min y se repiten los lavados (aproximadamente 3 lavados) hasta obtener un botón celular blanco que corresponde a los leucocitos.

9.2.2 Procedimiento para realizar la técnica de FISH en Leucocitos y Fibroblastos

Con el botón obtenido de la cosecha directa de sangre periférica se preparan laminillas cuidando de que los núcleos se vean oscuros, no refringentes en contraste de fases, separados entre sí y localizados en su mayoría en un área determinada de la laminilla.

Dentro de esta laminilla se seleccionó un área rica en células y se marcó con un lápiz diamante, ésta fue el área donde se realizó el FISH con las sondas X, Y y 18. Para la hibridación *in situ* se utilizó el kit de AneuVysion, (Anexo 3).

Reactivos para la hibridación del FISH

- Ácido acético 70%
- 2X SSC, se logra su concentración con agua destilada
- Alícuota de 250 µl de pepsina. Sigma P-7012. Guardar a 4°C
- Solución post-fijación, se prepara justo antes de ponerlo en la laminilla

Ácido acético 70%	
Componentes	Cantidad
Ácido acético	70 ml
Metanol	30 ml

Pepsina	
Componentes	Cantidad
Pepsina	100 mg
Agua destilada	5 ml
Solución de uso DAPI	
Componentes	Cantidad
Formaldehido 37%	7.5 µl
PBS 1X	250 µl

Leucocitos:

1. Se deja madurando la laminilla en una solución de 2X SSX durante 30 min. a 37° C.
2. Pasado ese tiempo se escurre ligeramente y se pasa por un tren de alcoholes para deshidratar la muestra. Primero se deja en etanol 70%, luego en etanol al 80% (durante 2 min. en cada uno) y finalmente en etanol al 100% (durante 5 min.).
3. Se retira la laminilla y se deja secar a temperatura ambiente en posición vertical para que tenga el menor contacto con cualquier superficie, evitando que se ensucie.

Fibroblastos:

1. Se procesan las laminillas en un tren de ácido acético (el tiempo dependerá de la cantidad de citoplasma de la muestra) de 2 a 20 min. Para el caso de los fibroblastos se usaron 5 min. En el resto de las soluciones son 2 min en cada una. Al terminal el Et-OH 100% se dejan secar.
2. Se colocan en 2XSSC (pH7) durante 30 min a 37°C.
3. Se deshidrata nuevamente en etanoles al 70%, 80%, 100% por 2 min cada uno.
4. 30 min. antes, preparar la solución de pepsina añadiendo a 49.5 ml de agua destilada 0.5 ml de HCl 1N en un coplin de 50 ml y precalentar a 37°C en baño maría.
5. Descongelar el la alícuota de pepsina a temperatura ambiente en el momento de utilizarla y añadirla a la solución precalentada de HCl.
6. Sumergir las laminillas en la solución de pepsina e incubarla 2 min. El tiempo puede variar si hay mucho citoplasma hasta 5 min.
7. Escurrir las laminillas y lavarlas en un coplin con PBS1X durante 3 min y observar al microscopio si el tiempo fue el adecuado. Cuidar de que no se sequen cubriendo con un cubreobjetos la muestra. Si aún hay citoplasma se puede volver a tratar la laminilla con pepsina.
8. Aplicar 100 µl de solución de post-fijación a cada laminilla, cubrir con el cubreobjetos e incubar 10 min a temperatura ambiente.
9. Retirar el cubre y lavar en PBS1X durante 3 min.
10. Dejar escurrir sin que se seque la laminilla y deshidratarla en el tren de alcoholes de 70%, 80%, 100% por 2 min cada uno. Dejar secar después del lavado en Et-OH al 100% A partir de este paso se continúa el proceso en un cuarto oscuro o

con luz amarilla o roja. Preparadas las laminillas, finalmente se hibridan con las sondas, se lavan y contrastan con DAPII.

A partir de este paso se continúa el proceso en un cuarto oscuro o con luz amarilla o roja. Preparadas las laminillas, finalmente se hibridan con las sondas, se lavan y contrastan con DAPII.

Reactivos para la hibridación del FISH

- 20X SSC Buffer. Sigma
- IGEPAL. Sigma
- DAPI II
- Vectashield

2X SSC/ 0.1% IGEPAL (pH 7)	
Componentes	Cantidad
20X SSC	100 ml
Agua destilada	850 ml
IGEPAL	1 ml
0.4X SSC/ 0.3% IGEPAL (pH 7)	
Componentes	Cantidad
20X SSC	20 ml
Agua destilada	950 ml
IGEPAL	3 ml
Solución de uso DAPI	
Componentes	Cantidad
DAPI II	1 µl
Vectashield	19 µl

4. Preparar una superficie que se mantenga a 72°C
5. Preparar una cámara húmeda utilizando un recipiente preferentemente hermético donde se coloquen gasas húmedas y varillas que mantengan la laminilla sobre el nivel de las gasas. Mantenerla a 37° C.

