



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estudio bioinformático de la compensación de dosis de los cromosomas sexuales en *Macaca mulatta* y *Homo sapiens* desde el desarrollo embrionario hasta la adultez

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L Ó G A
P R E S E N T A:
TANIA ABIGAIL FLORES VILLEDA**

**DIRECTOR
DR. DIEGO CLAUDIO CORTEZ QUEZADA
CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS UNAM**



CUERNAVACA, MORELOS

SEPTIEMBRE, 2023



“Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes.”

James Watson

**A mis papás, hermana, abuelos.
Y Salem.**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia principalmente por apoyarme en todo momento hasta ahora, por permitirme vivir el sueño que tenía desde pequeña de estudiar biología y ser bióloga. A pesar de las dificultades derivadas de la pandemia.

A mi director de tesis el Dr. Diego Claudio Cortez Quezada por haberme abierto las puertas de su laboratorio y la confianza, por la inspiración para poder abordar mi tema de tesis y explicarme con paciencia y sabiduría lo necesario.

A mi comité sinodal M. en C. María Luisa Barroso García, Dra. Alejandra Vázquez-Lobo Yuren, Biol. Alicia Quevedo Maldonado y el Dr. Dante Avilés Montes por haberme hecho los comentarios necesarios para mejorar mi trabajo de investigación, siempre inspirarme con su conocimiento y tener la mejor disponibilidad para conocer sobre mi tema de tesis y hacerme preguntas muy interesantes sobre mi tema.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y a la Facultad de Ciencias Biológicas por haberme formado como profesional y permitirme desarrollar académicamente, así como todos los docentes comprometidos con su profesión los cuáles compartieron sus conocimientos y experiencias de vida y a su vez siempre me inspiraron a dar lo mejor de mí. Agradezco igualmente a la Universidad Nacional Autónoma de México y el Centro de Ciencias Genómicas por permitirme realizar mi proyecto de investigación en las instalaciones del Laboratorio de Biología de Sistemas y Biología Sintética.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Gracias a mis amigos con los que crecí en esta etapa universitaria y compartimos muy buenos momentos, sobre todo en las salidas de campo. A mis compañeros de laboratorio Maye, Andy, Bruno, Armando, Juan y Fanny.

A Rodolfo Martínez quién me apoyó siempre que tenía alguna duda principalmente en bioquímica, siempre me brindó un buen consejo.

A Salem, mi compañero desde preparatoria. Siempre me brindo su amor y protección mientras realizaba mis tareas o proyectos y quien me inspiro a concluir mi tesis a pesar de su perdida en este plano terrenal en la última fase de esta tesis.

A mi papá y mamá, quienes siempre me ayudaron cuando lo necesitaba y siempre me han brindado amor y dedicación. Gracias a ellos he culminado esta etapa de mi vida.

A mi hermana Valeria, quién siempre ha sido mi compañera de vida en estos años y siempre me ha brindado buenos consejos y sabiduría.

A mis abuelas Eustolia y Andrea, quienes me hubiera gustado que presenciaran este momento de mi vida, siempre las llevo en mi corazón.

A mis abuelos paternos, quienes son parte de mi linaje.

A Ronny, Tommy, Deku, Tammy y mi compañera Nessie quien me brinda su amor y compañía al igual que Roger quien se adelantó en este plano.

RESUMEN

Los cromosomas sexuales X & Y se originaron en mamíferos euterios (marsupiales y mamíferos placentarios) a partir de un par de autosomas, hace 180 millones de años (MA) aproximadamente. El cromosoma Y en machos sufre un proceso conocido como degeneración del cromosoma Y, donde pierde la mayor parte de sus genes ancestrales a lo largo de cinco estratos evolutivos, la pérdida de genes se ha mantenido estable desde hace aproximadamente entre 27-35 MA dejando así 3% de genes ancestrales los cuáles poseen funciones reguladoras específicas para los machos como la espermatogénesis y el desarrollo de las gónadas sexuales. Para equilibrar la dosis de genes entre machos y hembras ocurre un mecanismo de compensación de dosis de los cromosomas sexuales, en el caso de humanos y macacos se lleva a cabo la inactivación de uno de los dos cromosomas X en hembras para así equilibrar la dosis de genes entre machos y hembras, sin embargo, alrededor de 15% de genes ligados a X escapan de la inactivación en cierto grado y la proporción de escape difiere entre diferentes regiones del cromosoma X y 10% de genes adicional muestra patrones variables de inactivación y se expresan en diferentes grados de algunos cromosomas inactivos, lo que sugiere una heterogeneidad de expresión entre hembras. Este mecanismo ocurre para equilibrar aquellos genes homólogos a X presentes en el cromosoma Y, por ello en el trabajo presente se determina los patrones de expresión entre diferentes individuos de siete diferentes tejidos de machos y hembras desde el desarrollo embrionario hasta la adultez.

ABSTRACT

The X & Y sex chromosomes originated in eutherian mammals (marsupials and placental mammals) from a pair of autosomes, approximately 180 million years ago (MY). The Y chromosome in males undergoes a process known as Y chromosome degeneration, where it loses most of its ancestral genes throughout five evolutive stratum, the loss of genes has been stable for approximately between 27-35 MY ago leaving 3% of ancestral genes which have specific regulatory functions for males such as spermatogenesis and the development of sexual gonads. To balance the gene dosage between males and females a sex chromosome dosage compensation mechanism occurs, in the case of humans and macaques inactivation of one of the two X chromosomes is carried out in females to balance the gene dosage between males and females, however, about 15% of X linked genes chromosome escape inactivation to some degree and the proportion of escape differs between different regions of the X chromosome and an even 10% additional genes show variable patterns of inactivation and are expressed to different degrees on some inactivated chromosomes, suggesting heterogeneity of expression between females. This mechanism occurs for balance those X-homologous genes present on the Y chromosome, thus in the present work we determine the expression patterns among different individuals from seven different tissues of males and females from embryonic development to adulthood.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Historia evolutiva de los cromosomas sexuales	3
2.2 Degeneración del cromosoma Y	3
2.2.1 Fuerzas evolutivas que operan en el cromosoma Y	4
2.2.2 Evolución del cromosoma Y	4
2.2.3 Comparación del cromosoma Y entre humano y macaco rhesus	6
2.2.4 El futuro del cromosoma Y	7
2.2.5 El futuro del cromosoma Y en primates	8
2.3 Pérdida de genes en el cromosoma Y	8
2.4 Compensación de dosis de los cromosomas sexuales	10
2.5 Inactivación del cromosoma X	11
2.5.1 Genes que escapan de la inactivación	14
2.6 Funciones reguladoras de genes en los cromosomas X-Y	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	17
5.OBJETIVO GENERAL	18
5.1 Objetivos particulares	18
6. METODOLOGÍA	19
6.1 Generación de la base de datos	19
6.1.1 Eliminación de adaptadores y bases de mala calidad	19
6.1.2 Cuantificación de RNA-seq	20
6.1.3 Suma de la expresión de los genes	20
6.1.4 Análisis estadístico	21
6.1.5 Normalización de datos	22
6.2 Pruebas estadísticas	22
6.2.1 Prueba de Shapiro-Wilk	22
6.2.2 Prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney	22
7.RESULTADOS	24
7.1 Resultados de <i>M. mulatta</i>	24
7.1.2 Boxplots con datos no normalizados de <i>M. mulatta</i>	24
7.1.3 Resultado de prueba Shapiro-Wilk de <i>M. mulatta</i>	27
7.1.4 Interpretación prueba Shapiro-Wilk de <i>M. mulatta</i>	27
7.1.5 Resultados de prueba Wilcoxon-Mann-Whitney	28
	31

7.1.6 Comparación entre los diferentes patrones de expresión de los cromosomas sexuales de macaco hembra y macho.	32
7.1.7 Resultado de prueba Wilcoxon-Mann-Whitney del cromosoma X entre maco hembra y macho.	34
7.1.8 Expresión diferencial de <i>M. mulatta</i>	
7.2 Resultados de <i>H. sapiens</i>	40
7.2.1 Boxplots con datos no normalizados de humano	40
7.2.2 Boxplots con datos normalizados de humano	42
7.2.3 Lineplots con datos normalizados de humano	46
7.2.4 Expresión diferencial de <i>H. Sapiens</i>	50
8. DISCUSIÓN	63
9. CONCLUSIONES	64
10. PERSPECTIVAS	64
ANEXO	
REFERENCIAS	

1. INTRODUCCIÓN

La genética es el estudio de los genes a cualquier nivel, desde las moléculas hasta las poblaciones. Comenzó en la década de 1860 con los trabajos de Gregory Mendel, quien fue el primero en proponer la existencia de los genes. Un gen es un tramo funcional del ADN que constituye la estructura fundamental de un cromosoma. El ADN está compuesto por cuatro nucleótidos, cada nucleótido formado por un azúcar desoxirribosa, un fosfato y una de las cuatro bases: guanina, citosina, timina y adenina. El ADN se conforma por dos cadenas de nucleótidos antiparalelas entrelazadas que se mantienen unidas mediante enlaces de adenina con timina y guanina con citosina. La mayoría de los genes codifican para una proteína, las cuales son las principales responsables de las propiedades de un organismo (Paz-Y-Miño & López-Cortés, 2014).

Descubiertos por Nageli en 1842, y acuñado el término de “cromosoma” por Waldenyer en 1888 haciendo referencia a un cuerpo coloreado, los cromosomas son el material hereditario organizado en eucariontes. Los cromosomas pueden tener complejas interacciones con proteínas y diversos cambios químicos en el medio nuclear, cumplen las funciones de conservar, transmitir y expresar información hereditaria. En 1956, Tjio y Levan determinan el número de cromosomas en el humano, que es 46, de los cuales hay 22 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales (Paz-Y-Miño & López-Cortés, 2014). Cada cromosoma consta de dos cromátidas hermanas iguales y a su vez cada cromátida posee una única molécula de ADN. La molécula de ADN es flexible y puede curvarse, lo que le permite el empaquetamiento dentro de los cromosomas.

El proyecto del genoma humano inició en 1990 en E.U., con el objetivo de descifrar la secuencia total de bases del ADN humano (en total 3,000 millones de bases) distribuida en los 23 pares de cromosomas (Solari, 2004), siendo el cromosoma 21 el más pequeño con aproximadamente 46.709 Mb y 236 genes, mientras que el más grande es el cromosoma 1 con 248.956 Mb y 2,056 genes (Ensembl, 2021). Este proyecto, el más grande en la historia de la biología, impulsó las tecnologías de secuenciación y con los datos de secuenciación se desarrollaron métodos informáticos especializados para el manejo de esta información y esto desembocó en el establecimiento de una nueva disciplina: la bioinformática (Solari, 2004).

La bioinformática es una herramienta importante e innovadora que apareció en la última década para estudiar al material genético y genómico utilizando herramientas de análisis de texto; ciencia multidisciplinaria e interdisciplinaria, con sólidos fundamentos en las ciencias básicas como las matemáticas, la biología, la física y la química, así como la biología molecular, el funcionamiento básico de los dispositivos aplicados en informática y la computación aplicada a la biología de sistemas. La bioinformática se originó a partir del objetivo de comprender los códigos escondidos dentro de las secuencias del ADN y las proteínas. Dichos análisis sentaron las bases de la bioinformática estructural, mientras que la bioinformática clásica se enfoca en el desarrollo de procesos informáticos para modelar y simular sistemas biológicos, como el desarrollo y aplicación de algoritmos orientados al análisis de datos sobre el desarrollo, la reproducción, la evolución, la selección y la adaptación, entre otros. La bioinformática ha permitido integrar la tecnología, la biología y la computación para el desarrollo de programas útiles en alineamientos múltiples de secuencias, diseño de árboles filogenéticos, análisis tridimensional de moléculas, así como analizar secuencias de ADN y de proteínas, utilizando distintos tipos de algoritmos que permiten comparar secuencias y predecir la estructura de genes. La bioinformática tiene como principal objetivo el manejo y análisis de grandes volúmenes de datos, principalmente producto de las nuevas tecnologías en biología molecular, como la genómica, la proteómica y la metabolómica. Gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación de ácidos nucleicos se están revolucionando la forma en cómo se estudian los genomas (Riaño *et al.*, 2010).

En el presente trabajo se realizará un estudio bioinformático tomando como modelo de estudio dos especies del orden primates. *Macaca mulatta*, descrita por Zimmermann en el año de 1780 perteneciente a la familia Cercopithecidae, con una distribución principalmente en Asia y tiempo de gestación entre 135 y 194 días, alcanzando la madurez sexual entre los dos o tres años en el caso de los machos mientras que en el de las hembras dos y medio a cuatro años (Álvarez-Romero y Medellín, 2005); y el *Homo sapiens*, de la familia Hominidae, con un tiempo de gestación de aproximadamente 40 semanas (Valdés *et al.*, 2010), y en el caso del sexo femenino una madurez sexual promedio de 13 años, mientras que en el sexo masculino es de 14 años (Hawkes *et al.*, 2009).

2. ANTECEDENTES

2.1 Historia evolutiva de los cromosomas sexuales

Los cromosomas sexuales X y Y se originaron en mamíferos euterios (marsupiales y mamíferos placentarios) a partir de un par de autosomas, justo antes de la división euterio-marsupial hace 180 millones de años (MA) aproximadamente; los cromosomas sexuales de humanos y otros terios surgieron después de la división teria-monotrema (Cortez *et al.* 2014). A partir de su origen, los cromosomas X y Y han evolucionado de forma independiente (Lahn, 1999).

2.2 Degeneración del cromosoma Y

Los cromosomas Y de humanos y algunas otras especies sufren un proceso conocido como degeneración del cromosoma Y, donde este cromosoma pierde la mayor parte de sus genes ancestrales a lo largo del tiempo y la mayoría de los genes restantes poseen funciones específicas para los machos (Bachtrog *et al.*, 2011) como la espermatogénesis o el desarrollo (Cortez *et al.* 2014). Este proceso ha sugerido la hipótesis que, la pérdida continua de genes podría conducir a la eventual desaparición del cromosoma Y en mamíferos (Sykes, 2004). Dos características importantes que distinguen al cromosoma Y del resto del genoma son: una falta de recombinación en alguna parte o en su longitud total como consecuencia de la selección natural y la limitada transmisión del segmento no recombinante (Rice, 1984). También se espera que el cromosoma Y acumule mutaciones deletéreas e incorpore menos mutaciones beneficiosas, en este caso se transmiten de padres a hijos y están protegidas de la contra-selección en mujeres si son antagónicas. De acuerdo con esta teoría se esperan niveles bajos de adaptación (Bachtrog y Charlesworth, 2002).

2.2.1 Fuerzas evolutivas que operan en el cromosoma Y

Estudios recientes han mostrado que hay fuerzas evolutivas específicas que operan en el cromosoma Y, revelando algunos de los mecanismos evolutivos por los que se inicia su diferenciación o se determina su supervivencia, sobre todo para el caso de los humanos. Los cromosomas Y antiguos suelen ser heterocromáticos. Hasta la fecha sólo tres especies de primates (humano, chimpancé y macaco Rhesus) poseen su cromosoma Y completamente secuenciado. En humanos, este cromosoma presenta su parte eucromática de 23 Mb y 78 genes que codifican a proteínas; comparándolo con el X, el cual es de 150 Mb y 800 genes (Bachtrog, 2013). Los cromosomas Y contienen una gran fracción de ADN repetitivo y heterocromático (Burgoyne, 1998). La secuenciación del cromosoma Y humano tomó una década de trabajo y ha revelado grandes regiones de amplicones (genes duplicados) que contienen genes que pertenecen a diferentes familias que residen en palíndromos. Se piensa que la recombinación al interior de los palíndromos pudo haber ayudado a la conservación del cromosoma sexual por el proceso de conversión génica (Rozen *et al.*, 2003).

2.2.2 Evolución del cromosoma Y

El primer paso en la evolución del cromosoma Y en euterios fue la aparición, en un par de autosomas, de un gen regulador maestro de la vía de desarrollo del testículo. La aparición del gen *SRY* dio paso a que la pareja de autosomas se convirtieran en proto-cromosomas sexuales. Posteriormente, tras la adquisición del gen determinante de machos (*SRY*), la recombinación entre los cromosomas proto-sexuales se suprimió, lo que permitió que el cromosoma Y evolucionara de manera independiente de su homólogo X (Bachtrog, 2013) y mantuviera al gen *SRY* sólo en machos. La evidencia en mamíferos sugiere que la eliminación de la recombinación pudo lograrse mediante inversiones cromosómicas en los cromosomas proto-sexuales (Kirkpatrick, 2010). Las inversiones suprimen localmente la recombinación en heterocigotos. Así, la inversión en uno de los cromosomas proto-sexuales pudo suprimir la recombinación entre el proto-X y el proto-Y en machos. La supresión de la recombinación puede suceder de manera gradual, en diferentes pasos a lo largo de los cromosomas proto-sexuales. En el caso de los humanos, la comparación entre los genes localizados en los cromosomas X y Y (gametólogos) reveló que los pares de genes X-Y

muestran distintos niveles de divergencia a nivel de su secuencia de nucleótidos, lo que implica que el cromosoma Y dejó de recombinarse con el cromosoma X a través varios pasos sucesivos. Las regiones a lo largo de los cromosomas sexuales que dejaron de recombinar en distintos tiempos se conocen como estratos evolutivos, en humanos el estrato uno es el más antiguo y data de 180 MA y posee el gen *SRY* (*sex-determining region Y*), que puede desencadenar la diferenciación del testículo; el estrato más reciente, es el número cinco que se originó hace >40 MA (Cortez *et al.* 2014).

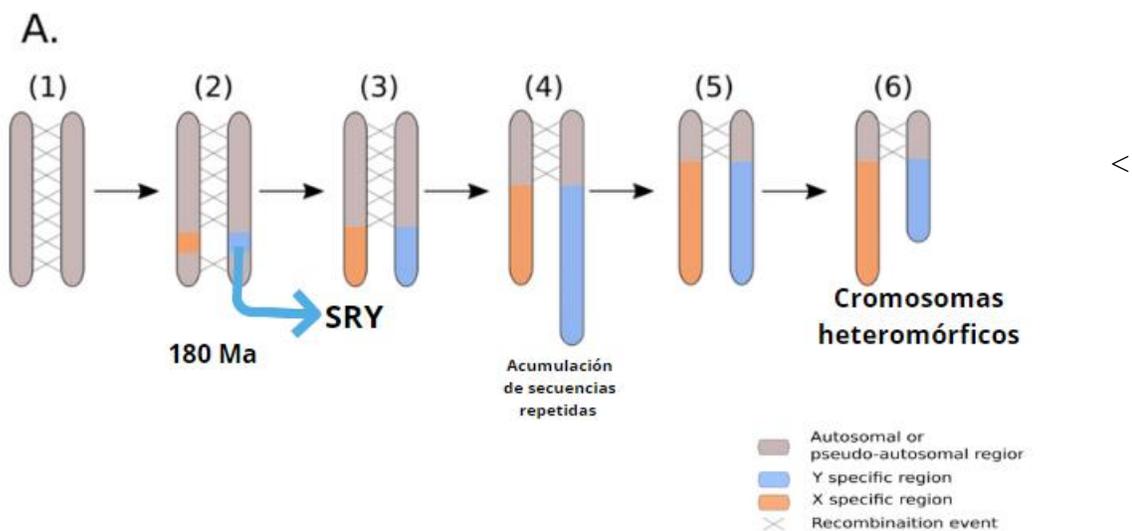


Figura 1. Se muestra la serie de eventos de recombinación que ocurrieron a lo largo de los estratos evolutivos. Editado de Prentout *et al.* (2021).

Se ha observado que los genes que se mantienen en los cromosomas Y tienden a aumentar la adecuación masculina. Lo que significa que la pérdida masiva de genes que siguió al origen de los cromosomas sexuales no incluyó aquellos genes ligados al Y que se especializan en funciones benéficas para los machos (Bachtrog, 2013).

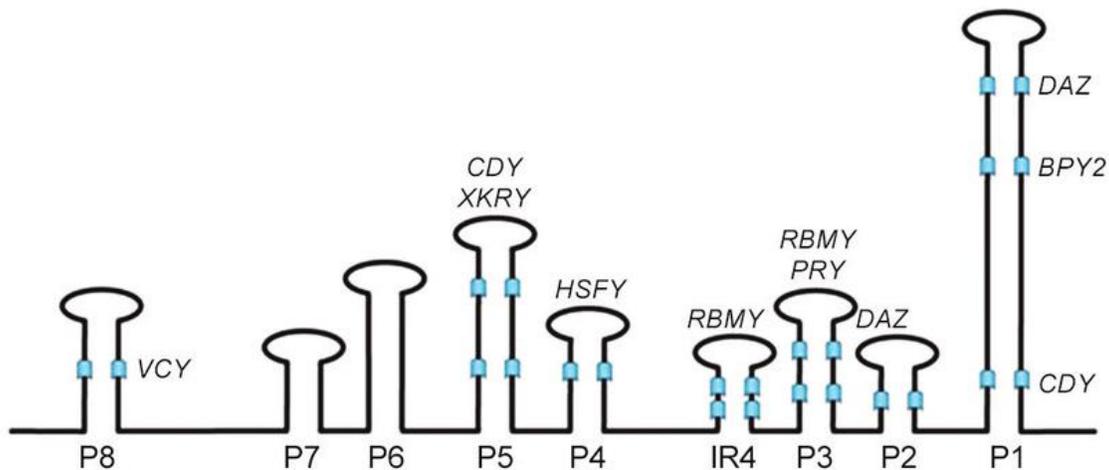


Figura 2. Se muestran palíndromos del cromosoma Y en humano. Extraído de Bachtrog, 2013.

2.2.3 Comparación del cromosoma Y entre humano y macaco rhesus

Comparando los cromosomas Y del macaco Rhesus y el humano, ambos indican la adquisición y amplificación reciente de genes específicos de testículo, y ambos comparten un contenido de genes ancestrales idéntico, lo que sugiere que el contenido del cromosoma Y en primates se ha conservado por 40 millones de años. Por otro lado, el cromosoma Y en el macaco Rhesus prácticamente no posee heterocromatina aparte del centrómero, y el segmento eucromático del *MSY* (región específica del macho en el cromosoma Y), es dramáticamente más pequeño en comparación a humanos y chimpancés, mientras que la *PAR* (región pseudoautosomal única) en rhesus Rhesus corresponde al PAR de brazo corto en humanos. El límite entre *PAR* y *MSY* en ambas especies es idéntico, confirmando que la estratificación en los dos linajes tanto el de

humanos como el de macaco Rhesus se fijó antes de la divergencia entre simios y monos del antiguo mundo (Hughes *et al.*, 2012).

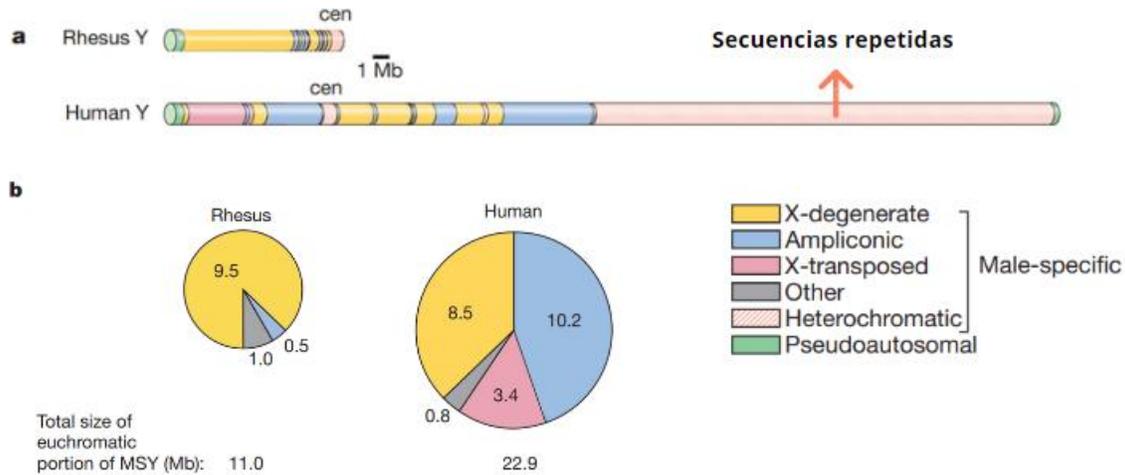


Figura 3. Comparación del cromosoma Y entre humano y macaco. Editado de Hughes *et al.* (2012).

2.2.4 El futuro del cromosoma Y

Las fuerzas evolutivas que impulsan la pérdida de genes en un cromosoma no-recombinante están bien comprendidas. Estudios teóricos y de simulación recientes modelan estas fuerzas evolutivas en poblaciones e investigan su dinámica temporal durante su evolución. Estos trabajos han determinado que la tasa de degeneración genética disminuye a lo largo del tiempo, dejando un cromosoma Y pobre en genes. La razón detrás de la disminución en la tasa de pérdida de genes se debe a que los cromosomas Y antiguos poseen cada vez menos genes activos, y la presencia de menos loci funcionales implica que la cantidad de mutaciones beneficiosas y perjudiciales también se reduce proporcionalmente (Engelstaedter, 2008).

2.2.5 El futuro del cromosoma Y en primates

Estudios genómicos comparativos en primates proporcionan evidencia empírica que no apoya la eventual desaparición del cromosoma Y en humanos. Datos genómicos recientes han mostrado que el contenido genético en el cromosoma Y humano ha permanecido estable durante 40 MA y que el último ancestro en común ya había alcanzado un número de genes en equilibrio (Hughes *et al.*, 2012). En cambio, si el cromosoma Y estuviera regido por una tasa lineal de pérdida de material genético, entonces los humanos y los macacos mostrarían poca coincidencia de genes en sus cromosomas Y, ya que habrían seguido perdiendo genes de manera independiente desde su separación. En algunas especies, como la mayoría de los nematodos, el cromosoma Y ha desaparecido completamente. Esto llegó a suceder porque existen mecanismos alternativos de determinación del sexo y las funciones de fertilidad masculina han pasado a otros cromosomas (Bachtrog, 2013).