6. Descongelar el coctel de sondas y prepararlo de acuerdo a las instrucciones de cada marca y tipo. Para el caso de AneuVysion solo se debe aplicar la sonda directamente a la muestra.
7. Limpiar cuidadosamente un cubreobjetos de 22x22 mm², hasta no ver polvo ni grasa en él.
8. Colocar 7 µl de la mezcla de las sondas en el cubreobjetos. Colocar la laminilla, del lado que tiene la muestra, encima del cubreobjetos de modo que la muestra quede cubierta por la sonda.
9. Codesnaturalizar durante 1 min – 30 s en la superficie de 72°C. Adecuar el tiempo hasta que se vea claramente una sola señal.
10. Pasado el tiempo de codesnaturalización enfriar rápidamente colocando la laminilla sobre una superficie fría, aproximadamente 15° C y sellar con cemento Iris.
11. Incubar en la cámara húmeda que se preparó previamente a 37° C durante toda la noche (16-24 h).
12. Pasado ese tiempo se prepara una solución de lavado 0.4X SSC/ 0.3% NP40 precalentado a 74° C (± 1° C) en baño maría. Es importante considerar que cada laminilla que se introduzca reduce 1° C la temperatura de la solución de lavado.
13. Aparte, se prepara en otro coplin otra solución de lavado 2X SCC/ 0.1% NP40 a temperatura ambiente.
14. Se retira de la cámara húmeda la laminilla y se le quita el cemento y el cubreobjetos cuidando de no rayar la muestra.
15. Se introduce la laminilla, cuidando que no se haya secado, al primer lavado de 0.4X SSC/ 0.3% NP40 a 73° C ± 1° C y se deja por 2 min.
16. Pasar rápidamente al segundo lavado de 2X SCC/ 0.1% NP40 he incubar al menos 1 min y reservarlo.
17. Preparar en un cubreobjetos nuevo, limpio de polvo y grasa. Colocar 10 µl de una disolución de DAPI 1:20.
18. Sacar la laminilla del segundo lavado y dejarla escurrir cuidando que no se seque por completo. Colocarla sobre el cubreobjetos con DAPI cuidando que cubra la muestra.
19. Colocar la laminilla en una sanita y presionar suavemente para secar el exceso de la solución 2X SCC/ 0.1% NP40 y el DAPI. Guardar en un recipiente protegido de la luz.

9.3 Anexo 3. Diagrama de hibridación de las sondas

Para este trabajo se empleó el kit comercial Aneuvysion Multicolor DNA (Vysis CEP 18, X, Y- alfa satélite, LSI 13 y21).

- Sondas
 - CEP 18 pre desnaturalizada, con bloqueo para DNA y buffer de hibridación (dextransulfatado, formamida, SSC)
 - CEP X pre desnaturalizada, con bloqueo para DNA y buffer de hibridación (dextransulfatado, formamida, SSC)
 - CEP Y pre desnaturalizada, con bloqueo para DNA y buffer de hibridación (dextransulfatado, formamida, SSC)

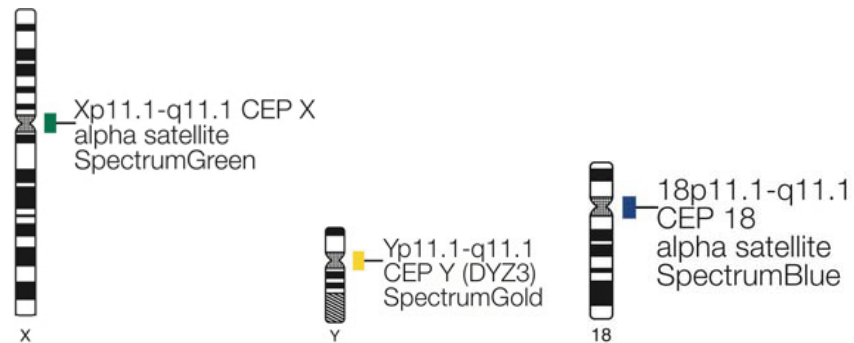


Fig. 10.1 Descripción de la región de hibridación de las sondas empleadas en el kit comercial Aneuvysion Multicolor DNA, así como el color de la fluorescencia de cada una.

9.4 Anexo 4. Tabla de regiones con CNV encontrados en las pacientes con Síndrome de Turner, Controles sanos y Abortos espontáneos con monosomía del cromosoma X.

8p11.22									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Controles	NVctr11Fem.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230312	39388287	157.975	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NVctr13Mas.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39386953	151.363	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NVctr19Mas.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230312	39386953	156.641	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NVctr7Fem.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230170	39388287	158.117	ADAM5P, ADAM3A	p23.1	p23.1
	NVctr8Fem.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39388287	152.697	ADAM5P, ADAM3A	p23.1	p23.1
	NVctr3Fem.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39386953	151.363	ADAM5P, ADAM3A	p23.1	p23.1
Pacientes Turner	NV1_2_2.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230646	39388287	157.641	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV19X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230312	39386953	156.641	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV28X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230646	39388287	157.641	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV29X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39386953	151.363	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV31X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230312	39388287	157.975	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV34X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39230312	39386953	156.641	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV41X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39386953	151.363	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV52X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39388287	152.697	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV102X0.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39385182	149.592	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22
	NV111.CN5.CNCHP	1	pérdida	39235590	39389112	153.522	ADAM5P, ADAM3A	p11.22	p11.22