2.3 Pérdida de genes en el cromosoma Y

Solo el 3% de los genes ancestrales se mantuvieron en el cromosoma Y (Hughes *et al.*, 2015). La degeneración del cromosoma Y inicialmente fue rápida, pero se ha frenado en los últimos 40 MA, dejando al 3% de los genes ancestrales estables (Bellot *et al.*, 2014), equivalentes a 36 genes y que forman un conjunto especializado que funcionan como reguladores de genes en múltiples niveles: modificación de cromatina, transcripción, empalme, traducción y degradación de proteínas. Los genes que se seleccionaron en el Y, y sus homólogos ligados a X, son más sensibles a la dosis que el resto de los genes ancestrales del cromosoma X, lo que implica la influencia de la presión selectiva para retener dos copias de estos genes en ambos sexos. Hace 97 MA, el cromosoma Y del ancestro común de los mamíferos placentarios portaba 18 genes ancestrales del estrato 1 y del estrato 2/3, de los cuales 8 no se han perdido y son: *SRY*, *RBM1Y*, *TSPY*, *DDX3Y*, *USP9Y*, *UTY* y *ZFY* en todos los mamíferos placentarios (Martínez-Pacheco *et al.*, 2020). Los genes especializados para la reproducción masculina evitaron la descomposición genética a través de la conversión de genes intracromosómicos entre los miembros de una familia de genes de múltiples

copias ligados a Y. Los cromosomas humanos Y obtuvieron una especialización para la reproducción masculina, adquiriendo genes que no estaban presentes en los autosomas ancestrales (Bellot *et al.*, 2014).

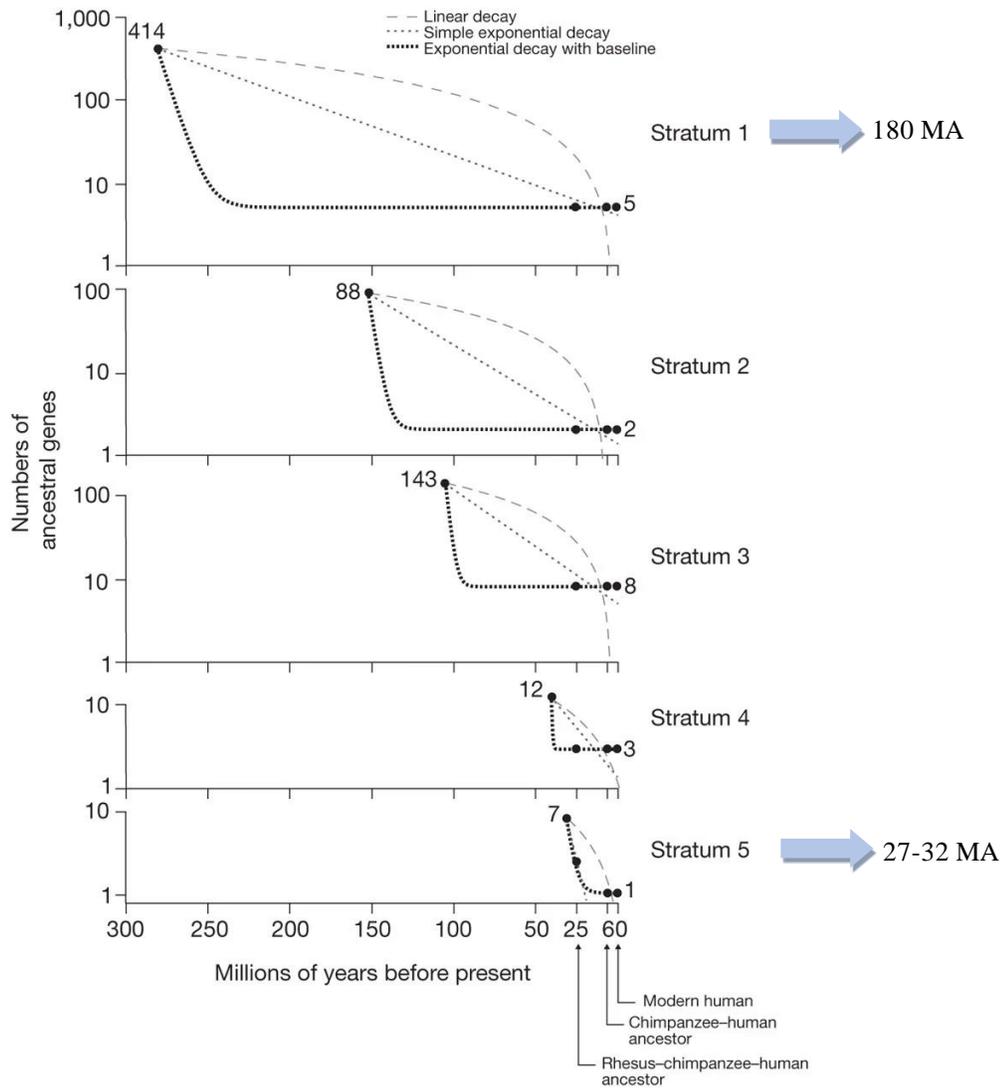


Figura 4. Se observa la pérdida de genes ancestrales en la región específica del cromosoma Y en machos, durante la evolución de los 5 estratos evolutivos. Editado de Hughes *et al.* (2012).

2.4 Compensación de dosis de los cromosomas sexuales

El cromosoma X es único en el genoma de los mamíferos porque está presente en una copia en los machos y dos copias en las hembras, mientras que cada autosoma está presente en dos copias en las células diploides. La divergencia entre los cromosomas sexuales y la pérdida de genes del cromosoma Y conducen a la monosomía del cromosoma X en los machos (Nguyen y Disteche, 2005). La mayoría de los genes del cromosoma Y se perdieron debido a la degeneración de este cromosoma por la falta de recombinación, y el cromosoma X desarrolló mecanismos para compensar la falta de dosis genética derivada de la pérdida de genes ligados a Y en que estaban compartidos con el cromosoma X (Bellot *et al.*, 2014). La compensación de dosis es el proceso mediante el cual los niveles de expresión de genes ligados al sexo se alteran en un sexo para compensar una diferencia en el número de cromosomas sexuales entre hembras y machos de una especie heterogamética (Marín *et al.*, 2000). La inactivación del X en las hembras es la forma clásica de compensación de dosis que iguala la expresión génica entre los sexos (Nguyen y Disteche, 2005).

Las células somáticas de las mujeres adultas en el caso de los humanos poseen dos cromosomas X, sin embargo, la mayoría de los genes en uno de sus dos cromosomas X están silenciados a nivel transcripcional, así es como la dosis del cromosoma X en las células XX femeninas es igual a las células XY masculinas. Poco se conoce aún ya que no se conoce aún en qué momento exacto sucede, pero el silenciamiento puede ser heredado por vía materna o paterna lo que deriva en una mujer adulta con mosaicismo natural, este proceso además se establece en la embriogénesis temprana (Sahakyan, A. *et al.*, 2017).

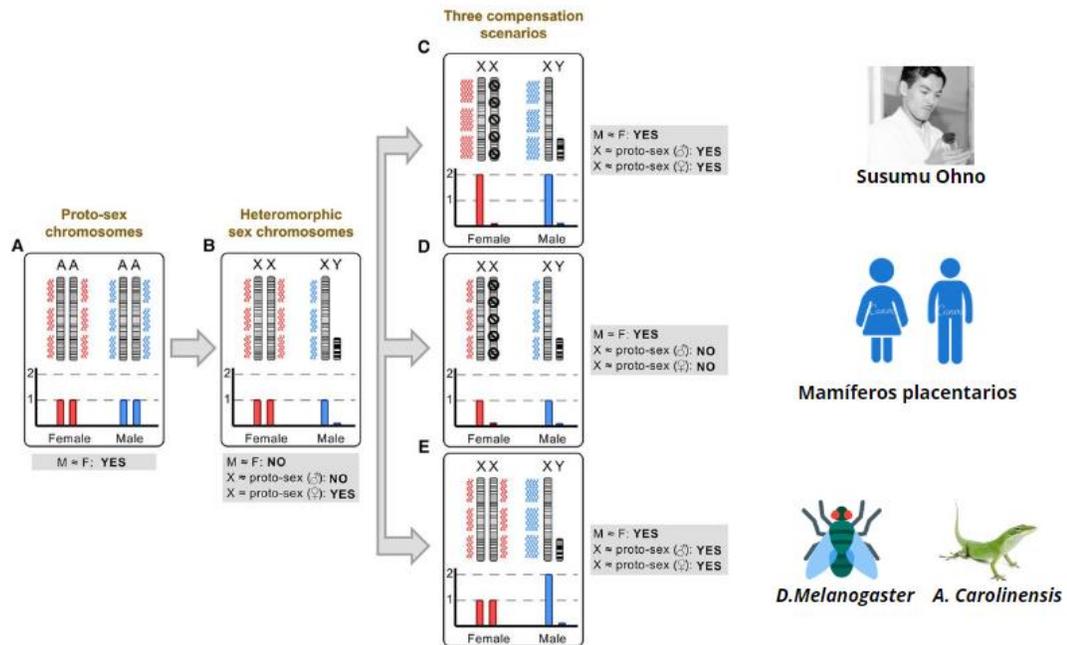


Figura 5. Se observan los diferentes posibles escenarios para la compensación de dosis después de la diferenciación de los cromosomas sexuales. Editado de Marín *et al.* (2017).

La propuesta predicha por Susumu Ohno deriva de la pérdida de genes en el cromosoma Y, la cuál estipula que la equivalencia de dosis entre machos XY y hembras XX, se logra mediante la inactivación del cromosoma X (XI) como mecanismo de compensación de dosis. Este proceso silencia transcripcionalmente todos los cromosomas X excepto uno en cada célula femenina, se estima que entre el 15% y 30% de genes humanos ligados al cromosoma X escapan de la inactivación (Posynick, B.J. *et al.*, 2019).

2.4.1 Inactivación del cromosoma X

La inactivación del cromosoma X ocurre estrictamente en el embrión derivado del epiblasto (Cohen *et al.*, 2007) y es el proceso mediante el cual uno de los dos cromosomas X en las células femeninas diploides normales se inactiva para compensar la diferencia de dosis de genes ligados a X entre machos y hembras mamíferos (Miller y Huntington, 1998). El cromosoma X inactivado se conoce

como Xi y el que se mantiene activo como Xa. Los pasos de inactivación son controlados por tres loci no codificantes *Xite*, *Tsix* y *Xist* (Cohen *et al.*, 2007). Este mecanismo evolucionó en mamíferos para balancear la dosis genética entre los dos sexos y también permite regular la expresión durante el desarrollo. En mamíferos, la compensación de dosis de genes ligados a X entre los dos sexos se lleva a cabo de manera aleatoria y es controlada por el centro de inactivación del X (*Xic*) (Li, J. *et al.*, 2022), el cual contiene el gen de ARN no codificante *Xist*, el cuál es un lncRNA los cuáles regulan la diferenciación celular y el desarrollo de tejidos (Lopes-Ramos, 2020), *Xist* solo está activo en Xi y es capaz de desencadenar la represión transcripcional en fragmentos cromosómicos amplios (Li, J. *et al.*, 2022). Algunos estudios sugieren que el gen *Xist* surgió de como un pseudogen del gen *Lnx3* durante la evolución de los mamíferos placentarios, por ello los marsupiales tienen otro mecanismo de compensación de dosis. La inactivación aleatoria no se tiene claro cómo se lleva a cabo porque involucran diferentes sistemas que regulan este proceso. Algunas observaciones realizadas con células aneuploides y tetraploides indicaron que un cromosoma X permanece activo por el genoma diploide después de completar *XCI* (inactivación del cromosoma X), el proceso de recuento y elección en *XCI* puede ser explicado por la acción de *BF* (factor de bloqueo) el cual protege a uno de los cromosomas X de la inactivación. El sitio de unión de *BF* es *DXPas34* (Wutz y Gribnau, 2007), ubicado a 15 kb en 3' de *Xist*. Es un minisatélite rico en GC hipermetilado en el cromosoma Xa y asociado con el principal sitio de iniciación del gen *Tsix* (Prissette, 2001); el gen *Tsix* se conoce también como el gen antisentido y actúa como un interruptor binario para la expresión de *Xist* del futuro Xi. La pérdida de expresión de *Tsix* permite la regulación positiva de *Xist* y el silenciamiento de cromosomas en cis del futuro Xa, la expresión persistente de *Tsix* durante la diferenciación celular femenina protege a Xa de los efectos silenciadores de *Xist*. *Xist* es un gran ARN nuclear que se expresa exclusivamente en Xi, recubre en cis todo el cromosoma y dirige el silenciamiento del cromosoma (Cohen *et al.*, 2007). Las regiones silenciadas por *Xist* presentan nucleosomas con histonas decoradas con modificaciones asociadas con la represión transcripcional y la condensación de cromatina, como *H3K27me3* y *H3K9me3*, las islas CpG en el extremo 5' de los genes inactivados están metilados, la cromatina silenciada alberga motivos específicos de ADN como *LINE-1* y motivos ricos en AT para facilitar la unión de *Xist* (Berletch *et al.*, 2011).

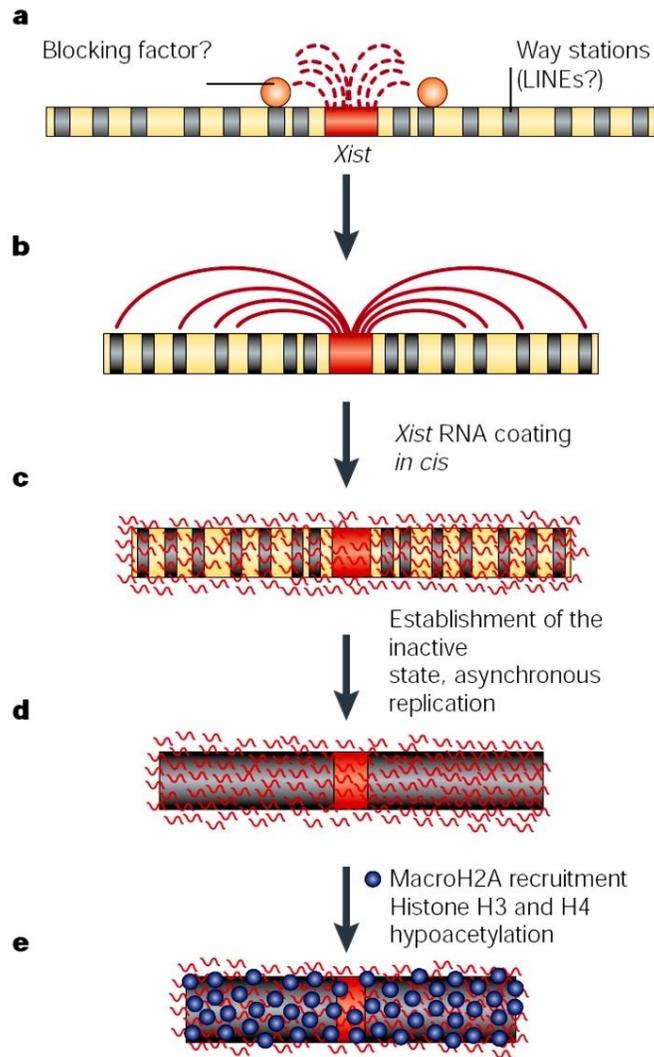


Figura 6. Se observa el modelo de inactivación del cromosoma X en hembras. Extraído de Wing O'Connor, 2008.

Embriones masculinos como femeninos expresan el lncRNA *Xist* antes de la implantación sin conducir al silenciamiento el cromosoma X, esto ocurre únicamente en el cromosoma X de machos (Okamoto, I. *et al.*, 2011). Por otro lado, el contenido de genes especializados en los cromosomas sexuales da como resultado diferencias sexuales fenotípicas que se manifiestan con susceptibilidad a enfermedades (Disteche, C. M., *et al.*, 2016) se ha observado que *Xist* se expresa de manera anormal en algunas enfermedades con sesgo sexual ya que al tener un contenido de genes especializados en los cromosomas sexuales da como resultado diferencias sexuales fenotípicas por

lo que su expresión o modificación podría usarse como biomarcador para el diagnóstico de muchas enfermedades con sesgo sexual como el cáncer, en un futuro se podría manipular genéticamente la expresión de *Xist* para poder inhibir estas enfermedades, por ello actualmente se propone como una posible diana terapéutica. Más del 80% de las enfermedades autoinmunes afectan principalmente a las mujeres como el Lupus, este sesgo se vincula a la dosis de los genes inmunitarios ligados al cromosoma X, ya que actualmente se conoce que contiene la mayor cantidad de genes relacionados con la respuesta inmune (Li, J. *et al.*, 2022).

2.5.1 Genes que escapan de la inactivación

En las hembras mamíferos, la mayoría de los genes del cromosoma X son silenciados como resultado de la inactivación del cromosoma X (Plath *et al.*, 2002). Sin embargo, ciertos genes escapan de esta inactivación y se expresan en ambos cromosomas, Xa y Xi. En total 15% de genes ligados a X escapan de la inactivación en cierto grado y la proporción de escape entre diferentes regiones del cromosoma X se debe a su historia evolutiva. Un 10% de genes adicional muestra patrones variables de inactivación y se expresan en diferentes grados de algunos cromosomas inactivos, lo que sugiere una heterogeneidad de expresión entre hembras (Carrel y Willard, 2005). Como resultado de la inactivación aleatoria del X, los tejidos somáticos en las hembras son mosaicos con células que difieren en el origen parental del X que está inactivado. Los genes que escapan a la inactivación del X se encuentran a lo largo del cromosoma X, pero predominan en regiones pseudoautosómicas (PAR) (Sahakyan, A. *et al.*, 2017). Esto se debe a que los alelos equivalentes están presentes en los cromosomas X y Y en los machos y en ambos alelos X en hembras. Los genes no pseudoautosomales que retienen una copia ligada al Y también a menudo escapan de la inactivación de X, por lo tanto, tienen dos alelos expresados en ambos tejidos somáticos masculinos y femeninos. Algunos genes que escapan de la inactivación han perdido o diferenciado su copia ligada al Y, lo cual podría producir una mayor expresión en hembras. La distribución de los genes que escapan de la inactivación a lo largo del cromosoma X no es aleatoria, los genes se encuentran agrupados hasta en 13 genes adyacentes en grandes dominios que varían entre un tamaño de 100 kb y 7 Mb. La mayoría de estos genes se localizan en el brazo corto del cromosoma X, ya que corresponde al estrato más reciente. Otro factor es la heterocromatina centromérica del cromosoma X, que evita la propagación correcta de *Xist* en cis desde su ubicación

en el brazo largo. El 10% de los genes ligados al cromosoma X muestran un escape variable, esta variabilidad se ha observado a nivel de individuos y tejidos (Berletch *et al.*, 2011). La expresión de Xi puede cambiar con el tiempo durante el desarrollo o la edad adulta, los genes de escape pueden silenciarse inicialmente seguidos de una reactivación durante el desarrollo o con el envejecimiento (Schoeftner *et al.*, 2009). La distribución y el contenido de los motivos de la secuencia del X influyen en el escape, mediante cambios en el reclutamiento de Xist y/o la unión de proteínas específicas que silencian genes en Xi (Reinius *et al.*, 2010). Los genes que escapan a la inactivación del X no están recubiertos con Xist, contienen nucleosomas con modificaciones asociadas con la transcripción activa, como la acetilación de H3 y H4 y H3K4me3, y sus islas CpG no están metiladas. Las regiones de escape y silenciadas en el Xi coexisten entre sí gracias a elementos de frontera como proteínas aislantes de cromatina que pueden bloquear la propagación de heterocromatina en regiones de escape. Por ejemplo, la cromatina entre genes inactivados y de escape puede estar unida por el aislante de cromatina CTCF, evitando la propagación de heterocromatina en las regiones de escape (Filippova *et al.*, 2005). También se ha observado que la mayoría de los 3-meros y los 5-meros enriquecidos alrededor de genes humanos sujetos a la inactivación del X, pero no alrededor de genes que escapan, son ricos en AT (Wang *et al.*, 2006)

2.6 Funciones reguladoras de genes ligados a X-Y

Los genes ligados al Y parecen regular diferentes niveles de complejidad celular, como el factor de transcripción ZFY, que regula la autorrenovación de las células madre, el componente espliceosoma RBMY, factores de iniciación de la traducción como DDX3Y y EIF1AY. En comparación con otros genes ancestrales que se mantuvieron solo en el cromosoma X, los pares de genes que se encuentran tanto en el X como en el Y están enriquecidos en funciones como la transcripción y la traducción de ácidos nucleicos, lo que sugiere que pueden controlar la expresión de genes blanco en todo el genoma (Bellot *et al.*, 2014).

Los efectos del sexo de la expresión génica son ubicuos (13,294 genes), sesgados por el sexo en todos los tejidos, el grado en que la expresión génica sesgada por el sexo se produce en los tejidos, especialmente en aquellos que no contribuyen a los rasgos característicos de dimorfismo sexual es desconocido. Los genes con expresión diferenciada por sexo no están impulsados por la expresión

de genes específicos de tejido sino están involucrados en un conjunto de diversas funciones biológicas, como respuesta a fármacos y hormonas, el desarrollo embrionario y la morfogénesis de tejidos, la fertilización, la reproducción sexual y la espermatogénesis, el metabolismo de las grasas, cáncer y respuesta inmune. Mientras que los genes ligados al cromosoma X con mayor expresión en las mujeres son aquellos genes que escapan de la inactivación del cromosoma X, la expresión de genes autosómicos sesgada por el sexo sugiere la regulación del factor de transcripción relacionado con las hormonas y un papel para factores de transcripción adicionales, así como una distribución diferenciada por sexo de marcas epigenéticas, particularmente trimetilación de histona H3 Lys27 (H3K27me3) (Olivia, M. *et al.*, 2020).

Diferentes fenotipos humanos complejos como las enfermedades exhiben características diferenciadas por sexo las cuales se atribuyen de diversas maneras a las hormonas, los cromosomas sexuales, los efectos del genotipo x sexo, las diferencias en el comportamiento y las diferencias en las exposiciones ambientales, sin embargo, sus mecanismos y biología siguen siendo en gran parte desconocidos (Olivia, M. *et al.*, 2020).

La divergencia sexual en la salud y la enfermedad se debe en parte a la desigualdad de dosis de los cromosomas sexuales, como los efectos de la expresión de los genes del cromosoma Y, las diferencias en la dosis de los genes del cromosoma X y los efectos epigenéticos (Arnold, 2017).

3 Justificación

Los cromosomas X y Y en primates evolucionaron a partir de un par de autosomas desde hace 180 millones de años (Hughes *et al.*, 2012). Solo el 3% de los genes ancestrales se han mantenido en el cromosoma Y en primates, en comparación con el 98% en el cromosoma X. Esta asombrosa degeneración del cromosoma Y desencadenó un desbalance de dosis entre hembras (dos X activos) y machos (un X activo) que se resolvió con la aparición del sistema de inactivación del cromosoma X en hembras. Sin embargo, esta inactivación no es perfecta y, como se mencionó antes, 15% de genes en el Xi logran escapar. Hasta la fecha, poco se sabe de los cambios en los niveles de expresión de los genes en el cromosoma X y si el escape del Xi se conserva en las diferentes etapas de vida de los organismos. Es por ello por lo que este trabajo busca estudiar los niveles de expresión de los genes en los cromosomas sexuales a lo largo del desarrollo embrionario y la vida adulta. Se compararán los patrones de expresión entre dos especies (humanos y macacos) ya que ambas especies comparten prácticamente el mismo tamaño de genoma a pesar de su separación evolutiva hace aproximadamente 25 millones de años, ambas especies conservan el contenido genético en sus cromosomas sexuales, pero que tal vez hayan tenido cambios en sus patrones de expresión.

4 Hipótesis

La regulación de los cromosomas sexuales es dinámica, los genes que escapan a la inactivación del cromosoma X son distintos y sus niveles de expresión cambian entre el desarrollo embrionario y la vida adulta.

5 Objetivo general

Estudiar los niveles de expresión de los genes en los cromosomas sexuales y autosomales (como control) a lo largo del desarrollo embrionario y la vida adulta de humanos y macacos con el fin de determinar si existen cambios de patrones de expresión de genes a través de la ontogenia y entre especies.

5.1 Objetivos particulares

1. Determinar los patrones de los niveles de expresión de los genes en los cromosomas autosomales, X y Y en humano y macaco desde el desarrollo embrionario hasta la adultez, cubriendo más de 40 años de la vida de estas especies.
2. Distinguir si la expresión de los cromosomas sexuales es la misma durante el desarrollo embrionario que durante el envejecimiento.
3. Identificar que genes presentan expresión diferencial.

6 Metodología

6.1 Generación de base de datos

Para el análisis bioinformático se siguieron los siguientes pasos: (1) descarga de los transcriptomas de Arrayexpress, (2) limpieza y alineamiento de las lecturas, (3) identificación de los niveles de expresión de los genes, (4) identificación de patrones específicos de cada especie y grupo de edad. Dichos análisis se llevaron a cabo en el servidor del Centro de Ciencias Genómica de la UNAM, a través de la interfase MobaXterm, que funge como un gestor de conexiones SSH. Se empleó el sistema operativo Linux mediante el lenguaje de programación bash. Se trabajó con secuencias de ADNc (ADN complementario), transcritos sin intrones del genoma humano y del macaco como referencia; dichas secuencias se adquirieron de la base de datos de Ensembl (https://www.ensembl.org/Macaca_mulatta/Info/Index y https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index). Se utilizó posteriormente el programa Kallisto para llevar a cabo el conteo de los niveles de expresión de los genes. Este no admite alineaciones empalmadas, es por ello por lo que se utilizaron las secuencias de los transcriptomas. Se trabajó con los datos de la publicación de Cardoso et al., (2020) de transcriptomas de embriones de aproximadamente 14 etapas, recién nacidos, juveniles y adultos. Se descargaron los transcritos en formato FASTQ ubicados en el repositorio de genómica funcional Arrayexpress dentro del servidor del CCG y con estos datos se realizó una base de datos para la cuantificación de RNA-seq.

6.1.1 Eliminación de adaptadores y bases de mala calidad

Se utilizó el software Trimmomatic, que es una herramienta de línea de comandos rápida y multiproceso que se puede utilizar para recortar Illumina (FASTQ), así como para eliminar adaptadores. Estos adaptadores pueden plantear un problema real dependiendo de la preparación de la biblioteca y la aplicación posterior. Hay dos mecanismos principales del programa: modo de fin emparejado y modo de fin único, en este caso se utilizó el modo de fin único; trabaja con archivos FASTQ (usando puntajes de calidad phred + 33 o phred + 64, dependiendo de la canalización de Illumina utilizada). Los archivos comprimidos con 'gzip' o 'bzip2' son compatibles y se identifican mediante el uso de extensiones de archivo '.gz' o '.bz2' (Bolger et al., 2014). Los parámetros de calidad fueron los siguientes: escanear las lecturas con una ventana deslizante de 15

pb de ancho. Ventana deslizante se utiliza para recortar nucleótidos de baja calidad al final de las lecturas. Si la calidad promedio de los nucleótidos dentro de la ventana cae por debajo del umbral de calidad requerido, la lectura se recorta. Las lecturas con longitud menor a 36 pb serán descartadas después de recortar. También se utilizó el comando Illuminaclip quien elimina los adaptadores.

6.1.2 Cuantificación de RNA-seq

Se cuantificó la abundancia de las secuencias con el programa Kallisto, que es un cocoprograma para cuantificar la abundancia de los transcritos a partir de los datos de RNA-seq, basado en un pseudoalineamiento para una rápida detección entre la compatibilidad entre las lecturas y los sitios diana del genoma, evitando los alineamientos de bases individuales. El pseudoalineamiento de las lecturas preserva la información clave necesaria para la cuantificación, la cual se lleva a cabo de manera rápida y confiable (Ovalle, 2018). Se eligió este programa ya que, frente a otros programas de cuantificación, permite un *bootstrapping* eficiente y se puede calcular con precisión las estimaciones de abundancia y se realiza en corto tiempo la construcción de índice y la compilación del programa es fácil y rápida, no requiere computación en la nube y es seguro (Bray et al., 2016).

6.1.3 Suma de la expresión de los genes

Después de utilizar los programas antes mencionados (Trimmomatic y Kallisto), se utilizó posteriormente un script realizado por el Dr. Diego Cortez Quezada adscrito al Laboratorio de Biología de Sistemas y Biología Sintética del Centro de Ciencias Genómicas, en la terminal en lenguaje bash con el objetivo de realizar la suma de la expresión de los genes con base en sus identificadores (Anexo A, Figura 1).

6.1.4 Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos correspondientes a la suma de los genes por tejidos y etapas, se clasificaron los diferentes tejidos dependiendo a cada etapa de desarrollo, en el caso de macaco se separaron en los siguientes:

1. Embriones
2. Neonatos
3. Infantes
4. Adultos

Continuamos a separar los genes de las diferentes etapas conforme al cromosoma al que pertenecen, es decir: autosomales, X y Y (en el caso de machos) y autosomales y X (en el caso de hembras), una vez que se separaron los genes por sus identificadores en la terminal con ayuda de un script realizado por el Dr. Diego Cortez Quezada adscrito al Laboratorio de Biología de Sistemas y Biología Sintética del Centro de Ciencias Genómicas (Anexo A, Figura 2). Se obtuvo la mediana de expresión de cada gen, ya que la mediana a diferencia de la media puede darnos un valor más general de todos los datos, menos sesgado, ya que los valores de los genes son significativamente diferentes entre ellos por lo que si utilizáramos la media nos generaría un error entre los datos. Se utilizaron los valores de las medianas en logaritmo base 10 para estabilizar la variación entre los datos con asimetría positiva y así tengan una distribución normal para realizar los gráficos.

Dichos análisis y gráficos se realizaron con la interfaz de R-studio, entorno de desarrollo integrado (IDE) para R, como lenguaje de programación el cual incluye una consola, editor de sintaxis que apoya la ejecución de código (Verzani, 2011).

6.1.5 Normalización de datos

Se realizaron algunos gráficos y las pruebas estadísticas con los datos normalizados, éstos se normalizaron dividiendo los valores de los cromosomas X/Y entre los valores (medianas) de los cromosomas autosomales para el caso de los machos y las hembras. Se eligió normalizar con los valores (medianas) de los genes autosomales debido a que su expresión genética es similar en todas las muestras. Se realizó esta normalización para corregir por posibles sesgos de secuenciación y otros artefactos técnicos que pudieran influir en los patrones de expresión. Para observar los datos no normalizados (Anexo B, Figura 3, 4 y 5) y (Anexo C, Figura 6 y 7).

6.2 Pruebas estadísticas

6.2.1 Prueba de Shapiro-Wilk

Se realizó la prueba estadística de Shapiro- Wilk para saber si la distribución de los datos cumplía con una distribución normal, es decir una campana de Gauss. Se eligió esta prueba ya que es una de las más reconocidas y con mayor potencia estadística entre las existentes actualmente. Su fundamento estadístico se basa en una gráfica de probabilidad en la que se considera la regresión de las observaciones sobre los valores esperados de la distribución hipotetizada, donde el valor de W es el cociente de dos estimaciones de la varianza de una distribución normal (Arcones & Wang, 2006).

6.2.2 Prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney

Se utilizó la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney (WMW) para comparar las medianas de los dos conjuntos de datos por etapas, elegidas previamente en base a los gráficos obtenidos de box-plot. Esta prueba es no paramétrica, lo que significa que se basa en el ordenamiento de los datos por su magnitud y en remplazar éstos por la cuantía de los rangos. Además, establece la diferencia de distribución de los datos de un grupo con respecto a otro que supone son muestras independientes, lo que permite encontrar diferentes conclusiones que dependen de la forma y dispersión de los datos (Sánchez, 2015).

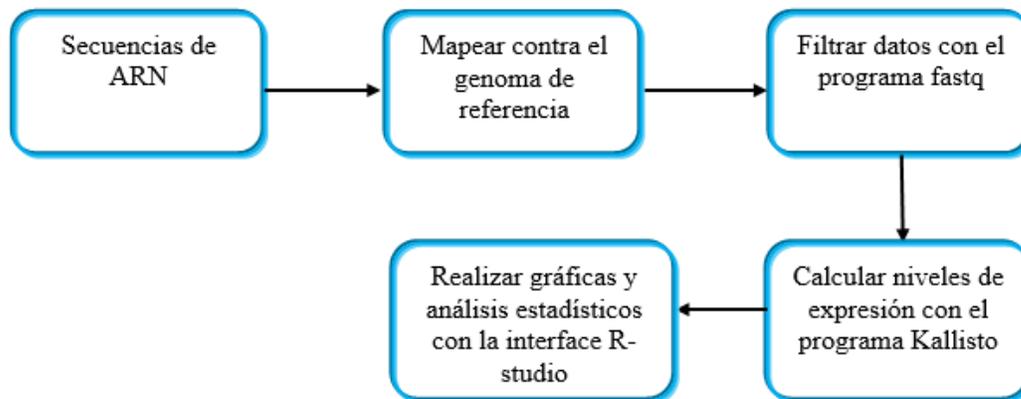


Figura 7. Flujo de trabajo que se llevó a cabo para realizar el trabajo.

7 Resultados

7.1 Resultados de *M. mulatta*

7.1.2 BoxPlots con datos no normalizados de *M. mulatta*

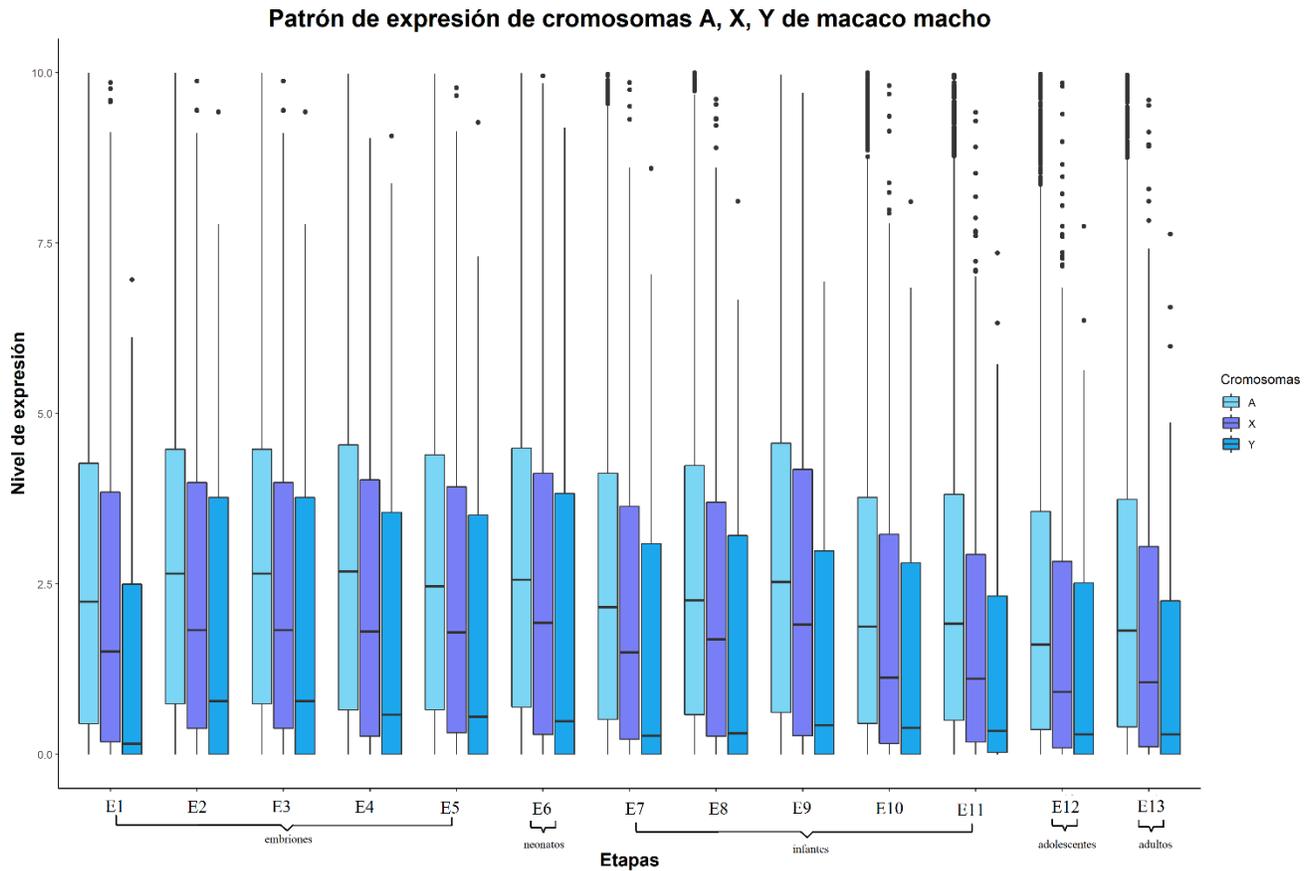


Figura 8. Comparación del patrón de expresión entre cromosomas autosomales, X y Y de macaco macho no normalizados.

Podemos observar el nivel de expresión que alcanzan los diferentes cromosomas de macaco macho (autosomales, X y Y), a lo largo de trece etapas diferentes de desarrollo, desde embriones hasta adultos. La mediana del cromosoma Y queda por debajo de las medianas de los cromosomas autosomales y X a lo largo de las diferentes etapas.

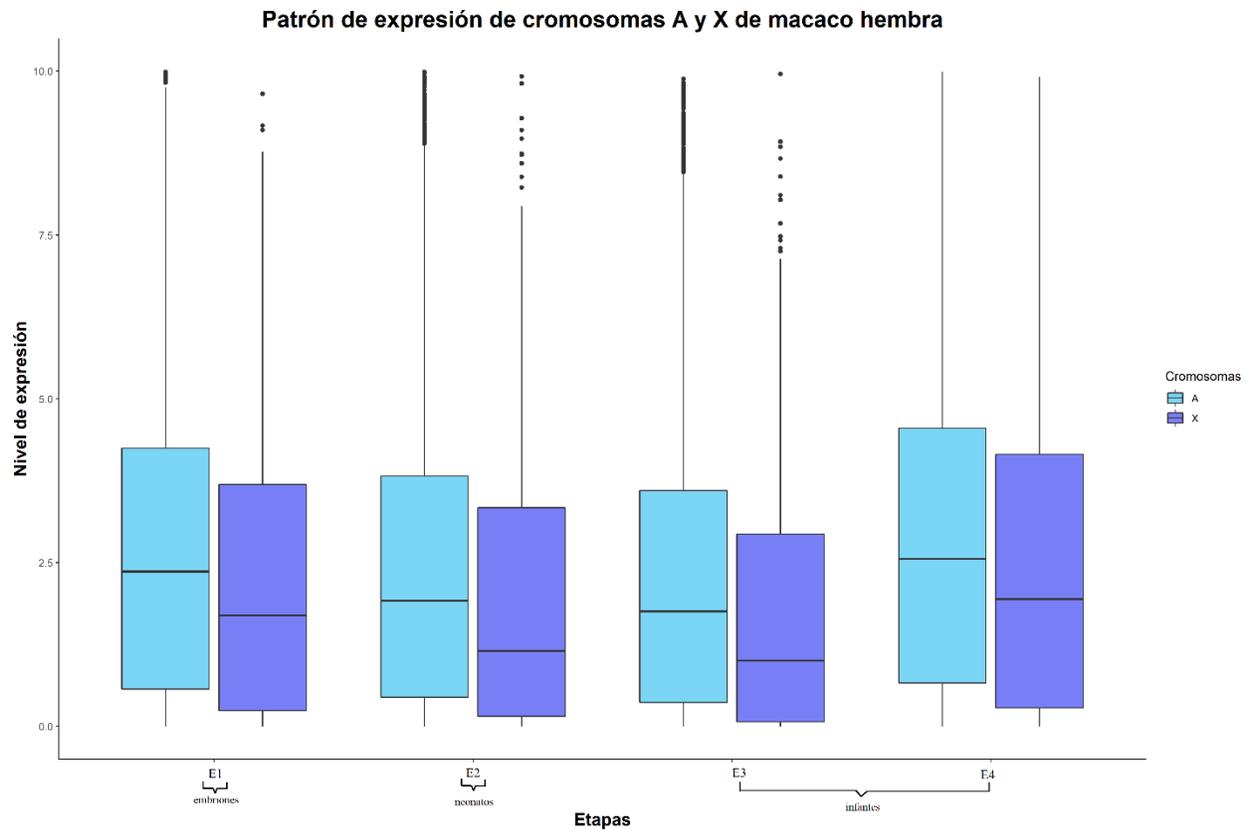


Figura 9. Comparación del patrón de expresión entre cromosomas autosomales y X de macaco hembra no normalizados.

En el caso de las hembras, podemos observar que las medianas de los cromosomas autosomales a lo largo de las diferentes etapas de desarrollo esta ligeramente por arriba de las medianas del cromosoma X, como se había comentado anteriormente esto se debe a que existen mas genes ligados a los cromosomas autosomales que a X.

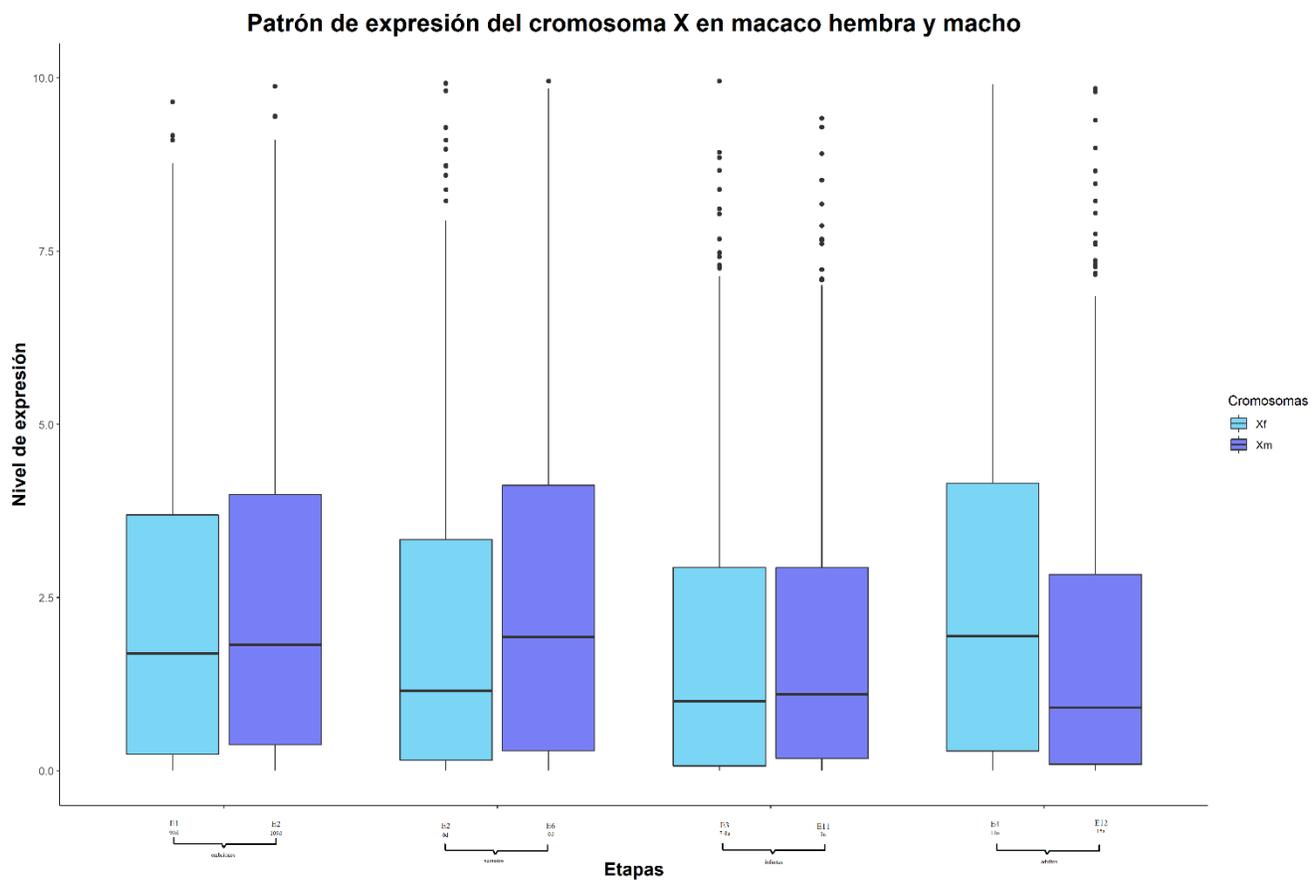


Figura 10. Comparación del patrón de expresión del cromosoma X entre hembra y macho de macaco no normalizado.

Se realizó esta comparación entre el cromosoma X de ambos sexos para poder observar que en el caso del cromosoma X de las hembras la mediana queda por encima de la mediana del cromosoma X de macho, notoriamente podemos observar este fenómeno en la etapa adulta, dónde se alcanza la madurez sexual de *Macaca mulatta* (11-15 años).

7.1.3 Resultado de prueba Shapiro-Wilk de *M. mulatta*

Se compararon diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco macho, posteriormente ciertas etapas del cromosoma X de macaco hembra y finalmente, cromosoma X de macho vs cromosoma X de macaco hembra con la prueba de WMW, que se observaron relevantes en los box-plot. Para ello primero se realizó la prueba de Shapiro-Wilk y los resultados fueron los siguientes:

Tabla 1. Prueba de Shapiro-Wilk para cada par de etapas elegidas de los cromosomas X y Y de macaco

Macaco macho "X" etapa 1 vs etapa 9	Macaco macho "X" etapa 9 vs etapa 10	Macaco macho "X" etapa 9 vs etapa 13	Macaco macho "Y" etapa 1 vs etapa 3	Macaco macho "Y" etapa 3 vs etapa 7
W= 0.27819 p-value < 2.2e-16	W= 0.27819 p-value < 2.2e-16	W= 0.27819 p-value < 2.2e-16	W= 0.42284 p-value= 4.637e-11	W= 0.32878 p-value= 5.412e-12
Macaco macho "Y" etapa 3 vs etapa 13	Macaco hembra "X" etapa 1 vs etapa 3	Macaco hembra "X" etapa 1 vs etapa 4	Macaco hembra "X" etapa 3 vs etapa 4	etapa 1 de hembra vs etapa 2 de macho "macaco X"
W= 0.32634 p-value= 5.134e-12	W= 0.20526 p-value= < 2.2e-16	W= 0.20526 p-value= < 2.2e-16	W= 0.15476 p-value= < 2.2e-16	W= 0.15233 p-value= < 2.2e-16
etapa 2 de hembra vs etapa 6 de macho "macaco X"	etapa 3 de hembra vs etapa 11 de macho "macaco X"	etapa 4 de hembra vs etapa 12 de macho "macaco X"		
W= 0.21509 p-value= < 2.2e-16	W= 0.17615 p-value= < 2.2e-16	W= 0.15755 p-value= < 2.2e-16		

7.1.4 Interpretación prueba Shapiro-Wilk de *M. mulatta*

Por lo que podemos inferir de los resultados obtenidos de la prueba Shapiro-Wilk realizada a los diferentes conjuntos de pares de etapas es que la distribución de los datos no es normal ya que obtuvimos valores por debajo de $p= 0.05$, por lo que se realizó una prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney en lugar de una de t de student (equivalente paramétrico).

7.1.5 Resultados de prueba Wilcoxon-Mann-Whitney de *M. mulatta*

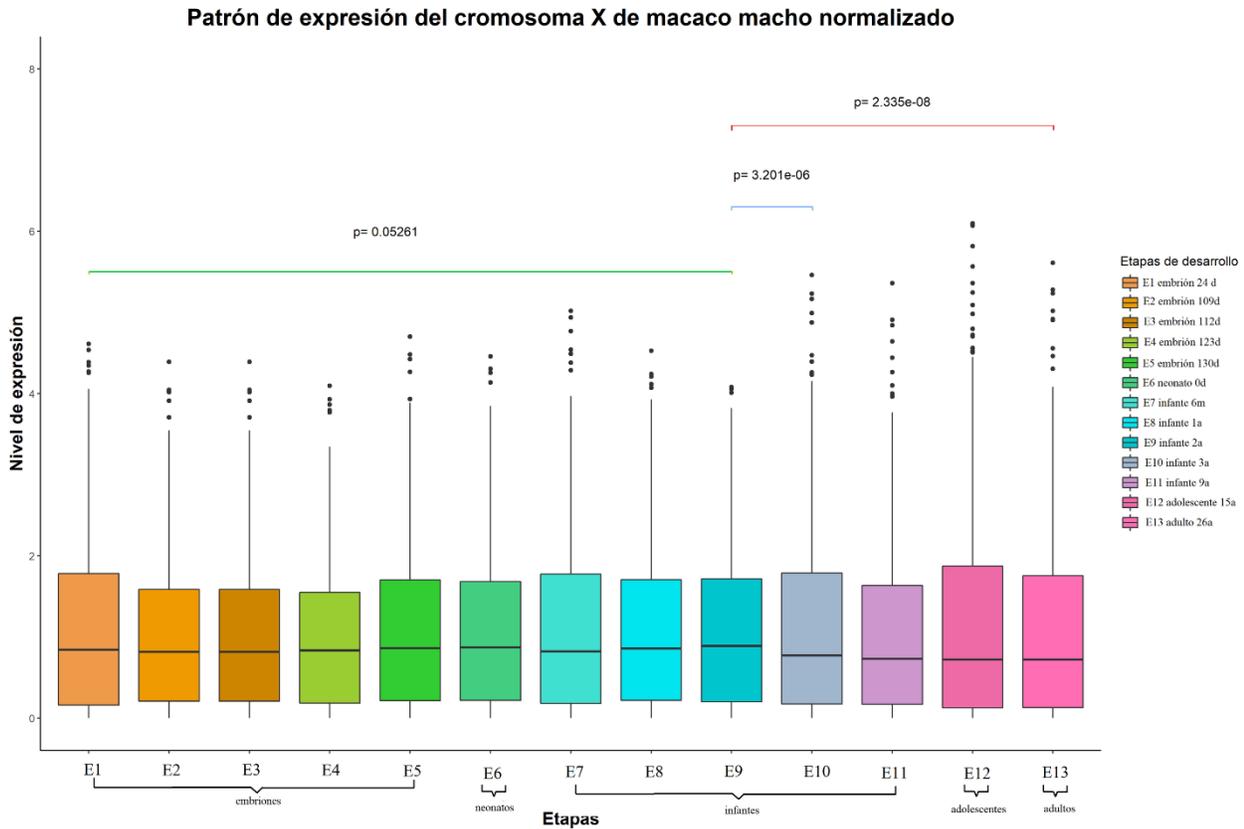


Figura 11. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco macho normalizado.