9q34.2									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Pacientes Turner	NV1_2_2.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137163661	137375773	212.112	RXRA	q34.2	q34.2
	NV102X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137163661	137375773	212.112	RXRA	q34.2	q34.2
	NV130.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137163661	137375773	212.112	RXRA	q34.2	q34.2
	NV1_1_4.CN5.CNCHP	4	Ganancia	137208584	137375773	167.189	RXRA	q34.2	q34.2
	NV117.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137225102	137380764	155.662	RXRA	q34.2	q34.2
AE monosomía del X	AE62.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137225102	137380764	155.662	RXRA	q34.2	q34.2
	AE67.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137216395	137380764	164.369	RXRA	q34.2	q34.2
	AE70.CN5.CNCHP	4	Ganancia	137153373	137380764	227.391	RXRA	q34.2	q34.2
	AE71.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137153175	137375773	222.598	RXRA	q34.2	q34.2
	AE77.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137225102	137375773	150.671	RXRA	q34.2	q34.2
	AE78.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137165348	137375773	210.425	RXRA	q34.2	q34.2
	AE79.CN5.CNCHP	3	Ganancia	137163661	137375773	212.112	RXRA	q34.2	q34.2

14q32.33									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Controles	CtrNV5Mas.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr10Mas.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106274224	106448068	173.844	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr11Fem.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106274224	106448068	173.844	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr13Mas.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr16Mas.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106274224	106526954	252.73	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr19Mas.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106274224	106530675	256.451	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr3Fem.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106274224	106448068	173.844	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr4Fem.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106194464	106629557	435.093	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NVCtr8Fem.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
Pacientes Turner	NV115.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106029624	106922519	892.895	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV132.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106029624	106448068	418.444	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV19X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106119626	106448068	328.442	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV1_2_2.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106125385	106922519	797.134	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV10X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106194464	106526954	332.49	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV28X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV41X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV52X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106194464	106826100	631.636	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV31X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106290968	106530675	239.707	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV34X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106295665	106530675	235.01	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV29X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106342304	106530675	188.371	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	NV102X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106342304	106863514	521.21	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV111.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106342304	106922519	580.215	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV117.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106342304	106943822	601.518	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221	q32.33	q32.33
	NV130.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106342304	106914639	572.335	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	NV60X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106451028	107100597	649.569	NCRNA00226, NCRNA00221	q32.33	q32.33
AE monosomía del X	AE11X0.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106274224	106448068	173.844	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE15X0.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106078689	106820732	742.043	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	AE56.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106194464	106530352	335.888	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE62.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106224341	106736912	512.571	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE67.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106224341	106736912	512.571	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE70.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106295665	106693466	397.801	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE71.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106342304	107091777	749.473	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221	q32.33	q32.33
	AE77.CN5.CNCHP	4	Ganan.	106342304	106569451	227.147	KIAA0125, ADAM6	q32.33	q32.33
	AE78.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106029624	106912467	882.843	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33
	AE79.CN5.CNCHP	3	Ganan.	106342304	106897379	555.075	KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226	q32.33	q32.33

17q25.3									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Pacientes Turner	NV1_1_4.CN5.CNCHP	4	Gain	78913065	79144428	231.363	RPTOR, CHMP6, FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428	q25.3	q25.3
	NV115.CN5.CNCHP	3	Gain	79021202	79256257	235.055	BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	NV130.CN5.CNCHP	3	Gain	79021202	79256257	235.055	BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	NV132.CN5.CNCHP	3	Gain	79021202	79248320	227.118	BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
AE monosomía del X	AE62.CN5.CNCHP	3	Gain	79000683	79256257	255.574	FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	AE67.CN5.CNCHP	3	Gain	79000683	79256257	255.574	FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	AE71.CN5.CNCHP	3	Gain	78993381	79256257	262.876	FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	AE77.CN5.CNCHP	3	Gain	78993381	79256257	262.876	FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	AE78.CN5.CNCHP	3	Gain	78993381	79254076	260.695	FLJ90757, BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3
	AE79.CN5.CNCHP	3	Gain	79021202	79256257	235.055	BAIAP2, AATK, MIR657, MIR3065, MIR338, MIR1250, LOC388428, AZI1, C17orf56, C17orf89, SLC38A10	q25.3	q25.3

21q11.2									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Controles	CtrNV5Mas.CN5.CNCHP	3	Gain	11083846	14664315	3580.469	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NVCtr11Fem.CN5.CNCHP	3	Gain	11039259	14664315	3625.056	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NVCtr13Mas.CN5.CNCHP	3	Gain	11039259	14661246	3621.987	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NVCtr16Mas.CN5.CNCHP	3	Gain	11069336	14623773	3554.437	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NVCtr19Mas.CN5.CNCHP	3	Gain	11083846	14661246	3577.4	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NVCtr8Fem.CN5.CNCHP	3	Gain	11083846	14664315	3580.469	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
Pacientes Turner	NV28X0.CN5.CNCHP	3	Gain	11083846	14664315	3580.469	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NV29X0.CN5.CNCHP	3	Gain	11083846	14664315	3580.469	BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NV40X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10736858	11163915	427.057	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.2
	NV41X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10736858	14603577	3866.719	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.2
	NV42X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10736858	14907589	4170.731	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2, MIR3156-3	q11.2	p11.2
	NV52X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10976093	14775729	3799.636	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
	NV102X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10956131	11173781	217.65	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.1
	NV60X0.CN5.CNCHP	3	Gain	10963499	11173781	210.282	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.1
	NV115.CN5.CNCHP	3	Gain	10736858	11173781	436.923	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.2
	NV117.CN5.CNCHP	3	Gain	10956131	11173781	217.65	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.1
	NV132.CN5.CNCHP	3	Gain	10956131	14673850	3717.719	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE, ANKRD30BP2	q11.2	p11.1
AE monosomía del X	AE62.CN5.CNCHP	3	Gain	10956131	11173781	217.65	TPTE, BAGE2, BAGE4, BAGE3, BAGE5, BAGE	p11.1	p11.1