Se realizó la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney (WMW) entre las etapas 1 y 9, en este caso se eligió comparar estas dos etapas ya que podemos observar que a simple vista la mediana de ambas etapas es similar, dando como resultado un valor de $p=0.05261$ por lo que no es significativo el valor de p ($p > 0.05$), no son diferentes los valores de las medianas entre estas dos etapas. A diferencia de las etapas 9 y 10 que el valor es de $p= 3.201e-06$, por lo que, si es significativo ($p < 0.05$) las medianas entre estas dos etapas son diferentes, al igual que entre las etapas 9 y 13 el valor de $p= 2.335e-08$, lo que significa que en el caso de estas últimas dos pruebas se rechaza la hipótesis nula.

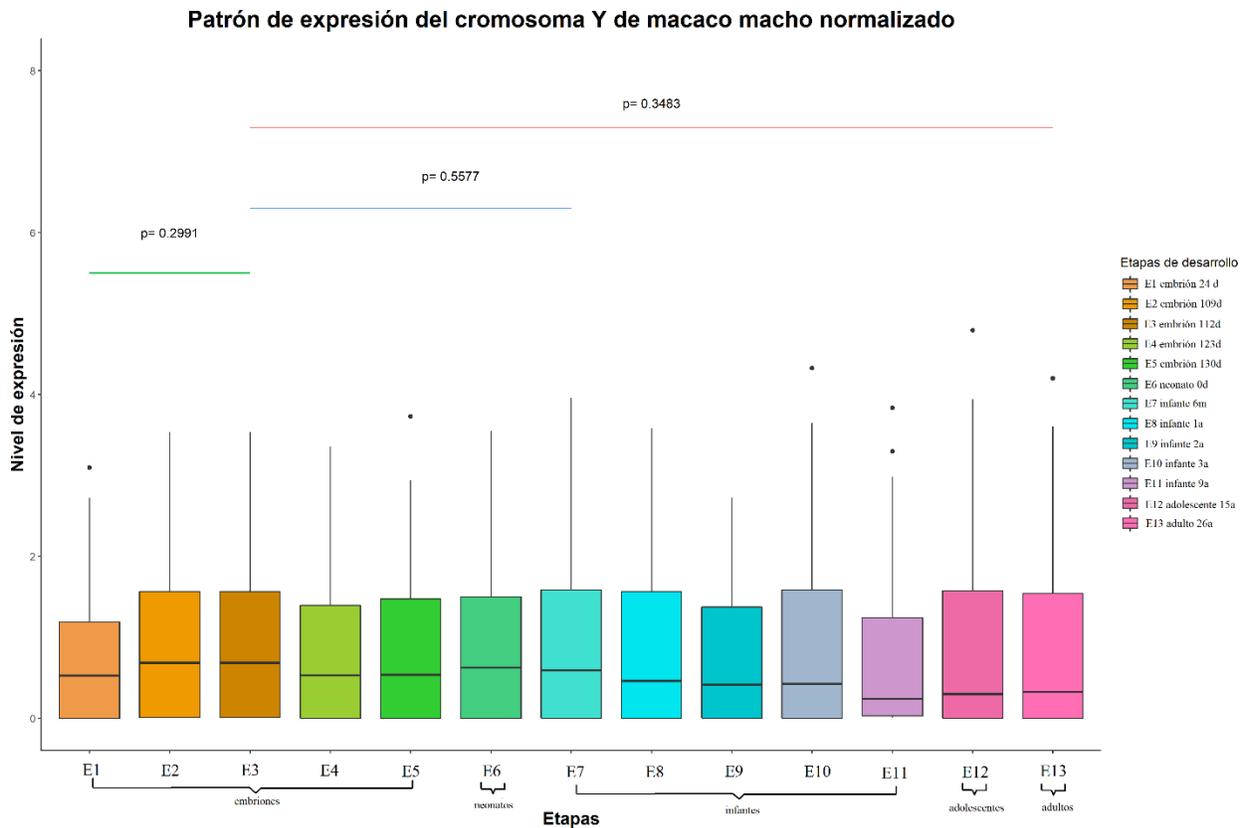


Figura 12. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma Y de macaco macho normalizado.

Se llevó a cabo la prueba de WMW entre las etapas 1 y 3, dando como resultado un valor de $p=0.2991$ por lo que no es significativo ($p > 0.05$), no existen cambios significativos entre las medianas entre estas dos etapas. Posteriormente entre las etapas 3 y 7 en la cuál se obtuvo un valor de $p=0.5577$, no significativo ($p > 0.05$) y entre las etapas 3 y 13 lo que resulto con un valor de $p=0.3483$, no significativo. En el caso de todas las pruebas realizadas del cromosoma Y en macaco macho no se rechaza la hipótesis nula, lo que significa que las etapas entre las que se efectuó la prueba de WMW sus medianas son similares y no significativamente diferentes.

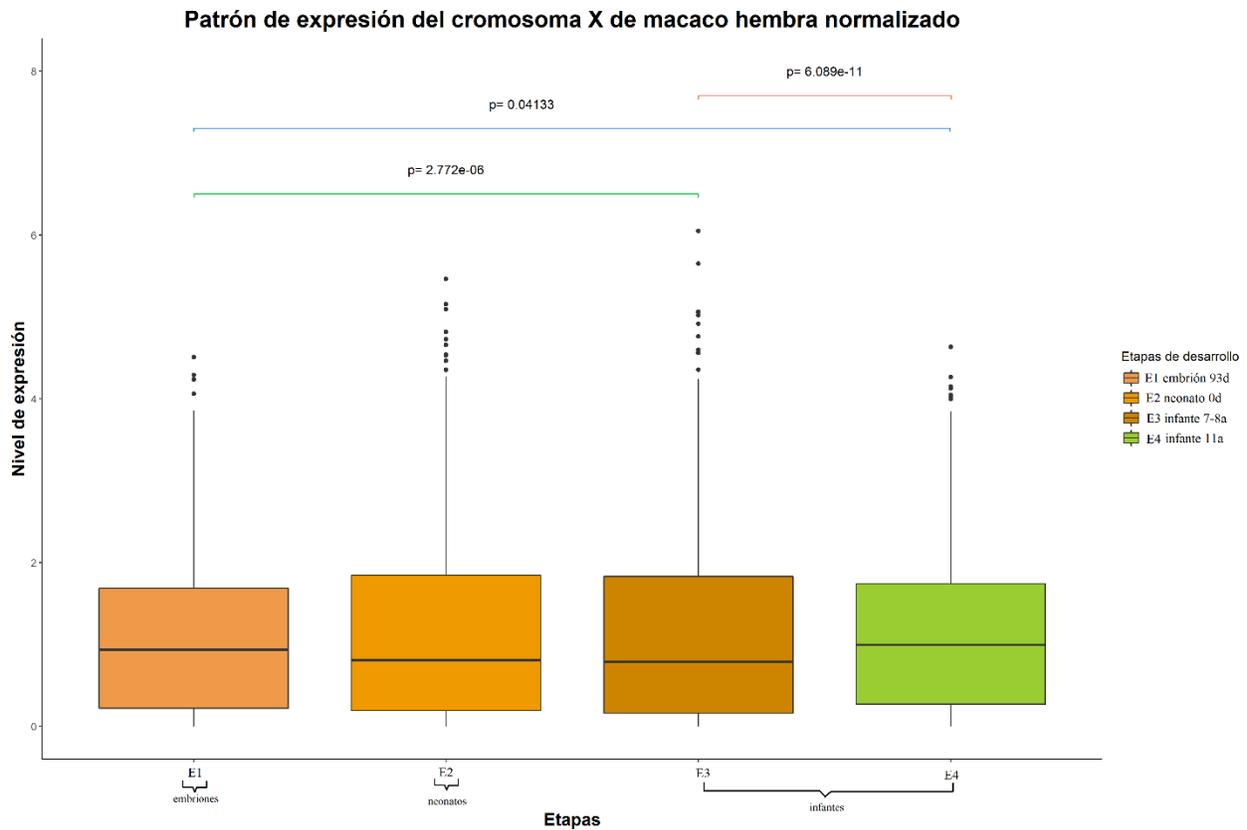


Figura 13. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco hembra normalizado.

Se efectuó la prueba de WMW entre las etapas 1 y 3, dando como resultado un valor de $p=2.772e^{-06}$ por lo que es significativo el valor de p ($p < 0.05$), son diferentes las medianas entre estas dos etapas. Al igual que las pruebas WMW entre las etapas 1 y 4 cuyo valor de $p=0.04133$, y entre las etapas 3 y 4 que el valor es de $p=6.089e^{-11}$, lo que significa que en el caso de todas las pruebas efectuadas en el caso del cromosoma X en macaco hembra se rechaza la hipótesis nula.

7.1.6 Comparación entre los diferentes patrones de expresión de los cromosomas sexuales de macaco hembra y macho.

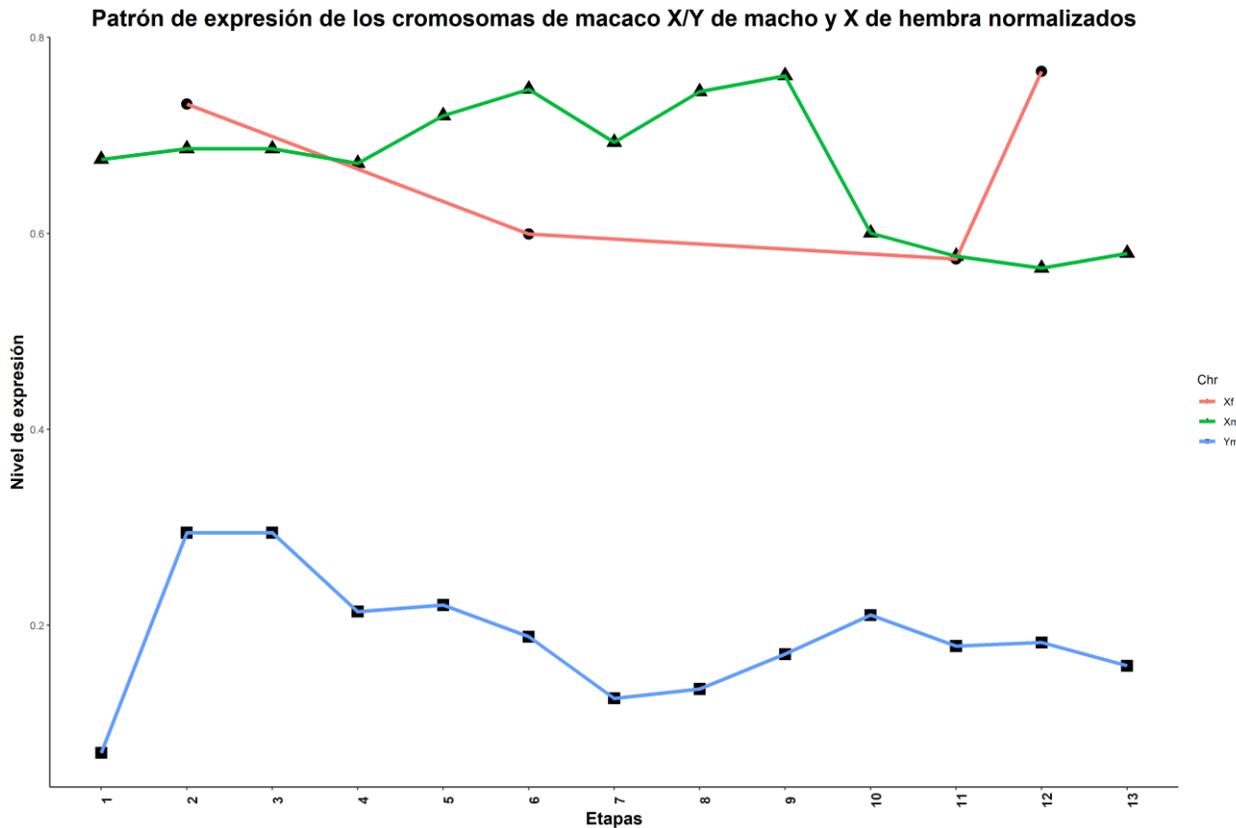


Figura 14. Lineplot de las medianas de los cromosomas sexuales de macaco hembra y macho.

En este gráfico podemos observar que la expresión del cromosoma Y de macaco macho está muy por debajo del nivel de expresión del cromosoma X tanto en macho y hembra, esto se debe a que el cromosoma Y ha acumulado mutaciones ligeramente deletéreas que han disminuido sus niveles de expresión (Martínez-Pacheco *et al.*, 2020). En el caso del cromosoma X en hembras podemos observar el nivel de expresión en las etapas equiparables, cuando son embriones en el caso de hembras (etapa 1), la mediana es diferente a la del cromosoma X de machos (etapa 2) por lo que se espera rechazar la hipótesis nula, a diferencia de cuando se encuentran en la etapa de neonatos, la mediana de la etapa 2 de hembras queda por debajo de la etapa 6 de machos por lo que también se espera rechazar la hipótesis nula ya que su patrón entre ambas etapas es diferente, en el caso de

la etapa de infantes, la mediana de la etapa 3 de hembras es similar a la etapa 11 de machos, en este caso se espera no se rechace la hipótesis nula ya que ambos patrones entre medianas es igual, por último aumenta notoriamente la mediana de hembras de la etapa 4 una vez que entran a la etapa adulta, mientras que la mediana de la etapa 12 de los machos queda por debajo por ello se espera igual rechazar la hipótesis nula ya que es muy diferente el patrón de las medianas entre ambas etapas.

7.1.7 Resultado de prueba Wilcoxon-Mann-Whitney del cromosoma X entre maco hembra y macho.

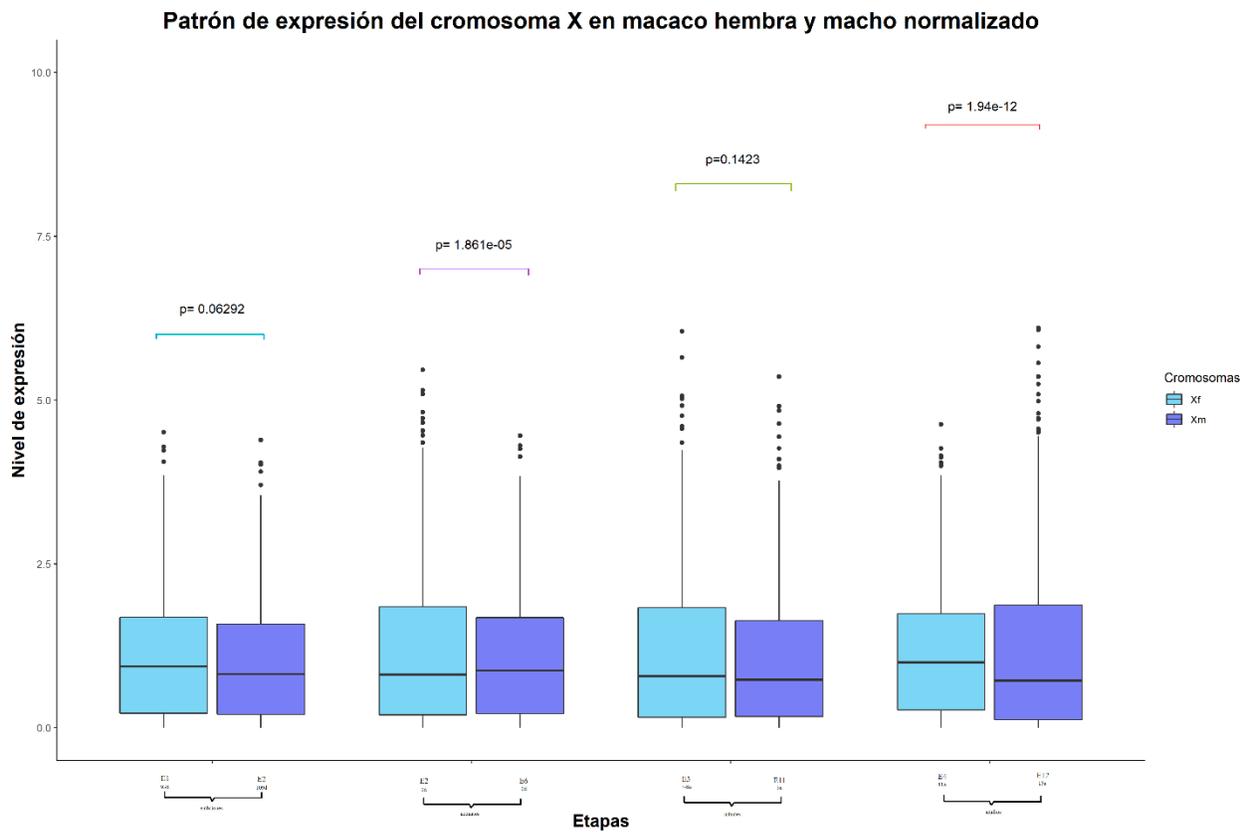


Figura 15. BoxPlot del cromosoma X de macaco hembra y macho normalizado con valor de p (prueba de WMW).

Realizamos una prueba WMW entre ciertas etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco macho y hembra para saber si las medianas de las distribuciones son iguales. Se obtuvo como resultado entre la etapa 1 vs etapa 2 un valor de $p=0.06292$ por lo que no hay un cambio significativo entre sus medianas, a diferencia de la etapa 2 vs etapa 6, la cual fue significativa con un valor de $p= 1.861e-05$ por lo que se rechaza la hipótesis nula lo que significa que existe una diferencia en el patrón de ambas medianas comparadas. Al comparar la etapa 3 vs etapa 11, se obtuvo un valor de $p= 0.1423$, no se rechaza la hipótesis nula por lo que no hay un cambio significativo entre sus medianas. Al final se comparó la etapa 4 vs etapa 12 y resultaron significativamente diferentes entre ambas etapas con un valor de $p= P= 1.94e-12$, se rechaza la hipótesis nula por lo que es diferente el patrón de sus medianas.

7.1.8 Expresión diferencial de *M. mulatta*

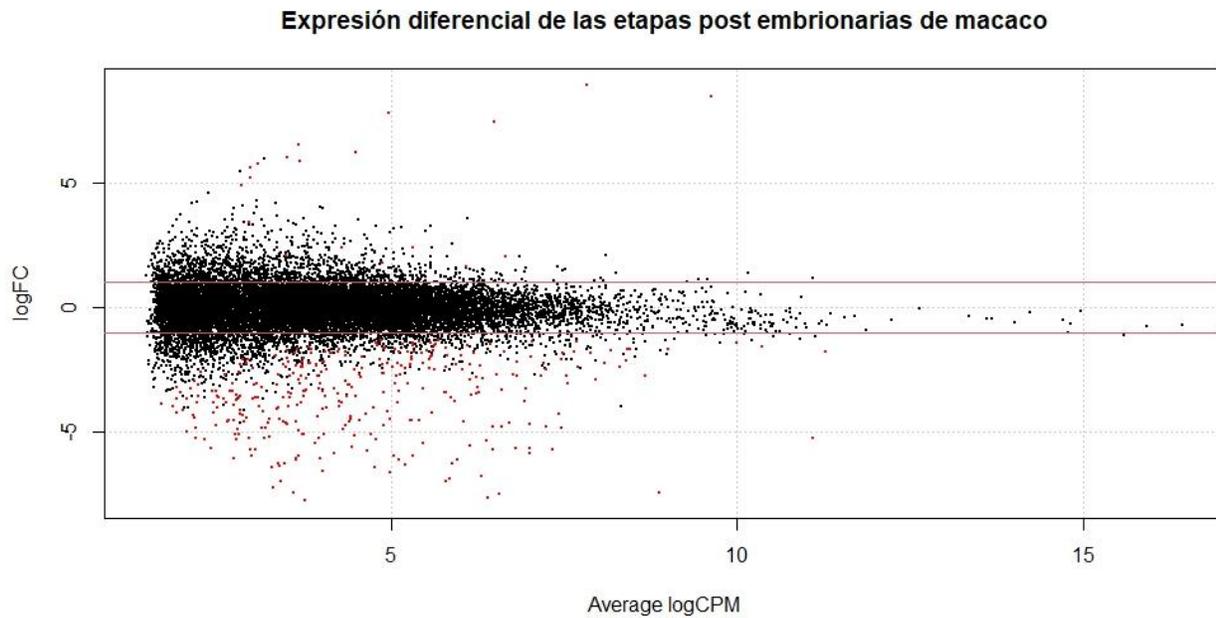


Figura 16. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales, X y Y de las etapas post embrionarias de macaco hembra y macho.

Se puede observar cada punto de color rojo en el gráfico que representan a los genes con mayor expresión diferencial, en este caso los genes que se encuentran en la parte inferior pertenecen a macho ya que su logFC es negativo, para poder identificar que genes son los que se expresan significativamente de manera diferencial se utilizó un valor de $p= 0.01$ para realizar las pruebas estadísticas.

Tabla 2. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas post embrionarios de los cromosomas autosomales, X y Y de macaco hembra y macho.

Id	Gen	Función	logFC	PValue	FDR
ENSMMUG00000038331	Ribosomal protein S4 Y-linked (RPS4Y1)	Cataliza la síntesis de proteínas y codifica la proteína S4.	8.899679383	2.1419194651252e-26	3.72179926260154e-22
ENSMMUG00000038824	Ribosomal protein S4, Y-linked (RPS4Y2)	Cataliza la síntesis de proteínas y codifica la proteína S4.	7.416677493	1.26298752904045e-23	1.09728356523034e-19
ENSMMUG00000043966	DEAD-box helicase 3 Y-linked (DDX3Y)	Codifica a proteínas para la unión de ATP, hidrolisis, unión de RNA y froma interacciones intramoleculares	7.809405456	2.79651232681932e-20	1.61973993969375e-16
ENSMMUG00000043715	Eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked (EIF1AY)	Codifica una proteína relacionada con el factor EIF1A.	6.236904677	1.15231192114134e-15	5.00564298543798e-12
ENSMMUG00000049460	Fructose-1,6-bisphosphatase 1-like (LOC114675533)	Pseudogen que cataliza la fosforilación de D-fructuosa 6-fosfatasa a fructosa 1,6-bifosfatasa por ATP	-5.426469522	8.85021125394492e-14	3.07562541497094e-10
ENSMMUG00000022536	Fructose-bisphosphatase 1 (FBP1)	Enzima que regula la gluconeogénesis, cataliza la hidrólisis de fructosa 1,6-bifosfato a fructosa 6-fosfato y fosfato inorgánico.	-5.348484886	1.14366535456183e-13	3.31205486681106e-10
ENSMMUG00000064735	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase (HAAO)	Cataliza la apertura del anillo oxidativo del 3-hidroxiantranilato a semialdehído 2-amino-3-	-3.601870932	5.51018603481745e-12	1.3677856077284e-08

		carboximuconato			
ENSMMUG0000 0032143	Cytochrome P450 family 4 subfamily A member 11 (CYP4A11)	Codifica un miembro de la superfamilia de enzimas del citocromo P450, involucrado en el metabolismo de fármacos y síntesis de colesterol, esteroides y otros lípidos.	-6.979075813	8.60316312 305761e-12	1.8686070 3032811e-08
ENSMMUG0000 0016454	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPD)	Codifica una enzima en la vía catabólica de la tirosina.	-5.855442421	1.38409296 764411e-11	2.6722221 5619822e-08
ENSMMUG0000 0008087	Glucose-6-phosphatase catalytic subunit 1 (G6PC1)	Proporciona instrucciones para producir una enzima llamada glucosa 6-fosfatasa, es el principal regulador de la producción de glucosa en el hígado.	-7.644936429	1.56285581 12658e-11	2.7156182 5765545e-08

Con los resultados obtenidos de la tabla de los 10 genes con mayor expresión diferencial de los cromosomas autosomales, X y Y de macaco se infirió que es un control positivo ya que la mayoría de los genes se localizan en el cromosoma Y, los cuales se esperaba que se expresaran de manera diferente ya que solo son el 3% aproximadamente de los genes ancestrales estables (Bellot *et al.*, 2014), como se mencionó antes estos genes juegan un papel muy importante para la reproducción masculina (Bellot *et al.*, 2014) y forman un conjunto especializado que funcionan como reguladores de genes en múltiples niveles: modificación de cromatina, transcripción, empalme, traducción y degradación de proteínas (Martínez-Pacheco *et al.*, 20202).

Expresión diferencial de las etapas post embrionarias de macaco sin el cromosoma Y

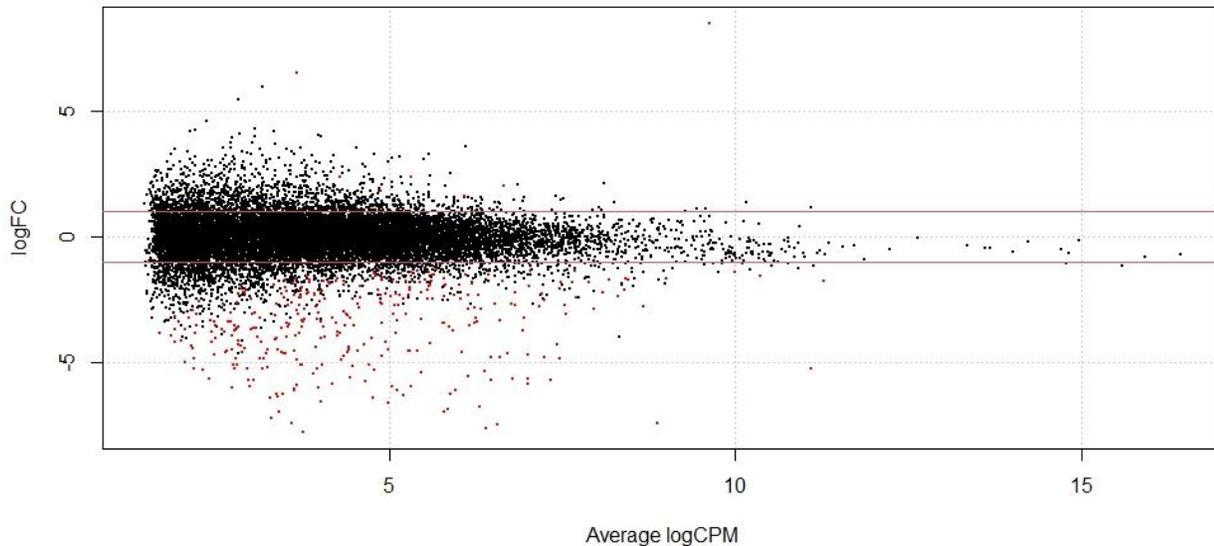


Figura 17. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales y X de las etapas post embrionarias de macaco hembra y macho.