22q11.22									
Grupo	Muestra	NC	Cambio	Inicio (pb)	Fin (pb)	Tamaño	Genes	Banda	Banda
Controles	NVctr10Mas.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22970126	23258603	288.477	POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NVctr4Fem.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22970126	23204628	234.502	POM121L1P, GGTLC2, MIR650	q11.22	q11.22
Pacientes Turner	NV102X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22871747	23263262	391.515	ZNF280A, PRAME, LOC648691, POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV132.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22890031	23263262	373.231	PRAME, LOC648691, POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV111.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22949782	23266118	316.336	POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV29X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22962461	23258603	296.142	POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV31X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22962461	23213354	250.893	POM121L1P, GGTLC2, MIR650	q11.22	q11.22
	NV34X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22968323	23204628	236.305	POM121L1P, GGTLC2, MIR650	q11.22	q11.22
	NV1_2_2.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23263262	265.464	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV60X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23275341	277.543	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV28X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23004374	23202509	198.135	MIR650	q11.22	q11.22
	NV130.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23027410	23263262	235.852	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV115.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23040137	23263262	223.125	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV41X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23051907	23258603	206.696	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV52X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23058928	23258603	199.675	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV40X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23065619	23258603	192.984	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	NV42X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23111957	23263262	151.305	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
NV117.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23111957	23263262	151.305	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22	
AE monosomía del X	AE11X0.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23121204	23221264	100.06	MIR650	q11.22	q11.22
	AE56.CN5.CNCHP	3	Ganancia	23124375	23258603	134.228	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE62.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23263262	265.464	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE67.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23285093	287.295	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE70.CN5.CNCHP	4	Ganancia	23083890	23285093	201.203	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE71.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23263262	265.464	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE77.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22962461	23268151	305.69	POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE78.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22997798	23263262	265.464	MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22
	AE79.CN5.CNCHP	3	Ganancia	22962461	23275341	312.88	POM121L1P, GGTLC2, MIR650, IGLL5	q11.22	q11.22

9.5 Anexo 5. Tabla de regiones con CNV y las variantes identificadas en ellas de las pacientes con Síndrome de Turner, Controles sanos y Abortos espontáneos con monosomía del cromosoma X.

8p11.22		
Grupo	Muestra	DGV
Controles	NVCtr11Fem.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NVCtr13Mas.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NVCtr19Mas.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NVCtr7Fem.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NVCtr8Fem.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NVCtr3Fem.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
Pacientes Turner	NV1_2_2.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NV19X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NV28X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NV29X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NV31X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NV34X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NV41X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NV52X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382
	NV102X0.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166
	NV111.CN5.CNCHP	2749, 36815, 105114, 112161, 59473, 36816, 105798, 65114, 106294, 37462, 7683, 82574, 95380, 106595, 31439, 106668, 103790, 1779, 33030, 38096, 1462, 107920, 3728, 1463, 1197, 1198, 112162, 1460, 1199, 1200, 1461, 1465, 95381, 1464, 112166, 82576, 82575, 95382, 7684

9q34.2		
Grupo	Muestra	DGV
Pacientes Turner	NV1_2_2.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	NV102X0.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	NV130.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	NV1_1_4.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	NV117.CN5.CNCHP	30338, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
AE monosomía del X	AE62.CN5.CNCHP	30338, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE67.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE70.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE71.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE77.CN5.CNCHP	30338, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE78.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312
	AE79.CN5.CNCHP	30338, 112541, 70818, 4659, 30337, 4660, 52739, 52740, 52741, 112544, 112543, 105850, 65547, 106605, 23892, 10312

14q32.33		
Grupo	Muestra	DGV
Controles	CtrlNV5Mas.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
	NVCtrl10Mas.CN5.CNCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091

NVctr11Fem.CN5.C NCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091
NVctr13Mas.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NVctr16Mas.CN5.CNC HP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NVctr19Mas.CN5.CNC HP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NVctr3Fem.CN5.CN CHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091
NVctr4Fem.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178

	NVctr8Fem.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
Pacientes Turner	NV115.CN5.CNCHP	29968, 23307, 66721, 38975, 7025, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72051, 72052, 72011, 72054, 72047, 22947, 72036, 113813, 87382, 35210, 49295, 72043, 107725, 72055, 105960, 23230, 105961, 72057, 72058, 87383, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
	NV132.CN5.CNCHP	29968, 23307, 66721, 38975, 7025, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72051, 72052, 72011, 72054, 72047, 22947, 72036, 113813, 87382, 35210, 49295, 72043, 107725, 72055, 105960, 23230, 105961, 72057, 72058, 87383, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091
	NV19X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72011, 22947, 72036, 113813, 35210, 49295, 107725, 105960, 23230, 72058, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091