En este caso al realizar el gráfico de volcán solo para los cromosomas autosomales y X de macaco se observa que la mayoría de los genes con expresión diferencial se encuentran igualmente en los machos ya que su logFC es negativo. Esto podría deberse a que genes que se encuentran tanto en el X como en el Y están enriquecidos en funciones como la transcripción y la traducción de ácidos nucleicos, lo que sugiere que pueden controlar la expresión de genes blanco en todo el genoma (Bellot *et al.*, 2014), pero al tener solo una copia de los genes ligados al cromosoma X, los machos van a presentar mayor expresión diferencial en comparación de las hembras.

Tabla 3. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas post embrionarios de los cromosomas autosomales y X de macaco hembra y macho.

Id	Gen	Función	logFC	PValue	FDR
ENSMMUG00000049460	Fructose-1,6-bisphosphatase 1-like (LOC114675533)	Pseudogen que cataliza la fosforilación de D-fructuosa 6-fosfatasa a fructosa 1,6-bifosfatasa por ATP	-5.425920916	8.93839375817712e-14	9.98962025196711e-10
ENSMMUG00000022536	Fructose-Bisphosphatase 1 (FBP1)	Enzima que regula la gluconeogénesis, cataliza la hidrólisis de fructosa 1,6-bifosfato a fructosa 6-fosfato y fosfato inorgánico.	-5.347895142	1.1508779092128e-13	9.98962025196711e-10
ENSMMUG00000064735	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase (HAAO)	Cataliza la apertura del anillo oxidativo del 3-hidroxi-antranilato a semialdehído 2-amino-3-carboximuconato.	-3.601303728	5.60064125835499e-12	3.24090440816808e-08
ENSMMUG00000032143	Cytochrome P450 family 4 subfamily A member 11 (CYP4A11)	Codifica un miembro de la superfamilia de enzimas del citocromo P450, involucrado en el metabolismo de fármacos y síntesis de colesterol, esteroides y otros lípidos.	-6.978420191	8.6543327438662e-12	3.75598041083793e-08

ENSMMUG0000008087	Glucose-6-phosphatase catalytic subunit (G6PC1) 1	Proporciona instrucciones para producir una enzima llamada glucosa 6-fosfatasa, es el principal regulador de la producción de glucosa en el hígado.	-5.855013645	1.38101613946957e-11	4.52992827251607e-08
ENSMMUG0000064753	Reverse transcriptase domain-containing protein	Realiza una copia de DNA del RNA	-7.644394617	1.56564341215993e-11	4.52992827251607e-08
ENSMMUG0000053949	V-Set Pre-B Cell Surrogate Light Chain 3 (VPREB3)	Se relaciona con la maduración de las células B	-7.423493821	1.64997813155295e-10	3.74051370134419e-07
ENSMMUG0000022586	Phosphoenolpyruvate Carboxykinase 1 (PCK1)	Punto de control principal para la regulación de la gluconeogénesis.	-6.777553663	1.79176985395677e-10	3.74051370134419e-07
ENSMMUG0000006891	Aldo-keto reductase family 7 member A3 (AKR7A3)	Involucrado en la desintoxicación de aldehídos y cetonas	-6.284129548	1.9392064119872e-10	3.74051370134419e-07
ENSMMUG0000007308	Serpin Family A Member 6 (SERPINA6)	Codifica una proteína alfa-globulina con propiedades de unión a corticosteroides, involucrada en el transporte de glucocorticoides y progestágenos en la sangre.	-6.305657026	2.94052967348324e-10	5.10475951316691e-07

7.2 Resultados de *H. sapiens*

7.2.1 BoxPlots con datos no normalizados de humano

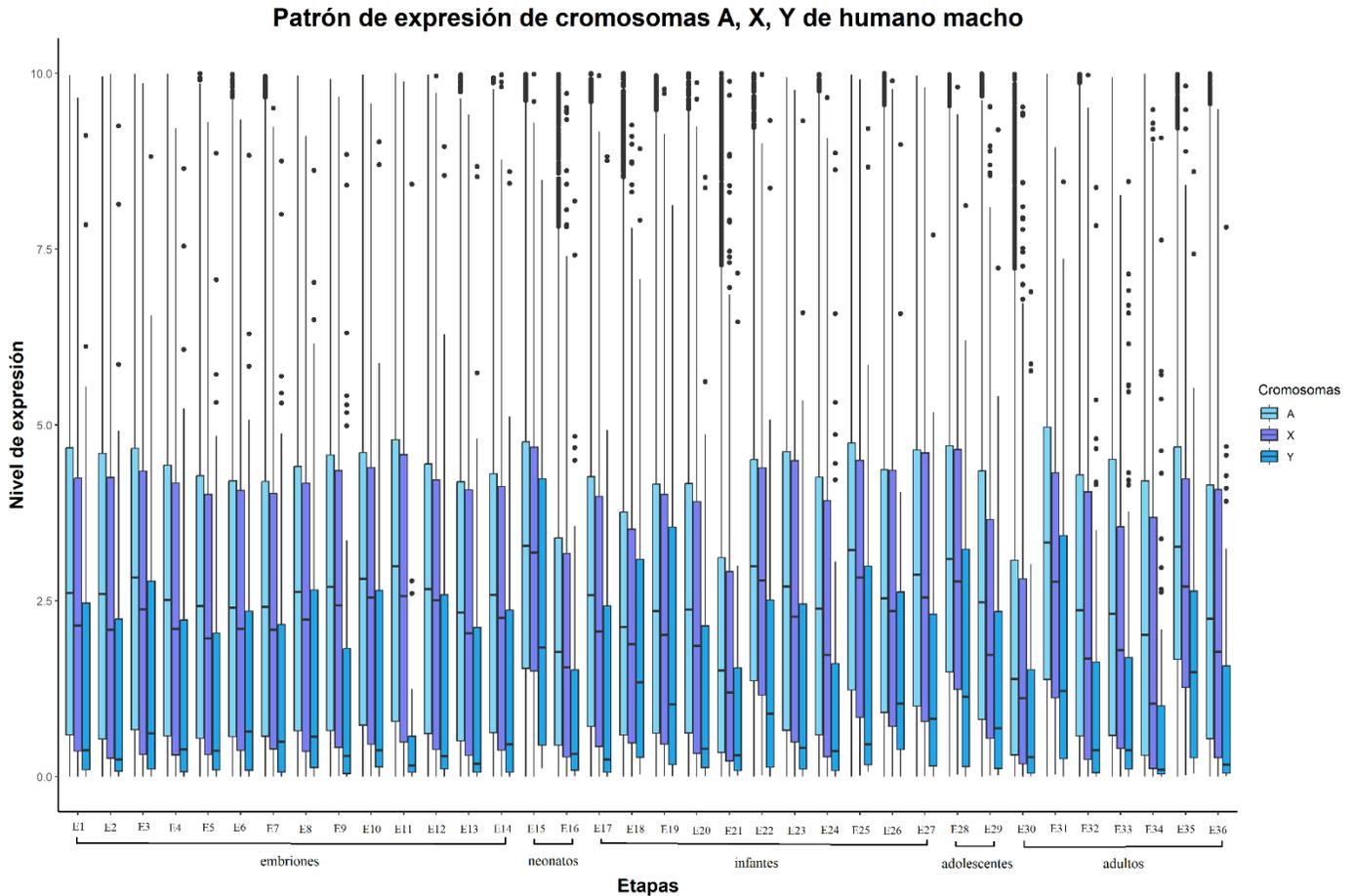


Figura 18. Comparación del patrón de expresión entre cromosomas autosomales, X y Y de humano macho no normalizados.

Podemos observar el nivel de expresión que alcanzan los diferentes cromosomas de humano macho (autosomales, X y Y), a lo largo de treinta y seis etapas diferentes de desarrollo, desde embriones hasta adultos. La mediana del cromosoma Y queda por debajo de las medianas de los cromosomas autosomales y X a lo largo de las diferentes etapas.

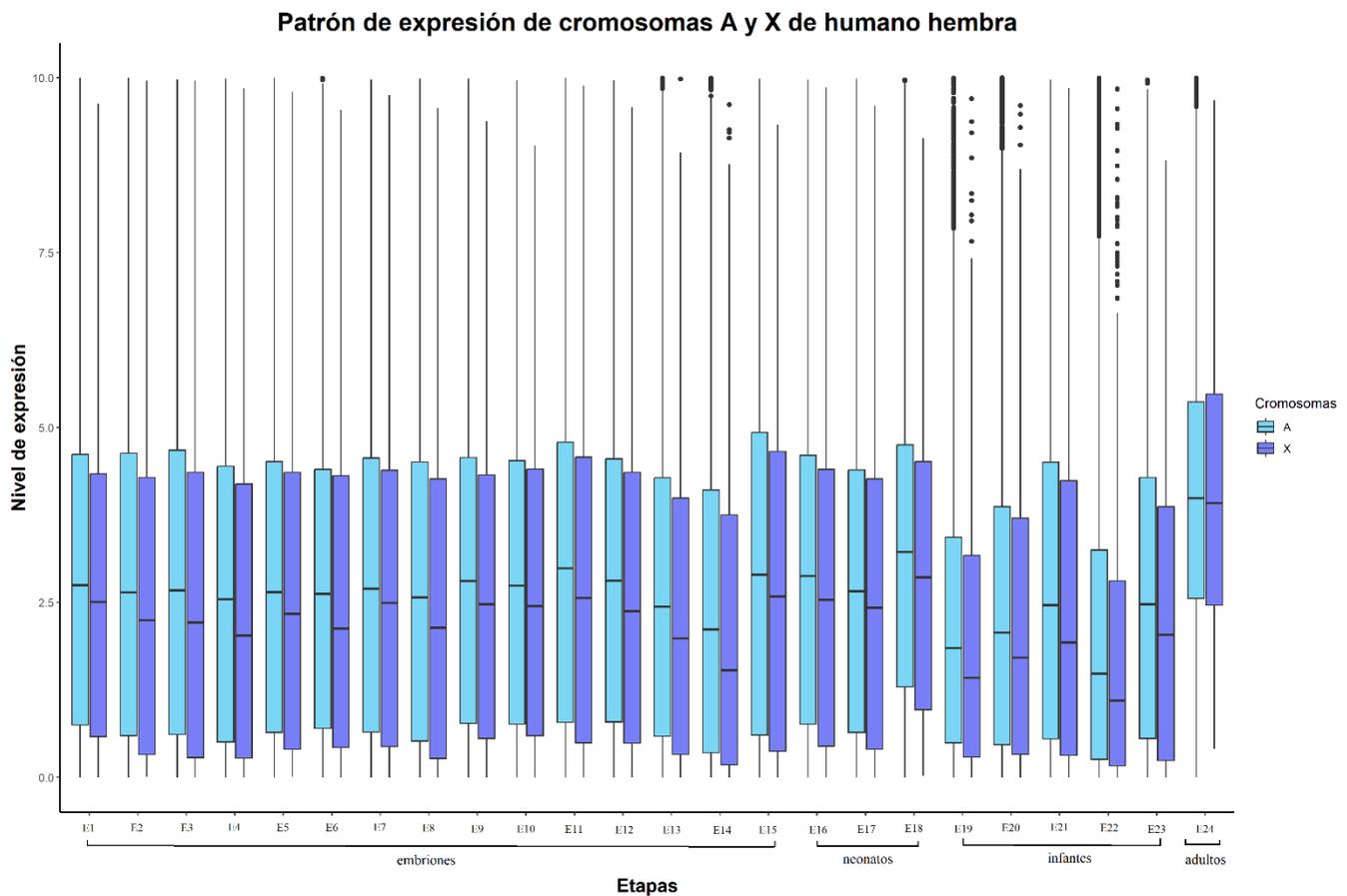


Figura 19. Comparación del patrón de expresión entre cromosomas autosomales y X de humano hembra no normalizados.

Se observa el nivel de expresión que alcanzan los diferentes cromosomas de humano hembra (autosomales y X), a lo largo de veinticuatro etapas diferentes de desarrollo, desde embriones hasta adultos. La mediana del cromosoma X queda por debajo de las medianas de los cromosomas autosomales a lo largo de las diferentes etapas.

7.2.2 BoxPlots con datos normalizados de humano

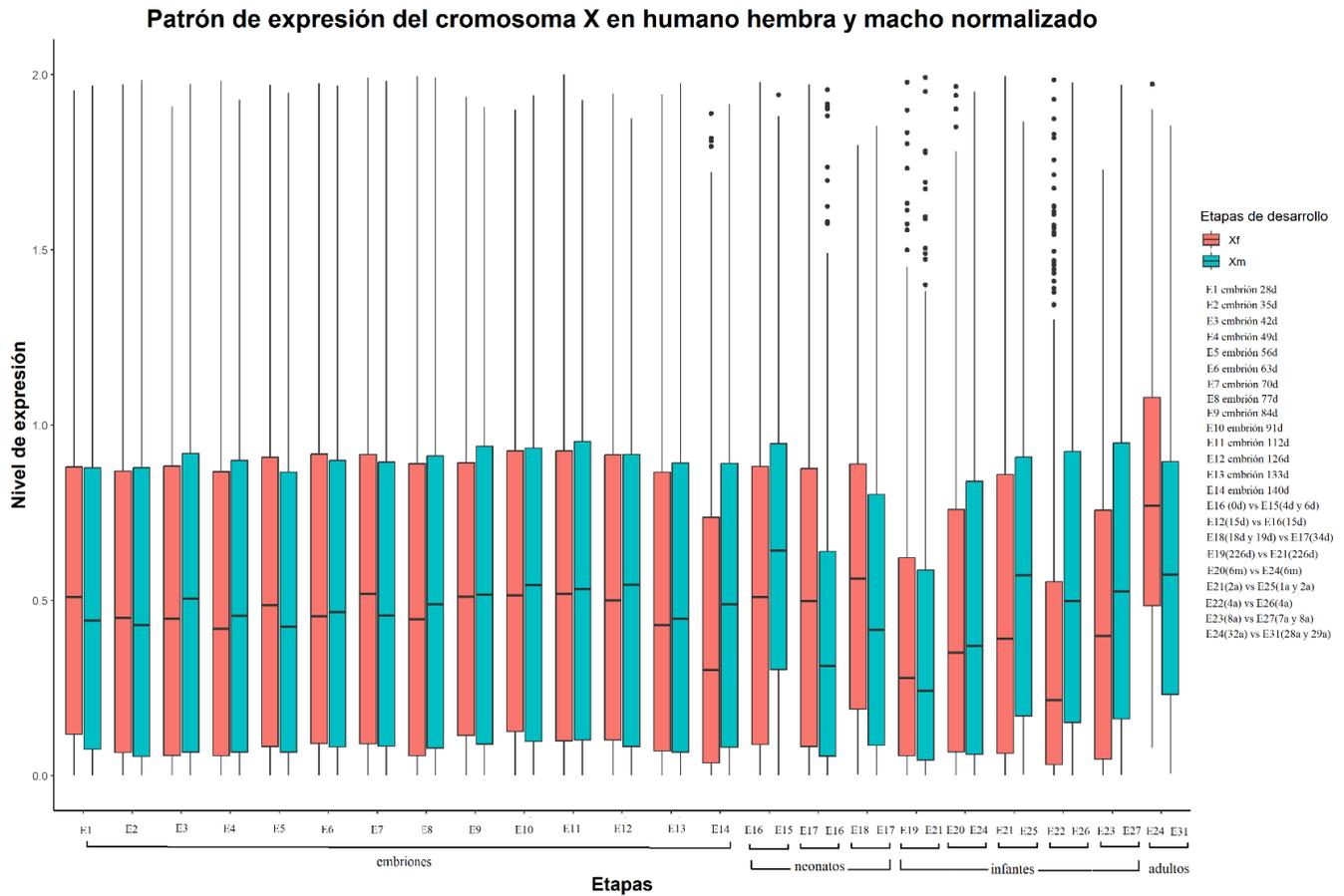


Figura 20. Comparación del patrón de expresión del cromosoma X entre hembras y machos de humano no normalizado.

En este caso podemos observar que en algunas etapas de desarrollo la mediana perteneciente al cromosoma X de machos queda por encima de la mediana perteneciente al cromosoma X de hembras, esto sucede ya que no se han normalizado los datos con los cromosomas autosomales.

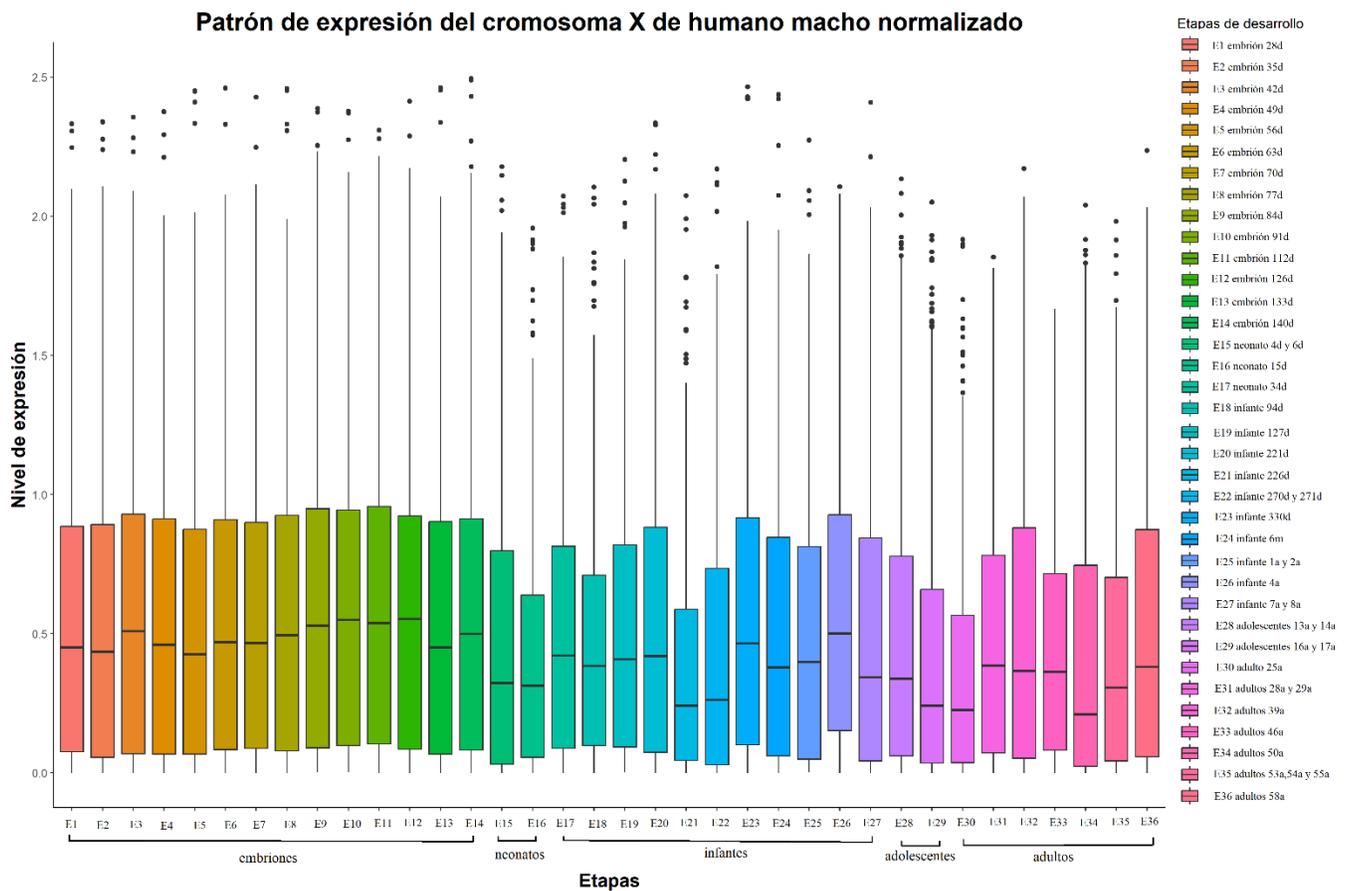


Figura 21. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano macho normalizado.

Se observa las medianas de todas las etapas más unificadas sin embargo en el caso de las medianas pertenecientes a la etapa neonatal, etapas 21 y 22 de infantes, etapas 29 y 30 en la transición de adolescentes a adultos y por último la etapa 34 de adultos de 50 años se encuentran por debajo de las medianas de las demás etapas de desarrollo, esto podría ocurrir por diferentes mecanismos de regulación celular a lo largo de toda la vida.

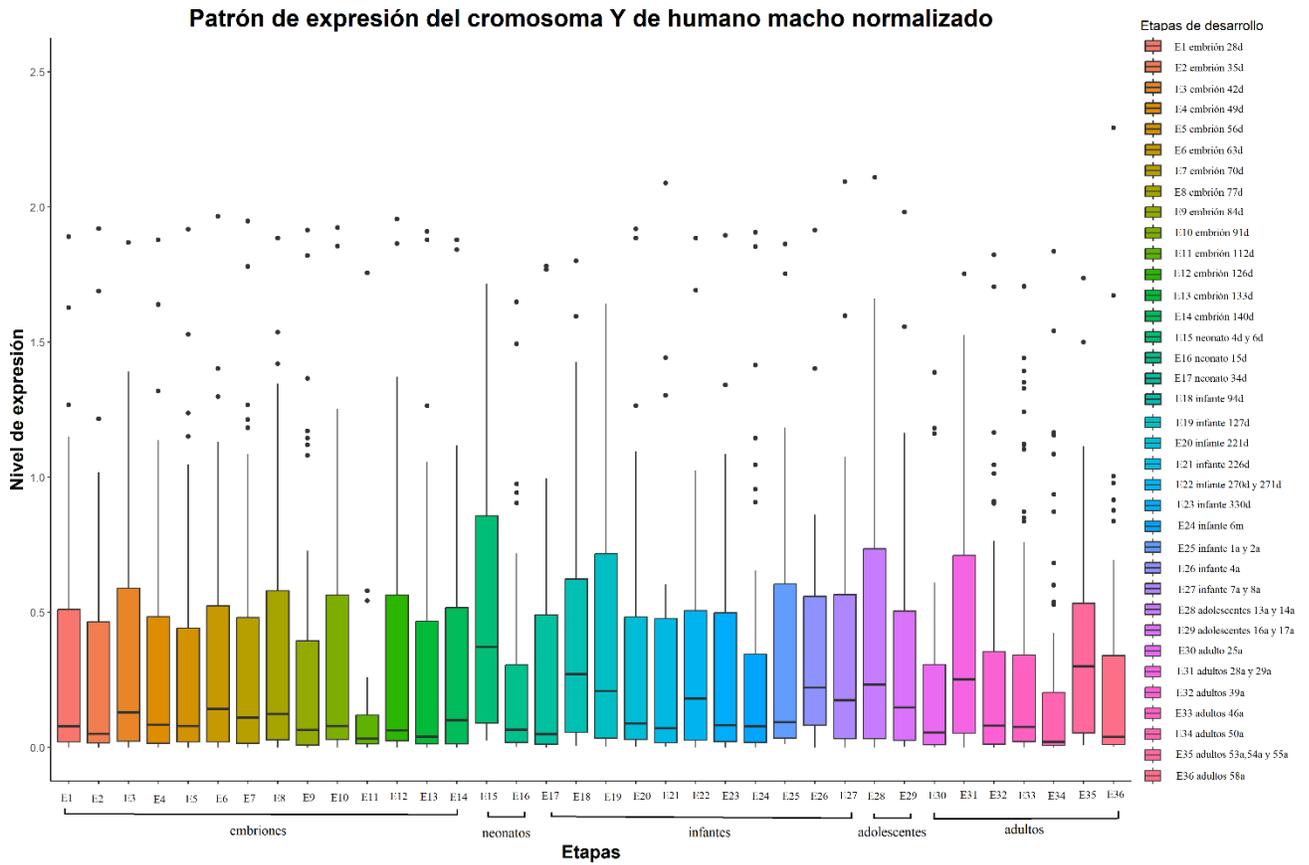


Figura 22. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma Y de humano macho normalizado.

Se observa que las medianas pertenecientes al cromosoma Y como se esperaba son las más bajas notoriamente en comparación a las medianas de las etapas pertenecientes a los cromosomas autosomales y X, esto debido a que son únicamente 217 genes pertenecientes a este cromosoma.

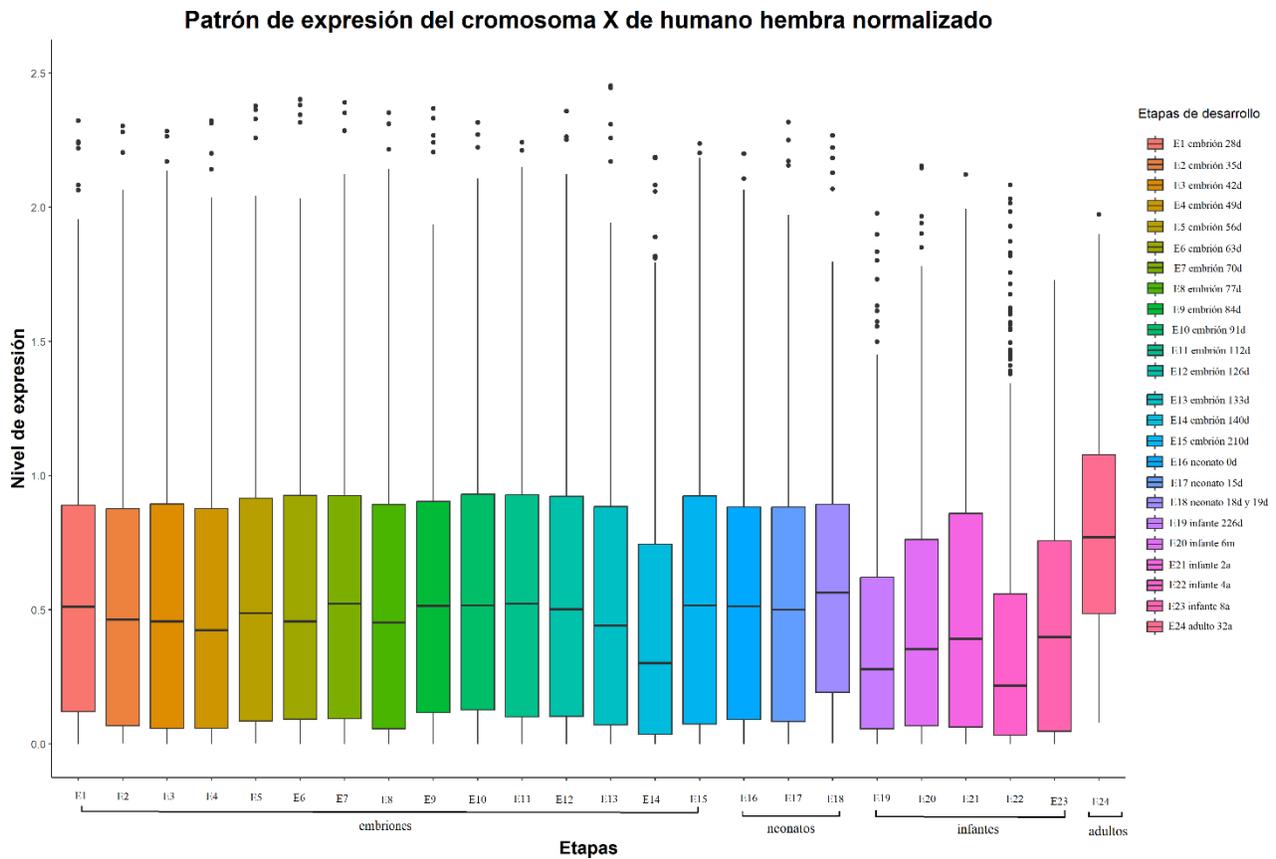


Figura 23. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano hembra normalizado.

Se observa de manera notoria que en la última etapa perteneciente a la adultez a pesar de la normalización queda por encima de todas las medianas que en general se ven uniformes, esto pudo haber ocurrido por algún sesgo de secuenciación o problemas de las muestras es por ello que no se tomará en cuenta para las pruebas de Wilcoxon.

7.2.3 Lineplots con datos normalizados de humano

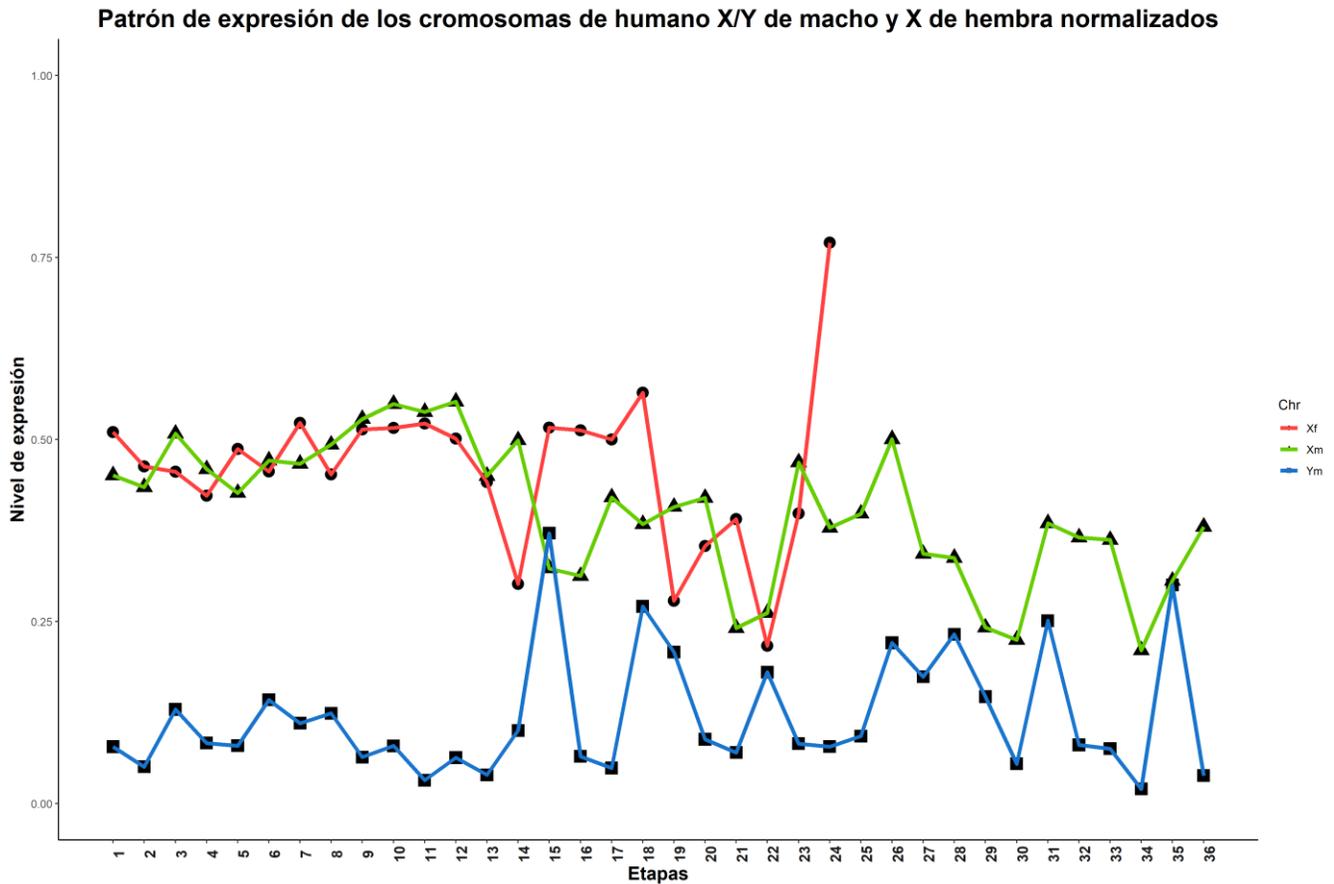


Figura 24. Lineplot de las medianas de los cromosomas sexuales de humano hembra y macho de todas las etapas.

Se puede observar un patrón esperado en el cromosoma Y el cuál queda por debajo del cromosoma X de macho y hembra, excepto por el caso de la mediana perteneciente a la etapa quince en la cual queda ligeramente por encima de la mediana del cromosoma X de macho, esto podría ocurrir por una sobreexpresión en esta etapa en concreto de los genes pertenecientes al cromosoma Y debido al primer desarrollo postnatal de las gónadas sexuales masculinas. En el caso del cromosoma X de hembras se encuentran las medianas por encima del cromosoma X de macho en la mayor parte de las etapas de desarrollo, comportamiento esperado ya que los machos solo poseen un cromosoma X a diferencia de las hembras que, a pesar del proceso de compensación de dosis, los genes que escapan de la inactivación del cromosoma X se estarán expresando en mayor o menor medida a largo del período de vida.

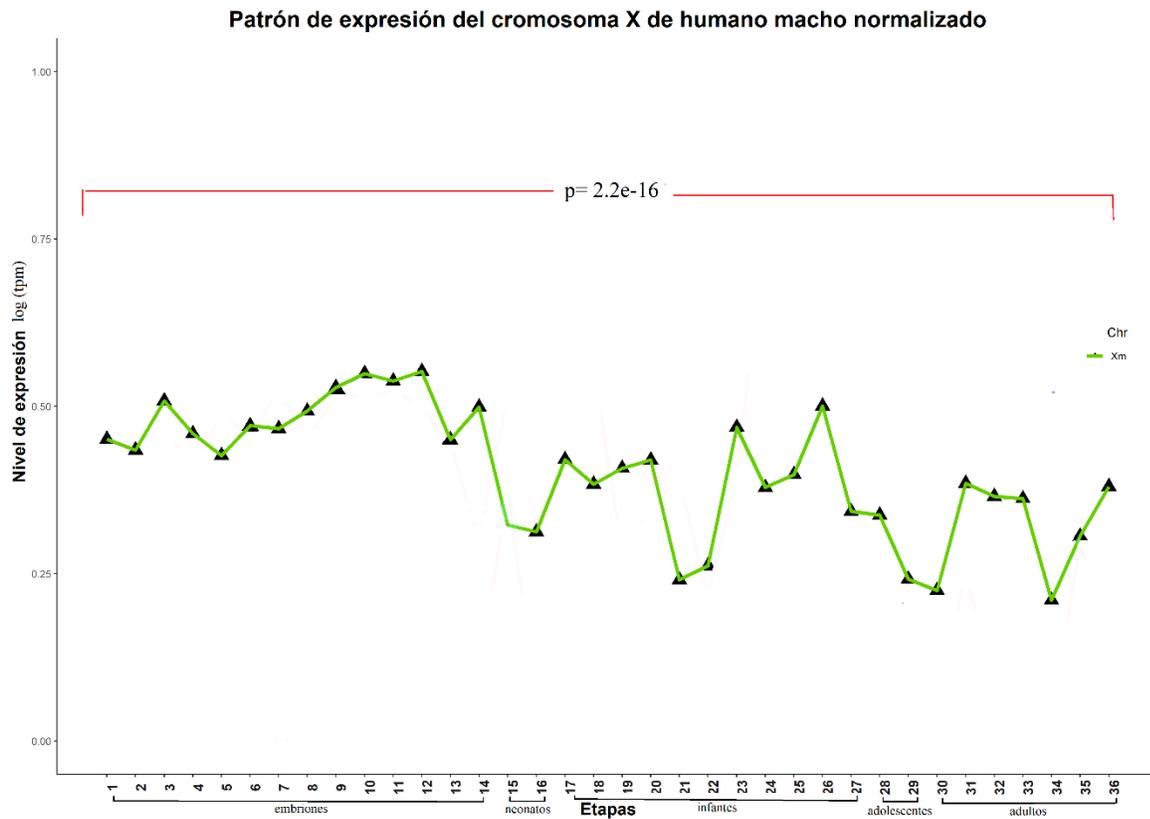


Figura 25. Lineplot de las medianas del cromosoma X de humano macho de todas las etapas.

Se observan los valores de significancia de la prueba de Wilcoxon entre las primeras 12 etapas de desarrollo embrionario vs las últimas 12 etapas que abarcan desde la infancia hasta la vida adulta, en este caso las pruebas que tu tuvieron un valor de significancia menor o igual a $p= 0.05$ fueron las siguientes:

Tabla 4. Etapas con significancia de la prueba de Wilcoxon

Etapas	Valor de p
E2 vs E35	$p= 5.557e-06$
E3 vs E34	$p= 7.842e-13$
E4 vs E33	$p= 0.007012$
E6 vs E31	$p= 0.003676$

E7 vs E30	p= 3.448e-14
E8 vs E29	p= 7.291e-14
E9 vs E28	P= 4.954e-06
E10 vs E27	P= 5.336e-07
E12 vs E25	P= 5.145e-05

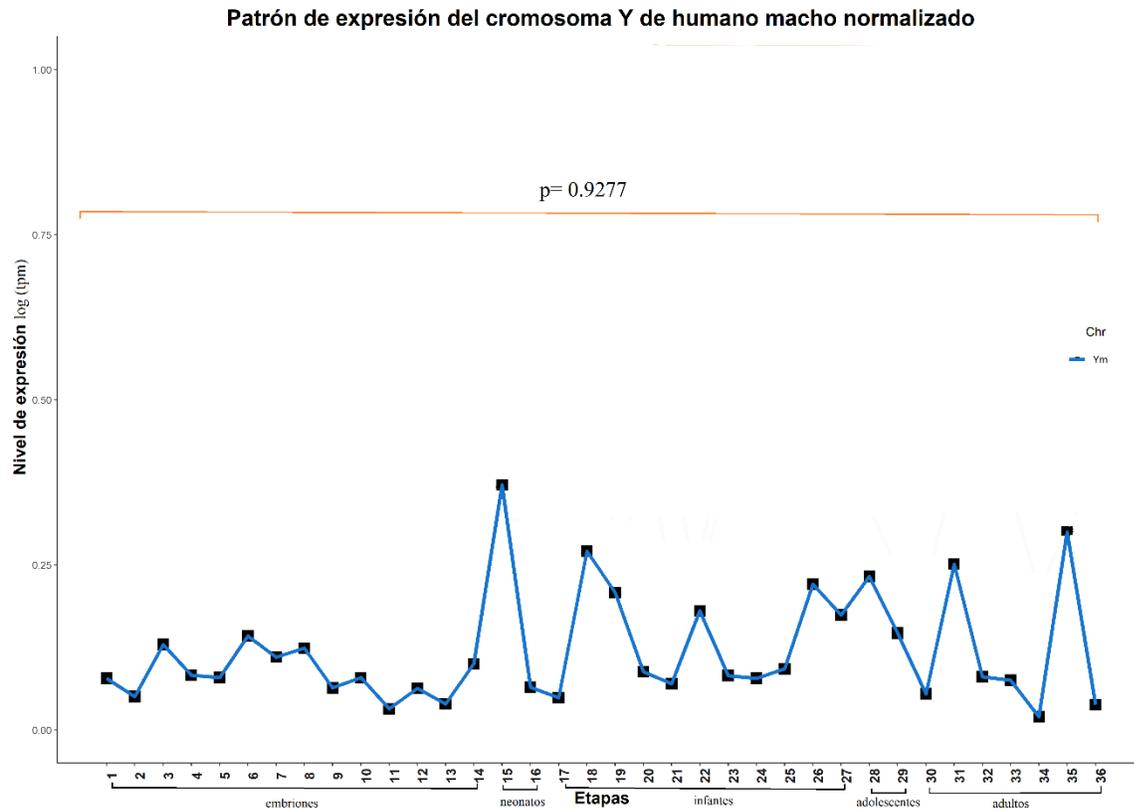


Figura 26. Lineplot de las medianas del cromosoma Y de humano macho de todas las etapas.

Igualmente se realizó la prueba de Wilcoxon entre las primeras 12 etapas de desarrollo embrionario vs las últimas 12 etapas que abarcan desde la infancia hasta la vida adulta, en este caso las pruebas que tu tuvieron un valor de significancia menor o igual a $p= 0.05$ fueron las siguientes:

Tabla 5. Etapas con significancia de la prueba de Wilcoxon

Etapas	Valor de p
E2 vs E35	p= 0.04121
E3 vs E34	p= 0.01194
E11 vs E26	p= 0.003946

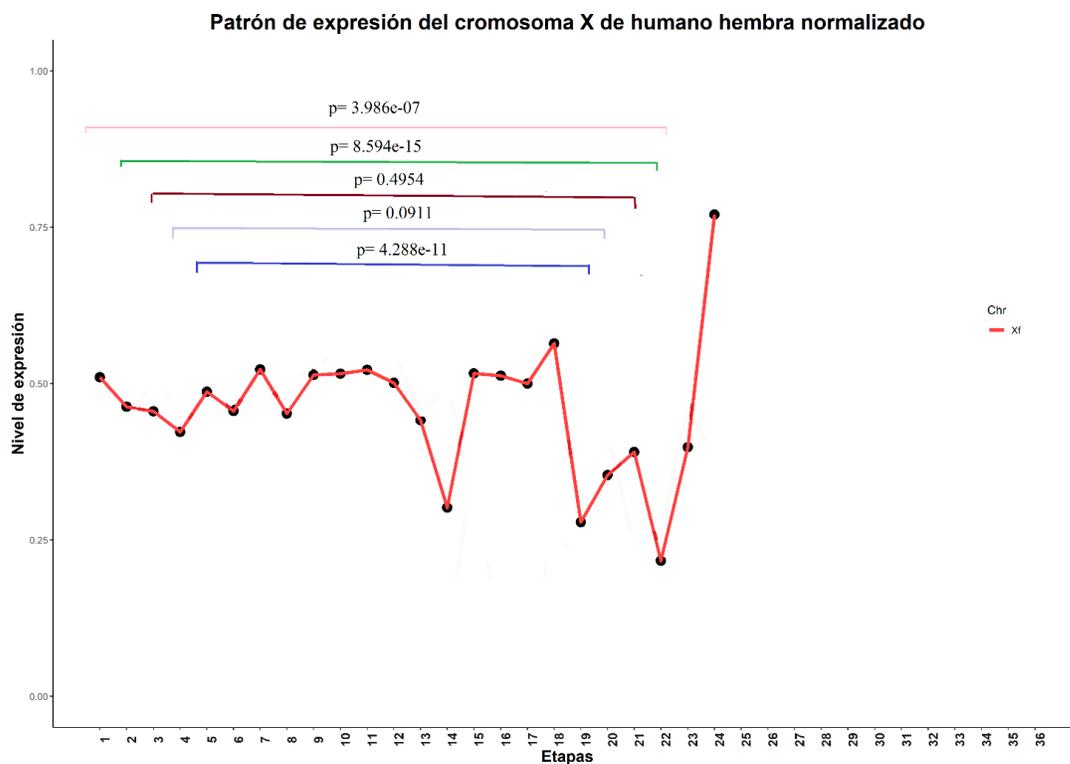


Figura 27. Lineplot de las medianas del cromosoma X de humano hembra de todas las etapas.

Se observan los valores de significancia de la prueba de Wilcoxon entre las primeras 5 etapas de vidas vs las últimas 5, en este caso las pruebas que tu tuvieron un valor de significancia menor o igual a $p= 0.05$ fueron las siguientes:

Tabla 6. Etapas con significancia de la prueba de Wilcoxon

Etapas	Valor de p
E1 vs E23	p= 3.986e-07
E2 vs E22	p= 8.594e-15
E5 vs E19	p= 4.288e-11

7.2.4 Expresión diferencial de *H. sapiens*

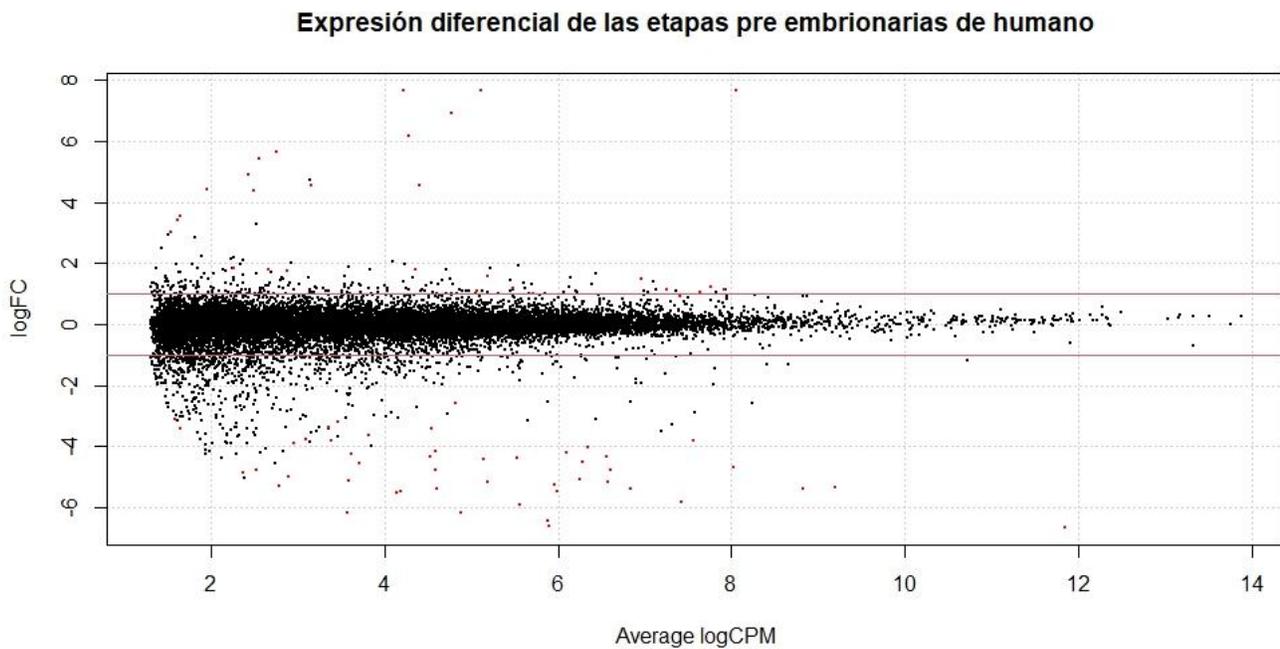


Figura 28. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales, X y Y de las etapas pre embrionarias de humano hembra y macho.

Se observa con los puntos de color rojo que hay una ligera mayor cantidad de genes pertenecientes a machos, los cuáles se encuentran en la parte inferior con un logFC negativo.

Expresión diferencial de las etapas pre embrionarias de humano sin en el cromosoma Y

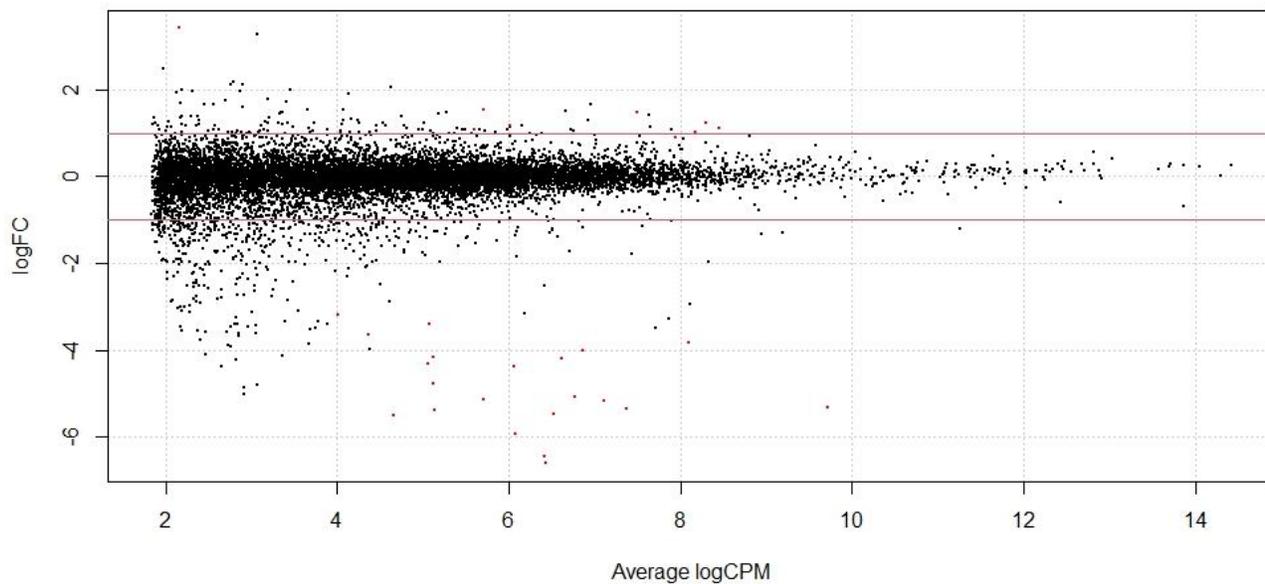


Figura 29. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales y X de las etapas pre embrionarias de humano hembra y macho.

Existen muy pocos genes con expresión diferencial el caso de los cromosomas autosomales y X, los cuáles poseen funciones implicadas en la regulación celular y el desarrollo de la respuesta inmune.