NV1_2_2.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72011, 22947, 72036, 113813, 49295, 107725, 105960, 23230, 72058, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV10X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV28X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV41X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026

NV52X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861
NV31X0.CN5.CNCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV34X0.CN5.CNCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV29X0.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
NV102X0.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777

NV111.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412, 76778, 113816, 71999, 87425, 76780, 87424, 76779, 87423, 4858
NV117.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412, 76778, 113816, 71999, 87425, 76780, 87424, 76779, 87423, 4858, 9735, 53711, 10455, 9736, 10458, 53925, 53475, 53956, 9739, 10456, 53963, 49296, 49297, 49298, 10459, 53949, 72006, 72041, 72082, 87426
NV130.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412
NV60X0.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 113843, 107992, 35217, 0317, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 22950, 72028, 72040, 113846, 106379, 58652, 113839, 4853, 72002, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412, 76778, 113816, 71999, 87425, 76780, 87424, 76779, 87423, 4858, 9735, 53711, 10455, 9736, 10458, 53925, 53475, 53956, 9739, 10456, 53963, 49296, 49297, 49298, 10459, 53949, 72006, 72041, 72082, 87426, 9737, 49299, 76781, 9738, 53216, 53164, 10457, 4859, 87429, 76782, 87427, 87428, 10461, 10462, 9740, 53595, 72083, 53383, 72084, 0774, 2179, 53574, 53716, 4860, 61422, 72086, 53416, 53627, 53539, 72087, 76783, 76786, 76784, 87430, 76785, 87431, 53599, 72022, 87432

AE monosomía del X	AE11X0.CN5.CNCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091
	AE15X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72011, 72047, 22947, 72036, 113813, 87382, 35210, 49295, 72043, 107725, 72055, 105960, 23230, 105961, 72057, 72058, 87383, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233
	AE15X0.CN5.CNCHP	23307, 66721, 38975, 58649, 49294, 10460, 7026, 72036, 113813, 72060, 23242, 61421, 105962, 105963, 53852, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72063, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026
	AE62.CN5.CNCHP	23307, 66721, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 105962, 105963, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72009, 72027, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 105964, 113843, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838
	AE67.CN5.CNCHP	23307, 66721, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 105962, 105963, 35211, 72062, 35212, 35213, 35214, 72009, 72027, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 105964, 113843, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838

AE70.CN5.CNCHP	23307, 58649, 10460, 7026, 113813, 72060, 35211, 35212, 35213, 35214, 72009, 4850, 87393, 35215, 113828, 22946, 113843, 59723, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 76757, 1955, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007
AE71.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412, 76778, 113816, 71999, 87425, 76780, 87424, 76779, 87423, 4858, 9735, 53711, 10455, 9736, 10458, 53925, 53475, 53956, 9739, 10456, 53963, 49296, 49297, 49298, 10459, 53949, 72006, 72041, 72082, 87426, 9737, 49299, 76781, 9738, 53216, 53164, 10457, 4859, 87429, 76782, 87427, 87428, 10461, 10462, 9740, 53595, 72083, 53383, 72084, 0774, 2179, 53574, 53716, 4860, 61422, 72086, 53416, 53627, 53539, 72087, 76783, 76786, 76784, 87430, 76785, 87431, 53599, 72022, 87432
AE77.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224
AE78.CN5.CNCHP	29968, 23307, 66721, 38975, 7025, 58649, 49293, 10454, 49294, 10460, 7026, 72051, 72052, 72011, 72054, 72047, 22947, 72036, 113813, 87382, 35210, 49295, 72043, 107725, 72055, 105960, 23230, 105961, 72057, 72058, 87383, 72059, 72060, 23242, 76748, 87384, 61421, 37151, 87388, 105962, 87389, 76751, 76750, 87387, 105963, 53852, 35211, 72061, 72062, 113841, 35212, 35213, 35214, 72063, 72065, 72009, 72027, 4850, 87393, 87397, 87394, 76753, 87398, 72025, 76755, 87392, 35215, 113828, 22946, 105964, 76754, 76756, 87399, 72032, 87400, 87401, 113843, 72066, 59723, 107992, 37152, 0770, 2176, 0441, 35216, 72038, 76758, 87395, 35217, 72023, 23241, 72067, 76757, 1955, 4851, 0317, 87396, 76759, 4852, 0771, 35218, 35219, 66722, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 72024, 23229, 58650, 113837, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412

AE79.CN5.CNCHP	23307, 10460, 7026, 113813, 35212, 35213, 35214, 4850, 35215, 113843, 107992, 0770, 2176, 0441, 35216, 35217, 72023, 4851, 0317, 4852, 0771, 35218, 35219, 35220, 22954, 35221, 22950, 113840, 23229, 58650, 72068, 72001, 113818, 113830, 72018, 58651, 72045, 72031, 72028, 72040, 72069, 72070, 72064, 72048, 113823, 113844, 72016, 72050, 72013, 113832, 113845, 113846, 113834, 106378, 113835, 23196, 72020, 106379, 58652, 76760, 87402, 113847, 113839, 72005, 87404, 113848, 87405, 4853, 113849, 72004, 87403, 76761, 72002, 72073, 76762, 76763, 113850, 0772, 2177, 108091, 76767, 87408, 76768, 87407, 76764, 87406, 72015, 37623, 7027, 35222, 35223, 72000, 76769, 106905, 72075, 113851, 113852, 87410, 76766, 1956, 4854, 72026, 113814, 87409, 76765, 106170, 35224, 72076, 72033, 58653, 4855, 87420, 76773, 76774, 87415, 0773, 2178, 87417, 72077, 113854, 76772, 72029, 72035, 72030, 76775, 87414, 72007, 35225, 35226, 4856, 113817, 43896, 72014, 113822, 106906, 35227, 113838, 87421, 72078, 113857, 35228, 35229, 87419, 113829, 72012, 113833, 113815, 113858, 72019, 72017, 35230, 43897, 76770, 87413, 72046, 63123, 76771, 87411, 76776, 0182, 58654, 43898, 113821, 35231, 35232, 113859, 72034, 72079, 5771, 113860, 72049, 72044, 35233, 113861, 5322, 87418, 4857, 35234, 72010, 102035, 76777, 113836, 72037, 108102, 113862, 72081, 72008, 106381, 87416, 22914, 59724, 23308, 87412
----------------	---

17q25.3			
	Muestra	DGV	
Pacientes Turner	NV1_1_4. CN5.CNCHP	73071, 114506, 23534, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	NV115.CN 5.CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	NV130.CN 5.CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	NV132.CN 5.CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
AE monosomía del X	AE62.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	AE67.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	AE71.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	AE77.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	AE78.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250
	AE79.CN5. CNCHP	73071, 114506, 5036, 30031, 30032, 114508, 73060, 5883, 4048, 114511, 30855, 107007, 30033	hsa-mir-657, hsa-mir-3065, hsa-mir-338, hsa-mir-1250

21q11.2			
Grupo	Muestra	DGV	
Controles	CtrNV5Mas.C N5.CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
	NV Ctr11Fem. CN5.CNCHP	114977, 7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	

	NVctr13Mas. CN5.CNCHP	114977, 7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
	NVctr16Mas. CN5.CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 73590, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448	
	NVctr19Mas. CN5.CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
	NVctr8Fem.C N5.CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
Pacientes Turner	NV28X0.CN5. CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
	NV29X0.CN5. CNCHP	7328, 23321, 3224, 110453, 22952, 110126, 4109, 2253, 90681, 5156, 73600, 104479, 32434, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591	
	NV40X0.CN5.CNCHP	104477, 73595, 73591, 5151, 90675, 79299, 5152, 38955, 61950, 23185, 90679, 5153, 90674, 59899, 63072, 5154, 104478, 61951, 73596, 79298, 90676, 61952, 63147, 22898, 22892, 22896, 63074, 103033, 61953, 79300, 73598, 73599, 90680, 79297, 79301, 31051, 114976, 114977, 59054, 7328, 23321, 90677, 79302, 90678, 79303, 79304, 110131, 5155, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448	
	NV41X0.CN5.CNCHP	104477, 73595, 73591, 5151, 90675, 79299, 5152, 38955, 61950, 23185, 90679, 5153, 90674, 59899, 63072, 5154, 104478, 61951, 73596, 79298, 90676, 61952, 63147, 22898, 22892, 22896, 63074, 103033, 61953, 79300, 73598, 73599, 90680, 79297, 79301, 31051, 114976, 114977, 59054, 7328, 23321, 90677, 79302, 90678, 79303, 79304, 110131, 5155, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448	
	NV42X0.CN5.CNCHP	104477, 73595, 73591, 5151, 90675, 79299, 5152, 38955, 61950, 23185, 90679, 5153, 90674, 59899, 63072, 5154, 104478, 61951, 73596, 79298, 90676, 61952, 63147, 22898, 22892, 22896, 63074, 103033, 61953, 79300, 73598, 73599, 90680, 79297, 79301, 31051, 114976, 114977, 59054, 7328, 23321, 90677, 79302, 90678, 79303, 79304, 110131, 5155, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591, 1999, 8891, 31055, 73605, 90688, 90689, 90690, 73604, 104480, 0810, 2254, 9828, 31056, 32437, 39298, 106481, 90692, 79310, 90691, 67743, 2000	hsa-mir-3156-3

	NV52X0.CN5.CN CHP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591, 1999, 8891, 31055, 73605, 90688, 90689, 90690, 73604, 104480, 0810, 2254, 9828
	NV102X0.CN 5.CNCHP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601
	NV60X0.CN5. CNCHP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601
	NV115.CN5.CNCHP	104477, 73595, 73591, 5151, 90675, 79299, 5152, 38955, 61950, 23185, 90679, 5153, 90674, 59899, 63072, 5154, 104478, 61951, 73596, 79298, 90676, 61952, 63147, 22898, 22892, 22896, 63074, 103033, 61953, 79300, 73598, 73599, 90680, 79297, 79301, 31051, 114976, 114977, 59054, 7328, 23321, 90677, 79302, 90678, 79303, 79304, 110131, 5155, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601
	NV117.CN5.C NCHP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601
	NV132.CN5.CN5 HP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601, 79309, 61962, 73594, 107820, 73602, 73603, 63076, 8890, 34632, 9322, 22858, 3225, 32436, 104198, 38125, 1998, 38448, 4110, 50729, 50730, 10591, 1999
AE monosomía del X	AE62.CN5.CN CHP	114977, 7328, 23321, 32433, 67740, 3224, 110453, 22952, 1305, 1304, 1997, 73592, 110126, 73590, 114978, 4109, 2253, 90681, 5156, 73597, 73600, 104479, 31052, 32434, 61955, 73593, 59034, 110429, 114979, 79306, 90682, 79305, 23086, 103034, 22515, 110430, 31053, 35942, 22855, 23201, 107143, 110431, 110432, 90683, 79308, 90684, 61957, 90685, 110433, 61959, 90686, 90687, 61960, 32435, 79307, 73601