Expresión diferencial de las etapas post embrionarias de humano

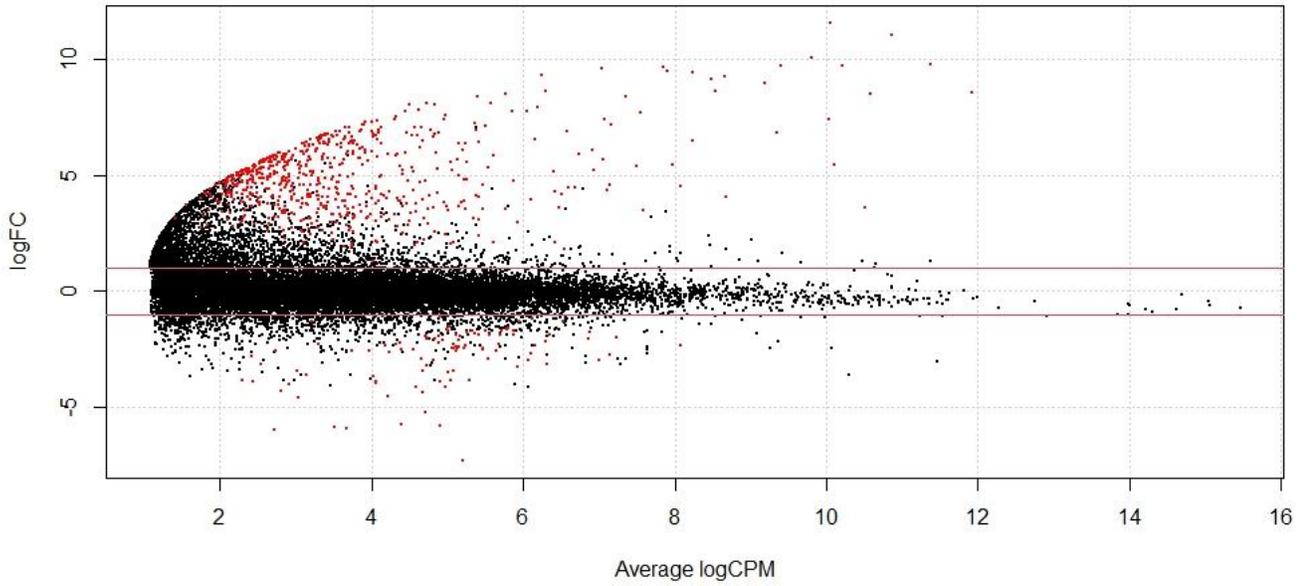


Figura 30. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales, X y Y de las etapas post embrionarias de humano hembra y macho.

A diferencia de los gráficos de volcán de las etapas pre embrionarias, observamos una mayor cantidad de genes con expresión diferencial pertenecientes a las hembras.

Expresión diferencial de las etapas post embrionarias de humano sin el cromosoma Y

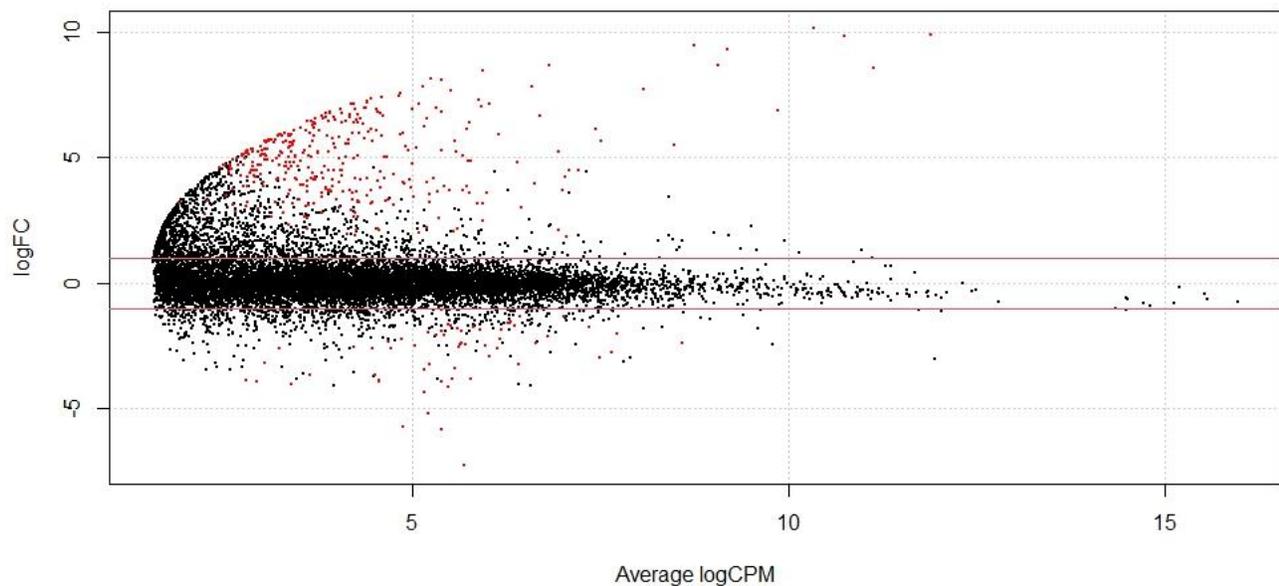


Figura 31. Gráfico de volcán de la expresión diferencial de genes de los cromosomas autosomales y X de las etapas post embrionarias de humano hembra y macho.

En este caso, igualmente se siguen observando una cantidad considerable de genes con expresión diferencial pertenecientes a las hembras ya que su logFC es positivo y se encuentran en la parte superior.

Tabla 7. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas pre embrionarios de los cromosomas autosomales, X y Y de humano hembra y macho.

Id	Gen	Función	Observaciones	logFC	PValue	FDR
ENSG00000067048	DEAD-Box Helicase 3 Y-Linked (DDX3Y)	Codifica a proteínas para la unión de ATP, hidrólisis, unión de RNA y forma interacciones intramoleculares	Mutaciones presentes en este gen resultan en infertilidad masculina.	8.143928077	9.36300559046602e-57	1.82204088790469e-52
ENSG00000129824	Ribosomal Protein S4 Y-Linked 1 (RPS4Y1)	Cataliza la síntesis de proteínas y codifica la proteína S4.	Se asocia con el síndrome de Turner.	9.751105089	6.65502014098997e-56	6.47533459718324e-52
ENSG00000131002	Taxilin Gamma Pseudogene, Y-Linked (TXLNXY)	Produce anticuerpos y proteínas que se continúan investigando.		7.452747541	6.52665980079518e-49	4.23362665744914e-45
ENSG00000012817	Lysine Demethylase 5D (KDM5D)	Codifica una proteína que contiene dominios con dedos de zinc.	Se asocia con Insuficiencia espermatogénica, ligada al Y, 2 (SPGFY2).	6.178622931	2.01847349256603e-47	9.81987354133373e-44
ENSG00000114374	Ubiquitin Specific Peptidase 9 Y-Linked (DFFRY)	Miembro de la familia de las peptidasas C19, codifica a proteínas.	Se asocia con insuficiencia espermatogénica y delección parcial de Y.	4.555969508	8.52881398830609e-43	3.31941440424873e-39
ENSG00000198692	Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A Y-Linked (EIF1AY)	Codifica una proteína relacionada con el factor EIF1A.		6.935474578	7.31165929794796e-41	2.37141483230112e-37
ENSG00000183878	Ubiquitous and Transcribed Tetratricopeptide Repeat Containing, Y-Linked (UTY)	Codifica una proteína que contiene repeticiones tetratricopeptídicas.		5.632735429	1.69516300283277e-26	4.71255314787509e-23

ENSG00000067646	Zinc Finger Protein Y-Linked (ZFY)	Codifica una proteína que contiene dedos de zinc que puede funcionar como factor de transcripción.	Su gen parólogo es ZFX y está asociado con la displasia campo mélica que afecta el sistema reproductivo masculino.	5.448283665	1.39635971921308e-24	3.39664501698583e-21
ENSG00000099725	Protein Kinase Y-Linked (PRKY)	Pseudogén.	La recombinación anormal con un gen relacionado en el cromosoma X es una causa frecuente de varones XX y mujeres XY.	4.381112892	1.38745210525731e-19	2.99997977425636e-16
ENSG00000165246	Neurologin 4 Y-Linked (NLGN4Y)	Codifica una proteína de membrana tipo I que pertenece a la familia de las neuroliginas.	Pueden ser esenciales para la formación de sinapsis funcionales.	4.904130785	1.18878290326155e-18	2.31337152974699e-15

Tabla 8. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas pre embrionarios de los cromosomas autosomales y X de humano hembra y macho.

Id	Gen	Función	Observaciones	logFC	Pvalue	FDR
ENSG00000002586	CD99 Molecule (Xg Blood Group)	Codifica a una glicoproteína de superficie celular involucrada en la migración de leucocitos, adhesión de células T y el transporte de proteínas transmembrana, y la muerte de células T.	Se encuentra en la región pseudoautosómica de los cromosomas X e Y, escapa a la inactivación de X.	1.018945334	2.95829998865018e-09	3.57540136628261e-05
ENSG00000106689	LIM Homeobox 2 (LHX2)	Actúa como activador transcripcional.	Las enfermedades asociadas son aniridia y coloboma ocular.	-4.162804616	1.39854678484046e-08	8.45141822079088e-05
ENSG00000163453	Insulin Like Growth Factor Binding Protein 7 (IGFBP 7)	Estimula la producción de prostaciclina y la adhesión celular.	Se asocia a la angiopatía diabética.	1.471922236	2.03704064768923e-07	0.000820656
ENSG00000169908	Transmembrane 4 L Six Family Member 1 (TM4SF 1)	Implicada en la regulación del desarrollo, la activación, el crecimiento y la motilidad celular.		1.541464826	4.46794736943461e-07	0.00134999
ENSG00000286265	Solute Carrier Family 25 Member 6 (SLC25 A6)	Regula la liberación de productos mitocondriales que inducen la apoptosis.		3.412744148	6.61934891800832e-07	0.001359146

ENSG000000 91583	Apolipoprotein H (APOH)	Está implicado en el metabolismo de las lipoproteínas, la coagulación y la hemostasia.		- 5.47742 9641	7.4149088695 9268e-07	0.001359146
ENSG000001 30158	Dedicator Of Cytokinesis 6 (DOCK6)	Desempeña un papel en la reorganización del citoesqueleto de actina al activar las Rho GTPasas Cdc42 y Rac1.	Se asocia al síndrome de Adams Oliver (SAO)	1.07943 7318	7.8719363353 4933e-07	0.001359146
ENSG000001 71560	Fibrinogen Alpha Chain (FGA)	Codifica la subunidad alfa del factor de coagulación fibrinógeno, que es un componente del coágulo sanguíneo.	Se asocia a la fibrinogenemia congénita.	- 6.61277 0702	9.6607520233 2679e-07	0.001366449
ENSG000001 60870	Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A Member 7 (CYP3A7)	Participa en el metabolismo de fármacos y en la síntesis de colesterol, esteroides y otros lípidos.		- 5.37815 1886	1.0266387767 2871e-06	0.001366449

ENSG000001 71557	Fibrinog en Gamma Chain (FGG)	Regulan la adhesión y la propagación celular, muestran actividades vasoconstric toras y quimiotácti cas, son mitógenos para varios tipos de células.	Se asocia a la trombofilia.	- 6.43428 2493	1.2221846178 0302e-06	0.001366449
---------------------	---	---	--------------------------------	----------------------	--------------------------	-------------

Tabla 9. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas post embrionarios de los cromosomas autosomales, X y Y de humano hembra y macho.

Id	Gen	Función	Observaciones	logFC	Pvalue	FDR
ENSG00000067048	DEAD-Box Helicase 3 Y-Linked (DDX3Y)	Codifica a una proteína involucrada en la unión de ATP, hidrólisis y unión de ARN.	Tiene gran similitud con el gen DDX3X, mutaciones en DDX3Y resulta en infertilidad masculina.	8.3854641	7.18651293493469e-45	1.5786612964171e-40
ENSG000000129824	Ribosomal Protein S4 Y-Linked 1 (RPS4Y1)	Codifica a la proteína ribosomal S4, componente de la subunidad 40s.	Se asocia con el síndrome de Turner.	7.087645246	2.8692383943285e-31	3.15142799041071e-27
ENSG000000198692	Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A Y-Linked (EIF1AY)	Codifica a una proteína relacionada con el factor de iniciación EIFA que puede estabilizar la unión del iniciador Met-tRNA a las subunidades ribosómicas 40S.		7.403675251	1.58846795365333e-26	1.16312918459676e-22
ENSG000000131002	Taxilin Gamma Pseudogene, Y-Linked (TXLNGY)	Pseudogen que habilita la actividad de unión de syntaxina.		6.196751477	8.74302900681337e-26	4.80145295481674e-22
ENSG000000114374	Ubiquitin Specific Peptidase 9 Y-Linked (DFFRY)	Previene la degradación de las proteínas mediante la eliminación de la ubiquitina.	Se asocia con la insuficiencia espermatogénica y deleción parcial de Y.	4.309892156	3.5089420959022e-20	1.54161862041367e-16
ENSG000000012817	Lysine Demethylase 5D (KDM5D)	Codifica una proteína que contiene	Se asocia con Insuficiencia espermatogé	3.897482016	5.74088187886598e-17	2.10183253721748e-13

		dominios con dedos de zinc.	nica, ligada al Y, 2 (SPGFY2).			
ENSG00000067646	Zinc Finger Protein Y-Linked (ZFY)	Codifica una proteína que contiene dedos de zinc que puede funcionar como factor de transcripción.	Su gen parálogo es ZFX y está asociado con la displasia campomélica que afecta el sistema reproductivo masculino.	4.936335174	2.29682897531387e-11	7.20777744295997e-08
ENSG00000183878	Ubiquitousl y Transcribed Tetratricopeptide Repeat Containing, Y-Linked (UTY)	Codifica una proteína que contiene repeticiones tetratricopeptídicas.		4.680682511	1.24727270414886e-10	3.42485493650476e-07
ENSG00000244444	EGF like domain multiple 8 (EGFL8)	Habilita la unión del receptor de señalización	Está implicado en el desarrollo embrionario en el útero.	-7.296538174	1.40523372455257e-10	3.42986324747181e-07
ENSG00000248643	RBM14-RBM4 Readthrough (RBM14-RBM4)	Representa la transcripción entre los genes vecinos RBM14 y RBM4.	Se asocia con la úlcera corneal marginal y pseudopterigión.	-5.219247361	1.64224667047085e-09	3.60752326102331e-06

Tabla 7. Top tags de los 10 genes con mayor expresión diferencial de las etapas post embrionarios de los cromosomas autosomales y X de humano hembra y macho.

Id	Gen	Función	Observaciones	logFC	Pvalue	FDR
ENSG0000024444	EGF like domain multiple 8 (EGFL8)	Habilita la unión del receptor de señalización	Está implicado en el desarrollo embrionario en el útero.	-7.296733227	1.35996052197593e-10	1.78358822457143e-06
ENSG00000248643	RBM14-RBM4 Readthrough (RBM14-RBM4)	Representa la transcripción entre los genes vecinos RBM14 y RBM4.	Se asocia con la úlcera corneal marginal y pseudopterigión.	-5.223015816	1.50286660244401e-09	9.85504774552663e-06
ENSG00000232472	Eukaryotic Translation Elongation Factor 1 Beta 2 Pseudogene 3 (EEF1B2P3)	Implicado en en el paso de elongación de la traducción y media el intercambio de GDP/GTP en E1FA.	Se encuentra frecuentemente sobreexpresado en células cancerosas	-5.825764269	1.41624913587027e-08	4.17644613364475e-05
ENSG00000188257	Phospholipase A2 Group IIA (PLA2G2A)	Implicado en la defensa antimicrobiana, la respuesta inflamatoria y la regeneración de tejidos	Promueve la respuesta inmunitaria innata	9.473651763	1.4681300473388e-08	4.17644613364475e-05
ENSG00000164330	EBF Transcription Factor 1 (EBF1)	Activa genes específicos de células B y controla genes termogénicos en los adipocitos en respuesta al frío ambiental	Se prevee que será parte de la cromatina	-3.832023302	1.59224023394768e-08	4.17644613364475e-05

ENSG00000242252	Bone Gamma-Carboxyglutamate Protein (BGLAP)	Codifica una proteína ósea muy abundante secretada por los osteoblastos que regula la remodelación ósea y el metabolismo energético	Se asocia a la osteítis fibrosa	- 3.857668342	3.74869878179047e-08	8.19403075386367e-05
ENSG00000257017	Haptoglobin (HP)	Produce cadenas alfa y beta, para formar haptoglobina en el hígado	Previene la pérdida de hierro a través de los riñones y los riñones del daño de la hemoglobina	9.871233508	5.53052608118306e-08	0.000103618
ENSG00000167748	Kallikrein 1 (KLK1)	Subgrupo de serina proteasas que tienen diversas funciones fisiológicas	Implicada en la carcinogénesis, tienen potencial como nuevos biomarcadores de cáncer	- 5.757433054	1.09445925068976e-07	0.000170558
ENSG00000138642	HECT And RLD Domain Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase Family Member 6 (HERC6)	Catalizará la formación de un tioéster con ubiquitina antes de transferirlo a un sustrato específicos		- 3.917984928	1.17043269053894e-07	0.000170558
ENSG00000075886	Tubulin Alpha 3d 8 (TUBA3D)	Implicado en el transporte intracelular, desempeñan un papel en la formación del huso durante la mitosis		5.304322187	1.49374139893831e-07	0.000194611

8. Discusión

En el caso de los boxplot tanto como del cromosoma X y Y, pudimos observar que existen algunas etapas con un nivel de significancia por debajo de $p= 0.05$ por lo que son significativamente diferentes, el objetivo general se cumple, sí existen cambios en los patrones de expresión de genes a lo largo de la vida de ambas especies. En el cromosoma X en hembras específicamente la mayoría de los genes en uno de sus dos cromosomas X están silenciados a nivel transcripcional, por lo que deriva en mujeres adultas con mosaicismo natural (Sahakyan, A. *et al.*, 2017), un 10% de genes adicional muestra patrones variables de inactivación y se expresan en diferentes grados de algunos cromosomas inactivos, lo que sugiere una heterogeneidad de expresión entre hembras (Carrel y Willard, 2005), por lo que se espera que el nivel de dosis en el cromosoma X de hembras, varíe significativamente a lo largo de su período de vida ya que los genes se van expresar en menor o mayor dosis dependiendo de factores ambientales a los que se encuentre expuestos o algún tipo de estrés celular derivado de algunas mutaciones en sus genes con funciones que desarrollan la respuesta inmunitaria como los que se observan en la (Tabla 7), las cuáles resultan en enfermedades autoinmunes (Li, J. *et al.*, 2022), más del 80% de las enfermedades autoinmunes afectan principalmente a las mujeres como el Lupus, este sesgo se vincula a la dosis de los genes inmunitarios ligados al cromosoma X. El escape de genes de la inactivación del cromosoma Xi como mecanismo de compensación de dosis (Nguyen y Disteché, 2005), muestra un escape variable, a nivel de individuo y tejidos (Berletch *et al.*, 2011). La expresión de Xi puede cambiar con el tiempo durante el desarrollo o la edad adulta, los genes de escape pueden silenciarse inicialmente seguidos de una reactivación durante el desarrollo o con el envejecimiento (Schoeftner *et al.*, 2009).

En los gráficos de volcán que representan los genes con expresión diferencial de humano en los cromosomas sexuales y autosomales (como control) así como en los que únicamente están presentes genes autosomales y el cromosoma X podemos observar que la mayor parte de genes con expresión diferencial pertenecen a las hembras en el caso de las etapas post embrionarias (Figura 30 y 31), que abarca las etapas de neonatos, infantes y adultos en contraste de los gráficos de las etapas pre embrionarias (Figura 28 y 29), que son muy pocos genes con expresión diferencial para ambos gráficos de los casos de estudio.

Esto se le puede atribuir de diversas maneras a las hormonas, los cromosomas sexuales, los efectos del genotipo x sexo, las diferencias en el comportamiento y las diferencias en las exposiciones ambientales, sin embargo, siguen siendo en gran parte una incógnita. Se sabe que aquellos genes que presentan expresión diferencial están involucrados en un conjunto de diversas funciones biológicas, como respuesta a fármacos y hormonas, el desarrollo embrionario y la morfogénesis de tejidos, la fertilización, la reproducción sexual y la espermatogénesis, el metabolismo de las grasas, cáncer y la respuesta inmune. (Olivia, M. *et al.*, 2020).

9. Conclusiones

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que la hipótesis no se rechaza, ya que los patrones de los cromosomas sexuales tanto de humano como de macaco si sufren algún cambio ya que su nivel de significancia es menor a $p= 0.005$ en el nivel de expresión en algunas etapas a lo largo de la vida, esto derivado de la desigualdad de dosis de los cromosomas sexuales, como los efectos de la expresión de los genes del cromosoma Y, las diferencias en la dosis de los genes del cromosoma X y los efectos epigenéticos que pueden llegar a influir en la salud y ciertas enfermedades que se presentan en la vejez (Arnold, 2017).

10. Perspectivas

El estudio de los lncRNA es reciente ya que anteriormente se pensaba que no cumplían alguna función en concreto, pero actualmente se sabe que son muy importantes en la regulación génica como la diferenciación celular y el desarrollo de tejidos (Lopes-Ramos, 2020), *Xist* es un lncRNA el cuál solo está activo en Xi y es capaz de desencadenar la represión transcripcional en fragmentos cromosómicos amplios (Li, J. *et al.*, 2022), se ha estudiado que está involucrado en algunas enfermedades que están presentes en la vida adulta porque se expresa de manera anormal en algunas enfermedades con sesgo sexual ya que al tener un contenido de genes especializados en los cromosomas sexuales da como resultado diferencias sexuales fenotípicas por lo que su expresión o modificación podría usarse como biomarcador para el diagnóstico de muchas

enfermedades con sesgo sexual como el cáncer, en un futuro se podría manipular genéticamente la expresión de *Xist* para poder inhibir estas enfermedades, por ello actualmente se propone como una posible diana terapéutica. Así que se esperaría ahora como objetivo obtener más información sobre la base molecular de las diferencias sexuales en los tejidos humanos para poder emprender terapia génica en humanos y además obtener una mayor cantidad de muestras de material biológico de los diferentes tejidos para poder continuar la investigación sobre la compensación de dosis y como los genes con expresión diferencial afectan a la longevidad y patologías que se presentan en esta etapa en concreto.

ANEXO

Anexo A

```
-open(IN, "/space30/BSyBS/abflores/output/higado_M570d/abundance.tsv") || die;      while(<IN>) {
    chomp;
    @w=split("\t");
    $w[0]=~s/\./\./$nada/g;
    $mem{$w[0]}=$w[4];
}
close(IN);

open(INN, "/space30/BSyBS/abflores/expression_genes/tabla_humano.txt") || die;      while (<INN>) {
    chomp;
    @e=split("\t");
    $e[0]=~s/\./\./$nada/g;
    $e[1]=~s/\./\./$nada/g;
    $expression{$e[0]}+=$mem{$e[1]};
}
close(INN);

open(SAL, ">human.hig.male133d.txt");
open(INN, "/space30/BSyBS/abflores/expression_genes/tabla_humano.txt") || die;
    while (<INN>) {
        chomp;
        @e=split("\t");
        $e[0]=~s/\./\./$nada/g;
        $e[1]=~s/\./\./$nada/g;
        $mem2{$e[0]}++;
        if ($mem2{$e[0]}==1) {
            print SAL "$e[0]\t$expression{$e[0]}\n";
        }
    }
}
close(INN);
```

Figura 1. Script para realizar la suma de las expresiones de cada gen de los diferentes tejidos.

```

open(IN,"macacofemale.txt") || die;
while (<IN>) {
    chomp;
    $mem=$_; $m++;
    if ($m==1) {
        open(SAL,">macacofemale.A.txt"); print SAL "Chr\t$_\n"; close(SAL);
        open(SAL,">macacofemale.X.txt"); print SAL "Chr\t$_\n"; close(SAL);
        #open(SAL,">macacofemale.Y.txt"); print SAL "Chr\t$_\n"; close(SAL);
    }
    if (/ENSMMUG/) {
        @w=split(" ");
        #print "$w[1]\n";
        $r=0;
        open(EN,"Macaca_mulatta.Mmul_10.cdna.X.fa") || die;
        while(<EN>) {
            chomp;
            if (/w[1]/) {
                $r=1;
            }
        }
        open(EN,"Macaca_mulatta.Mmul_10.cdna.Y.fa") || die;
        while(<EN>) {
            chomp;
            if (/w[1]/) {
                $r=2;
            }
        }
        if ($r==0) {
            $label="A";
            open(SAL,">>macacofemale.A.txt");

```

Figura 2. Script para separar los diferentes identificadores de los genes dependiendo al cromosoma al que pertenecen.

Anexo B

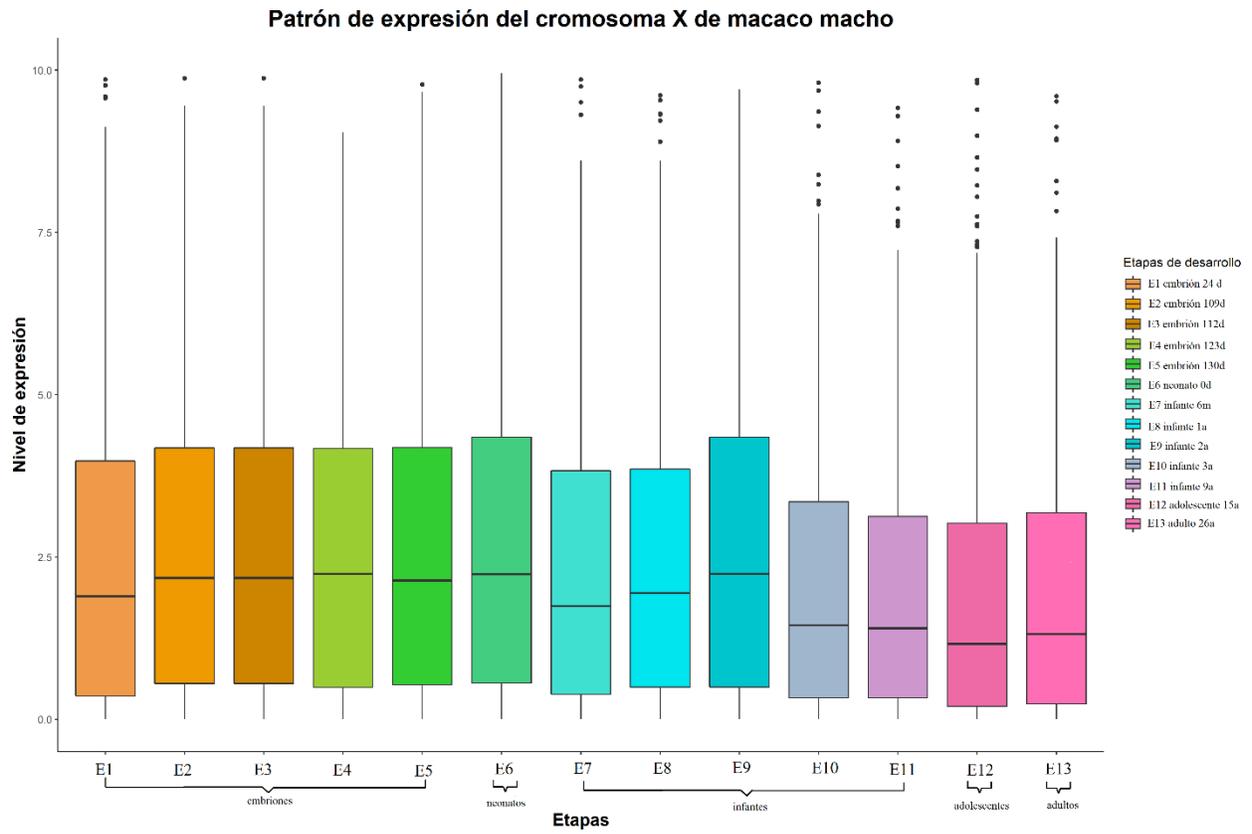


Figura 3. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco macho.