22q11.22		
Grupo	Muestra	DGV
Controles	NVctr10Mas.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829

Pacientes Turner	NVctr4Fem.CN5.CN CHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488	hsa-mir-650
	NV102X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115110, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 5174, 107825, 2266, 10610, 53875, 53748, 53720, 53708, 59061, 35996, 5175, 0334, 90927, 9835, 7334, 0545, 35997, 90931, 53426, 35998, 35999, 36000, 36001, 90932, 36002, 33945, 2267, 90935, 79474, 79475, 90933, 90934, 90936, 79476, 90937, 103138, 44063, 90938, 79479, 90943, 90944, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV132.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115110, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 5174, 107825, 10610, 53875, 53720, 53708, 59061, 35996, 5175, 0334, 9835, 53426, 90932, 2267, 90935, 79474, 79475, 90933, 90934, 90936, 79476, 90937, 103138, 44063, 90938, 79479, 90943, 90944, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV111.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 107825, 10610, 53875, 53720, 53708, 59061, 35996, 5175, 0334, 53426, 2267, 90943, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV29X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 107825, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 5175, 0334, 53426, 2267, 90943, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV31X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 107825, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 5175, 0334, 53426, 2267, 90943, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088	hsa-mir-650

NV34X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488	hsa-mir-650
NV1_2_2.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
NV60X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
NV28X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488	hsa-mir-650
NV130.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
NV115.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650

	NV41X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV52X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV40X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 10611, 53983, 35989, 2019, 10610, 53720, 59061, 35996, 0334, 53426, 2267, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV42X0.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 5451, 115079, 53983, 35989, 2019, 10610, 53720, 59061, 35996, 0334, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 10608, 53628, 9840, 53985, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
	NV117.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 5451, 115079, 53983, 35989, 2019, 10610, 53720, 59061, 35996, 0334, 5176, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 10608, 53628, 9840, 53985, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
AE monosomía del X	AE11X0.CN5.CNCHP	34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 115079, 53983, 35989, 2019, 10610, 53720, 59061, 35996, 0334, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 10608, 53628, 9840, 53985, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008	hsa-mir-650
	AE56.CN5.CNCHP	34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 115079, 53983, 35989, 2019, 10610, 53720, 59061, 35996, 0334, 107826, 53477, 53928, 36003, 53642, 36004, 36005, 10608, 53628, 9840, 53985, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650

AE79.CN5.CNCHP	5356, 34540, 35986, 35987, 67849, 53883, 10613, 53738, 5451, 115079, 53728, 10611, 53983, 35989, 2019, 107825, 10610, 53875, 53720, 59061, 35996, 5175, 0334, 53426, 2267, 90943, 5176, 9837, 79480, 90946, 90945, 107826, 79481, 53477, 53928, 9838, 36003, 44064, 53642, 36004, 36005, 50823, 50824, 10607, 50825, 53944, 53419, 10608, 43693, 23325, 10606, 53456, 10617, 53764, 53628, 9840, 53985, 10612, 50826, 0818, 2268, 50827, 5177, 63158, 44065, 61993, 9841, 9839, 10618, 53824, 23326, 9842, 10619, 53745, 0546, 36006, 107605, 104514, 115080, 115102, 36007, 115094, 7335, 115112, 115087, 115113, 115081, 115093, 115116, 9843, 10620, 53902, 5178, 79483, 90949, 79484, 90948, 115084, 115118, 79487, 115082, 79488, 53718, 115088, 115124, 48008, 115106, 53362, 115126, 115089, 59062, 115129, 59063, 115085, 36008, 115107, 79489, 115083, 36009, 115132, 90950, 106490, 79486, 115109, 106238, 115133, 90951, 79490, 90952, 90953, 79491, 90954, 79485, 79493, 0547, 36010, 50828, 50829	hsa-mir-650
----------------	--	-------------

9.6 Anexo 6. Análisis estadístico de las regiones CNV identificadas en los tres grupos de estudio.

Empleando una prueba de Wruskal Wallis y T que consideró un valor de $p < 0.05$ se compararon los tres grupos entre si con cada region que mostró diferencias en las CNV identificadas en los microarreglos utilizando el programa SPSS.

8p11.22

Estadísticos de grupo

	GRUPO8	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO COPIAS	CTR	10	1,40	,516	,163
	AEX0	10	2,00	,000	,000

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO COPIASCN	Se han asumido varianzas iguales	216,000	,000	-3,674	18	,002
	No se han asumido varianzas iguales			-3,674	9,000	,005

```
SAVE OUTFILE='!Users/silviasanchez/Documentos/EstadisticaX08p11.22.sav'
/COMPRESSED.
T-TEST GROUPS=GRUPO9(1 2)
/MISSING=ANALYSIS
/VARIABLES=CN9
/CRITERIA=CI(.95).
```

9q34.2

Estadísticos de grupo

GRUPO9	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS CTR	10	2,00	,000	,000
NVX0	20	2,30	,571	,128

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	17,581	,000	-1,646	28	,111
No se han asumido varianzas iguales			-2,349	19,000	,030

Prueba de muestras independientes

	Prueba T para la igualdad de medias			
	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	-,300	,182	-,673	,073
No se han asumido varianzas iguales	-,300	,128	-,567	-,033

T-TEST GROUPS=GRUPO9(1 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN9
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

	GRUPO9	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS	CTR	10	2,00	,000	,000
	AEX0	10	2,80	,632	,200

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,800	,200	-1,220	-,380
	No se han asumido varianzas iguales	-,800	,200	-1,252	-,348

T-TEST GROUPS=GRUPO14(1 2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN14
 /CRITERIA=CI(.95).

14q32.33

No significativa.

17q25.3

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE	NVX0	20	3,05	,686	,153
COPIAS	AEX0	10	3,60	,516	,163

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,001	,975	-2,230	28	,034
	No se han asumido varianzas iguales			-2,454	23,307	,022

/COMPRESSED.
T-TEST GROUPS=GRUPO17(1 2)
/MISSING=ANALYSIS
/VARIABLES=CN17
/CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO17		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE	CTR	10	2,00	,000	,000
COPIAS	NVX0	20	2,25	,550	,123

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	11,712	,002	-1,424	28	,165
	No se han asumido varianzas iguales			-2,032	19,000	,056

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,250	,176	-,610	,110
	No se han asumido varianzas iguales	-,250	,123	-,507	,007

T-TEST GROUPS=GRUPO17(1 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN17
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS	CTR	10	2,00	,000	,000
	AEX0	10	2,60	,516	,163

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	216,000	,000	-3,674	18	,002
	No se han asumido varianzas iguales			-3,674	9,000	,005

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,600	,163	-,943	-,257
	No se han asumido varianzas iguales	-,600	,163	-,969	-,231

T-TEST GROUPS=GRUPO17(2 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN17
 /CRITERIA=CI(.95).

21q11.22

Estadísticos de grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS	NVX0	20	2,25	,550	,123
	AEX0	10	2,60	,516	,163

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,451	,507	-1,675	28	,105
	No se han asumido varianzas iguales			-1,712	19,186	,103

T-TEST GROUPS=GRUPO21(1 2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN21
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO21		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS	CTR	10	2,60	,516	,163
	NVX0	20	2,55	,510	,114

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,350	,209	-,778	,078
	No se han asumido varianzas iguales	-,350	,204	-,778	,078

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,289	,595	,252	28	,803
	No se han asumido varianzas iguales			,251	17,915	,805

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,050	,198	-,356	,456
	No se han asumido varianzas iguales	,050	,199	-,369	,469

T-TEST GROUPS=GRUPO21(1 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN21
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO21	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS CTR	10	2,60	,516	,163
AEX0	10	2,10	,316	,100

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	12,054	,003	2,611	18	,018
No se han asumido varianzas iguales			2,611	14,918	,020

Prueba de muestras independientes

	Prueba T para la igualdad de medias			
	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	,500	,191	,098	,902
No se han asumido varianzas iguales	,500	,191	,092	,908

T-TEST GROUPS=GRUPO21(2 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN21
 /CRITERIA=CI(.95).

22q11.22

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO21		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS	NVX0	20	2,55	,510	,114
	AEX0	10	2,10	,316	,100

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	29,612	,000	2,542	28	,017
	No se han asumido varianzas iguales			2,966	26,455	,006

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,450	,177	,087	,813
	No se han asumido varianzas iguales	,450	,152	,138	,762

T-TEST GROUPS=GRUPO22(1 2)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN22
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO22		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE	CTR	10	2,20	,422	,133
COPIAS	NVX0	20	2,85	,366	,082

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,432	,516	-4,359	28	,000
	No se han asumido varianzas iguales			-4,154	15,997	,001

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,650	,149	-,955	-,345
	No se han asumido varianzas iguales	-,650	,156	-,982	-,318

T-TEST GROUPS=GRUPO22(1 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN22
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

	GRUPO22	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE	CTR	10	2,20	,422	,133
COPIAS	AEX0	10	3,00	,471	,149

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	,596	,450	-4,000	18	,001
	No se han asumido varianzas iguales			-4,000	17,780	,001

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
				Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS	Se han asumido varianzas iguales	-,800	,200	-1,220	-,380
	No se han asumido varianzas iguales	-,800	,200	-1,221	-,379

T-TEST GROUPS=GRUPO22(2 3)
 /MISSING=ANALYSIS
 /VARIABLES=CN22
 /CRITERIA=CI(.95).

Prueba T

Estadísticos de grupo

GRUPO22	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
NUMERO DE COPIAS NVX0	20	2,85	,366	,082
AEX0	10	3,00	,471	,149

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	,198	,660	-,961	28	,345
No se han asumido varianzas iguales			-,882	14,625	,392

Prueba de muestras independientes

	Prueba T para la igualdad de medias			
	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	Superior
NUMERO DE COPIAS Se han asumido varianzas iguales	-,150	,156	-,470	,170
No se han asumido varianzas iguales	-,150	,170	-,513	,213