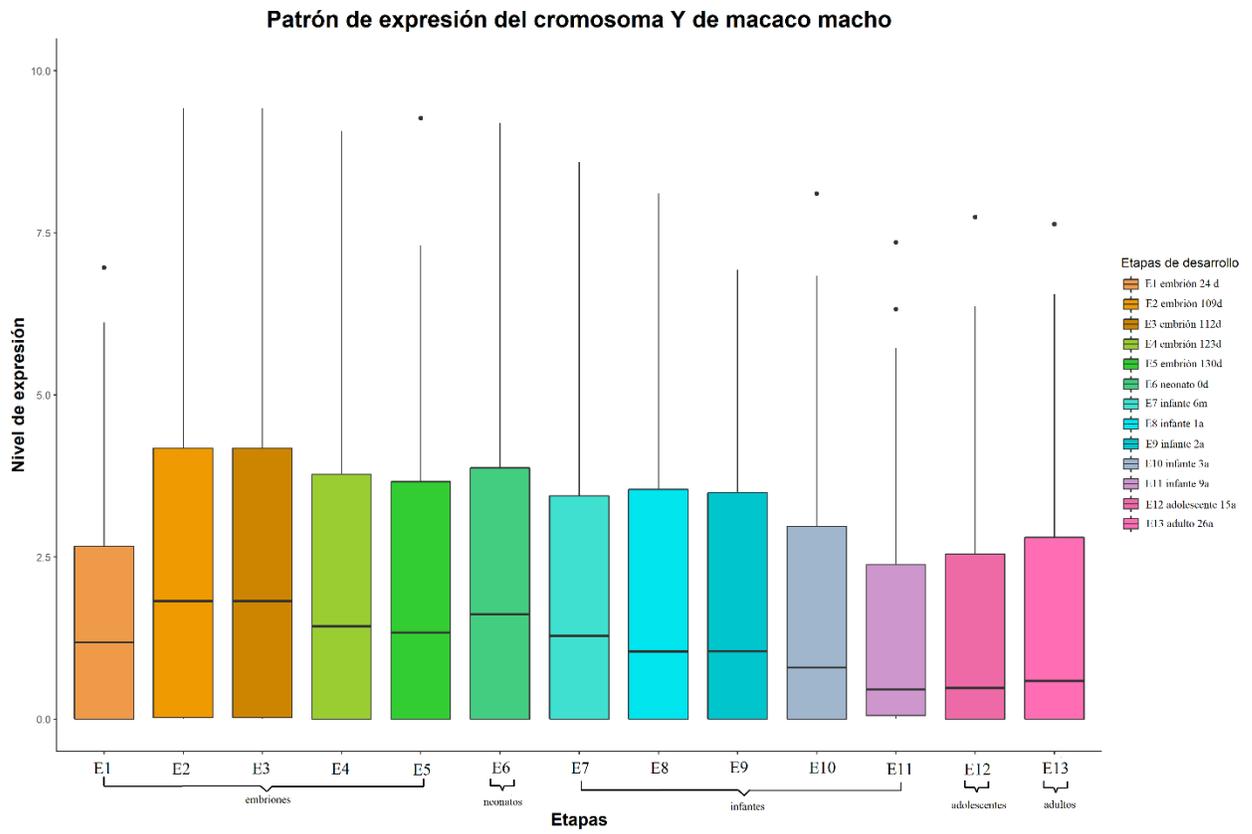


Figura 4. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma Y de macaco macho.

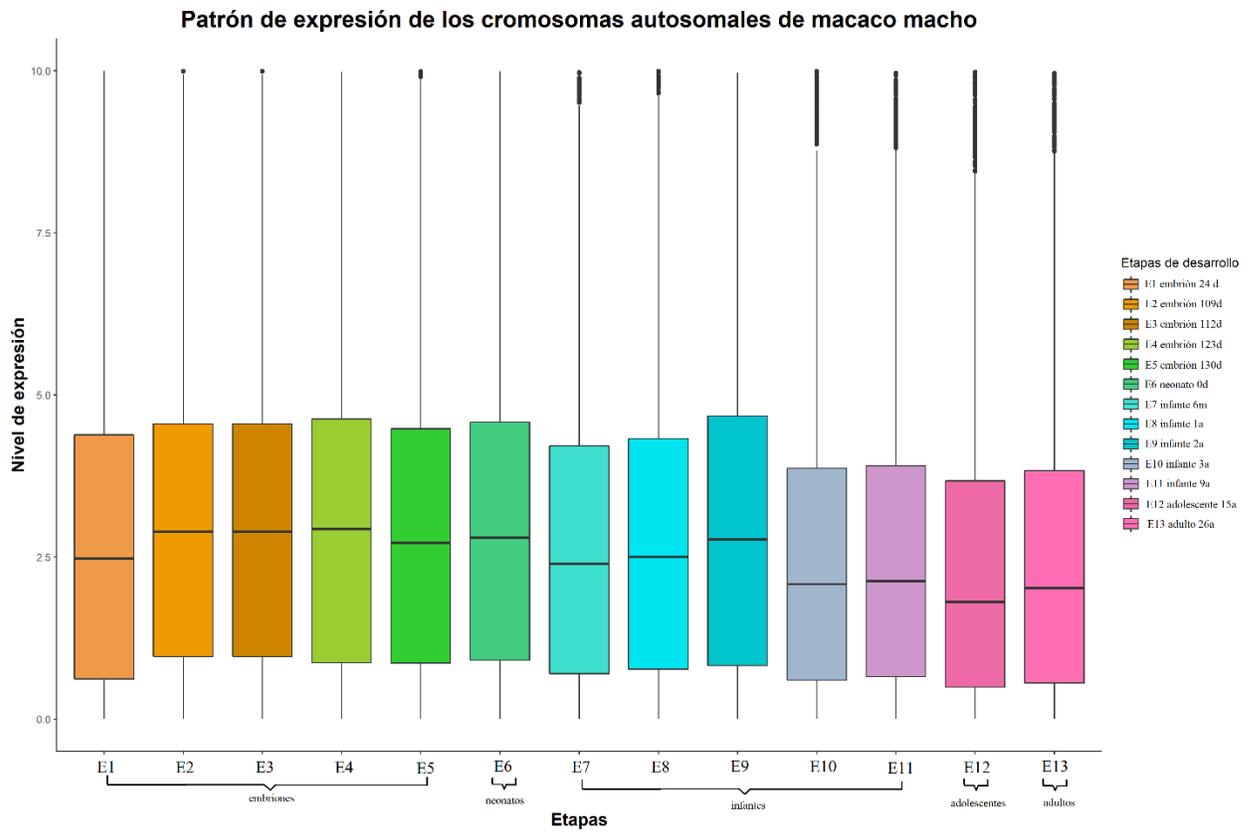


Figura 5. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo de los cromosomas autosomales de macaco macho.

Anexo C

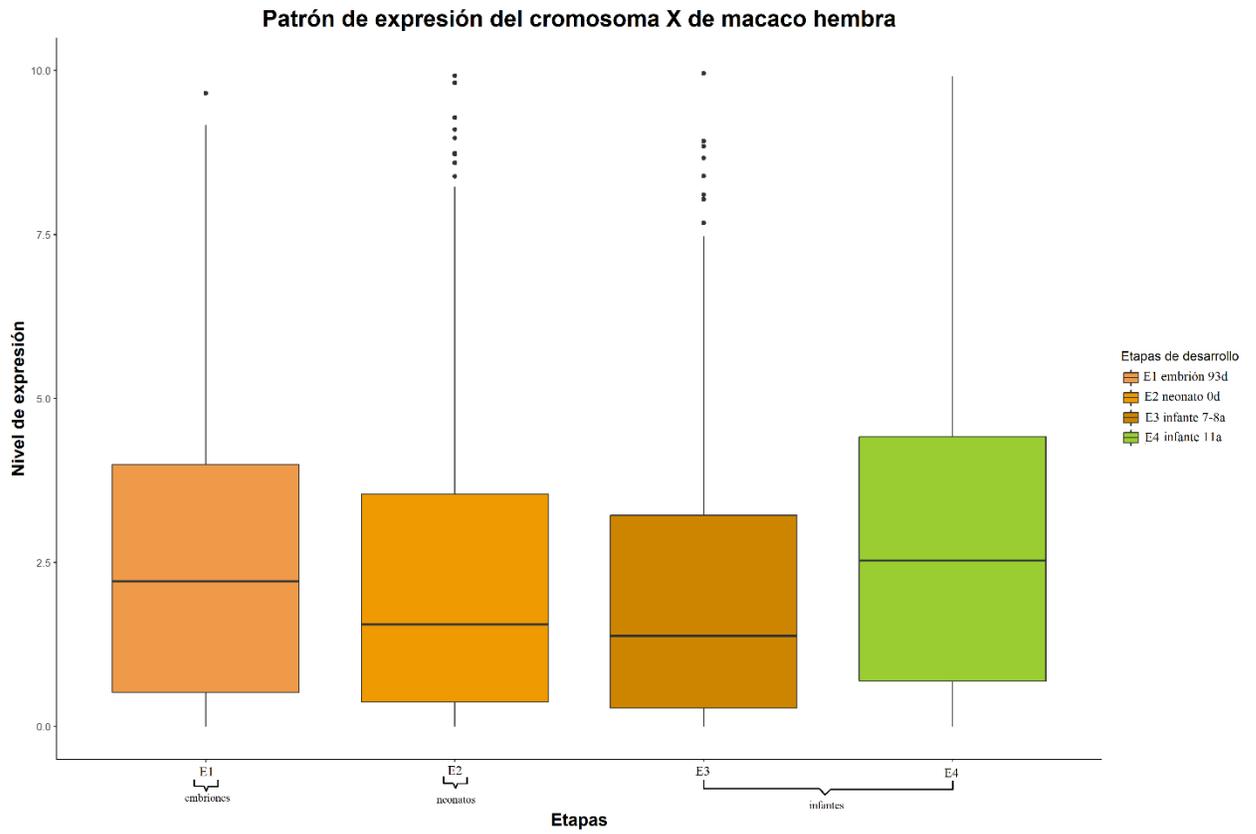


Figura 6. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco hembra.

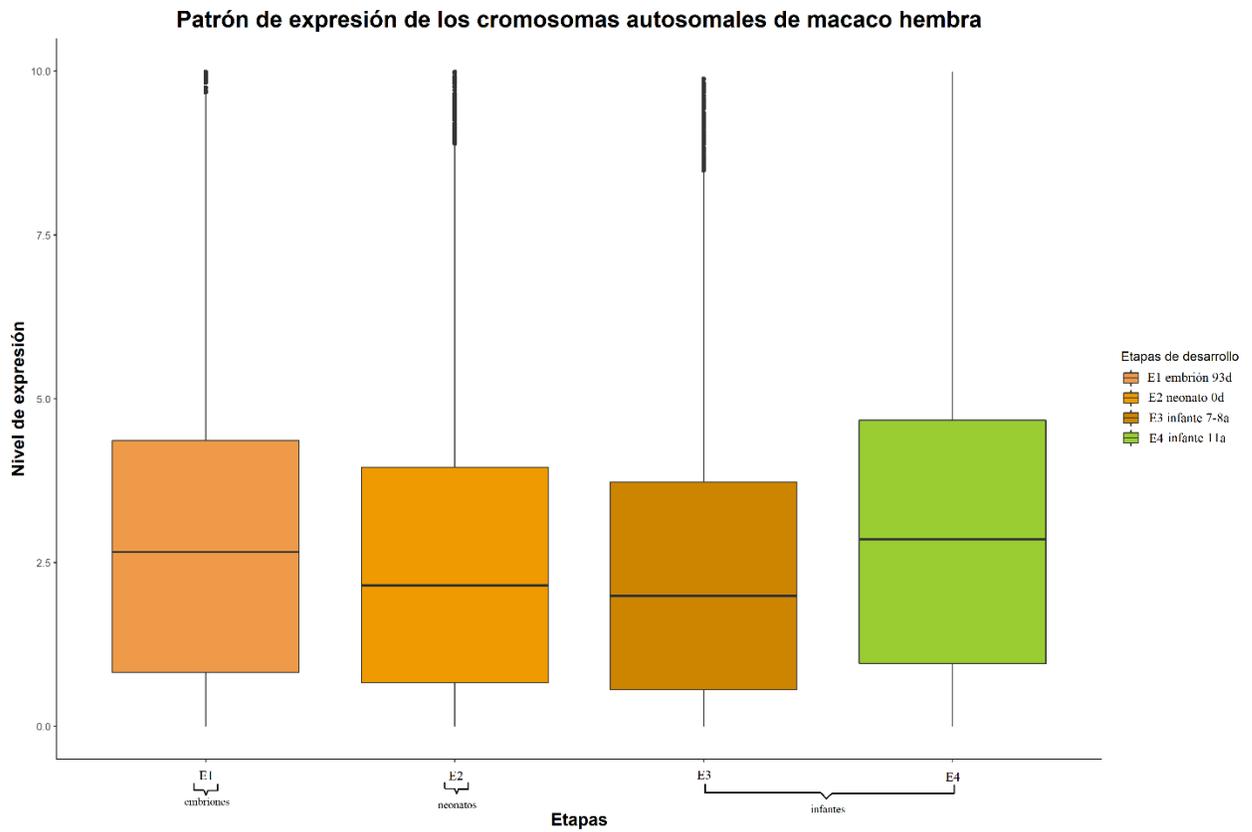


Figura 7. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo de los cromosomas autosomales de macaco hembra.

Anexo D

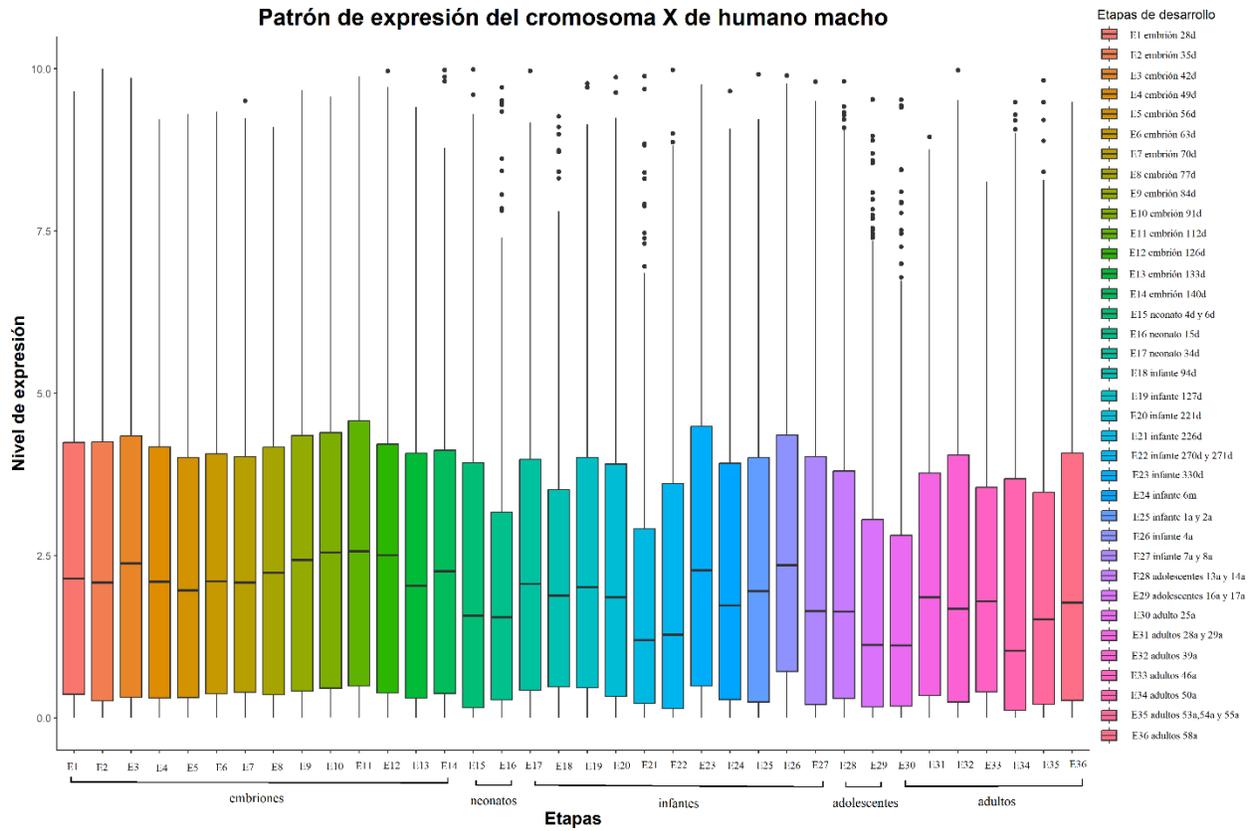


Figura 8. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano macho sin normalizar.

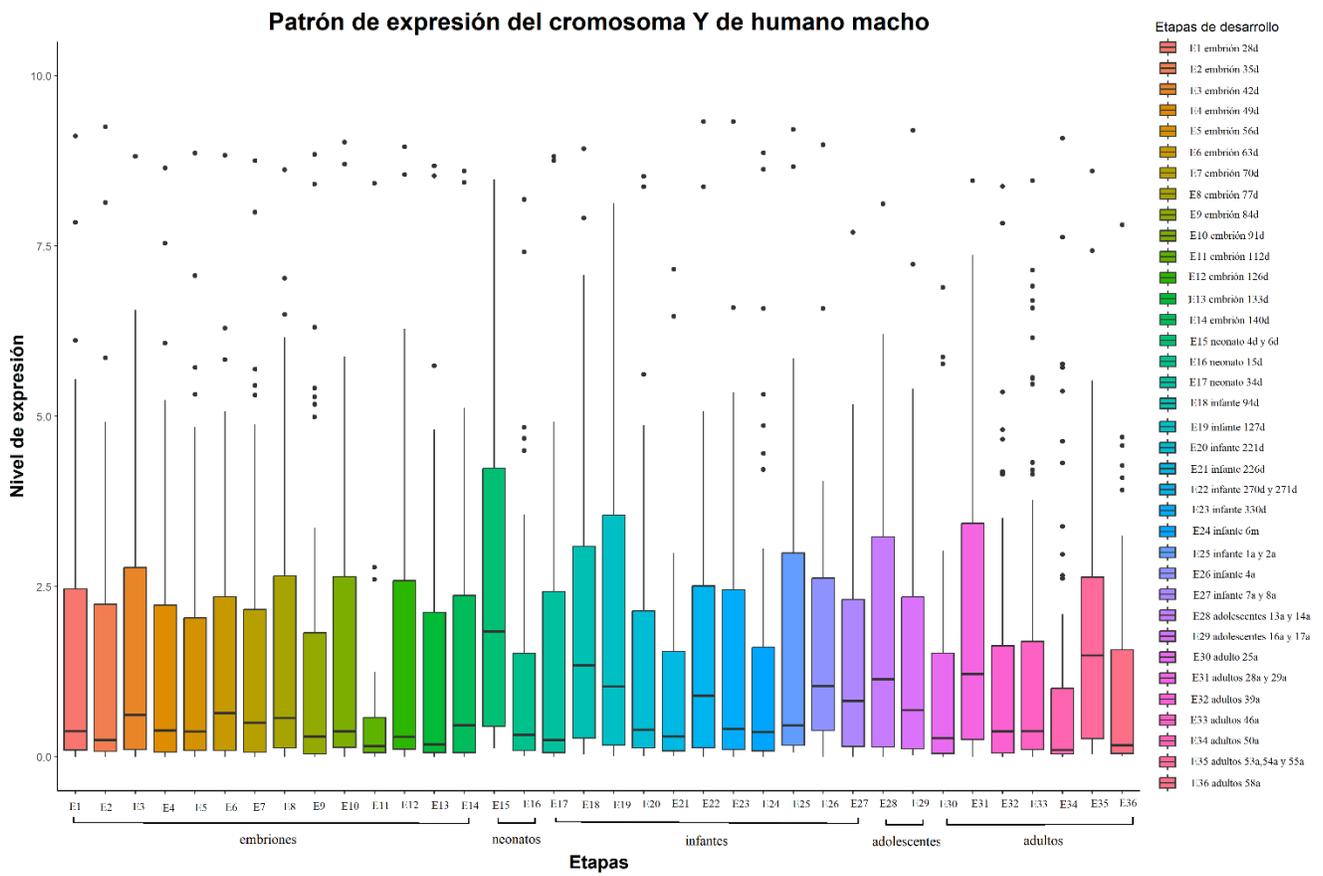


Figura 9. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma Y de humano macho sin normalizar.

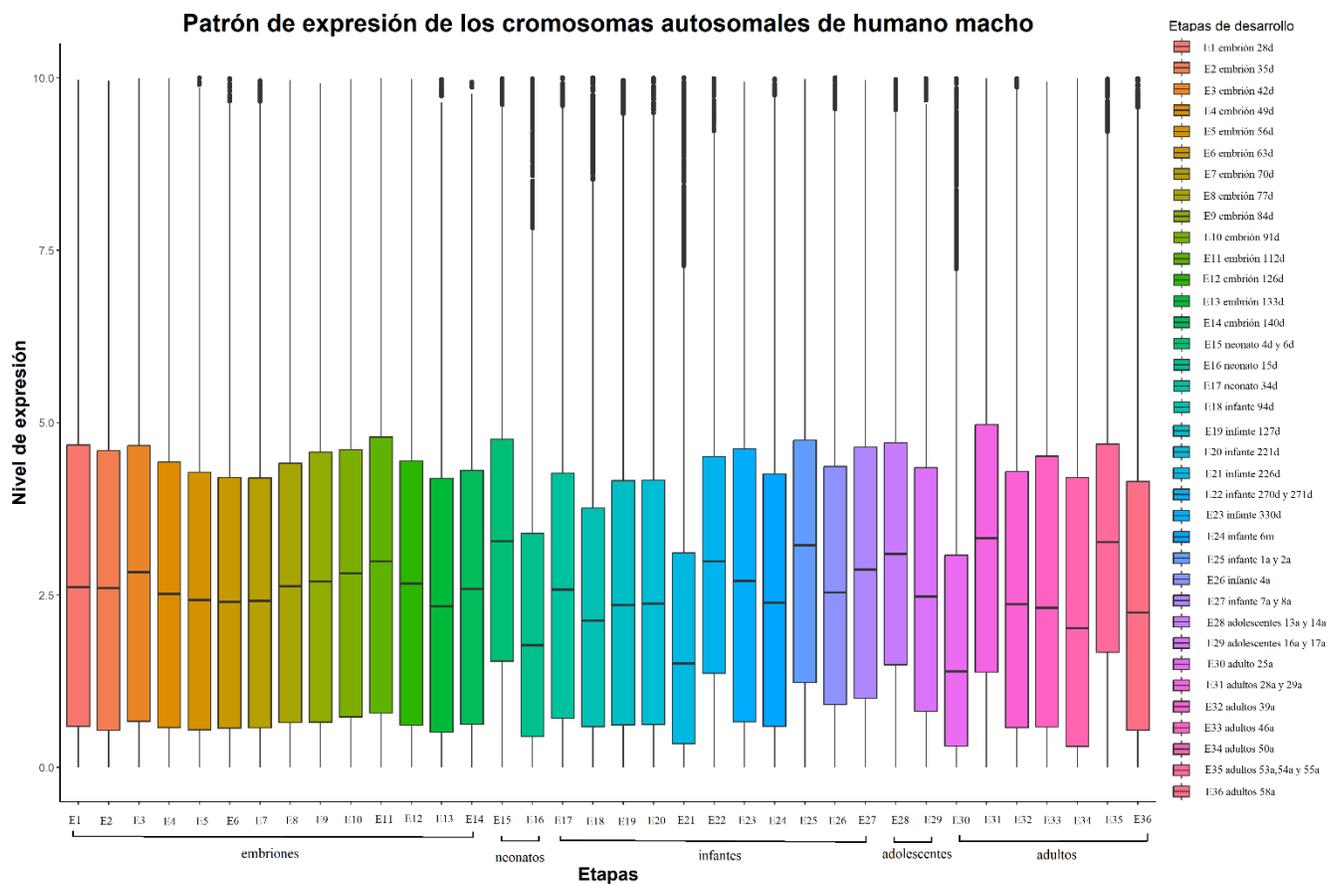


Figura 10. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo de los cromosomas autosomales de humano macho sin normalizar.

Anexo E

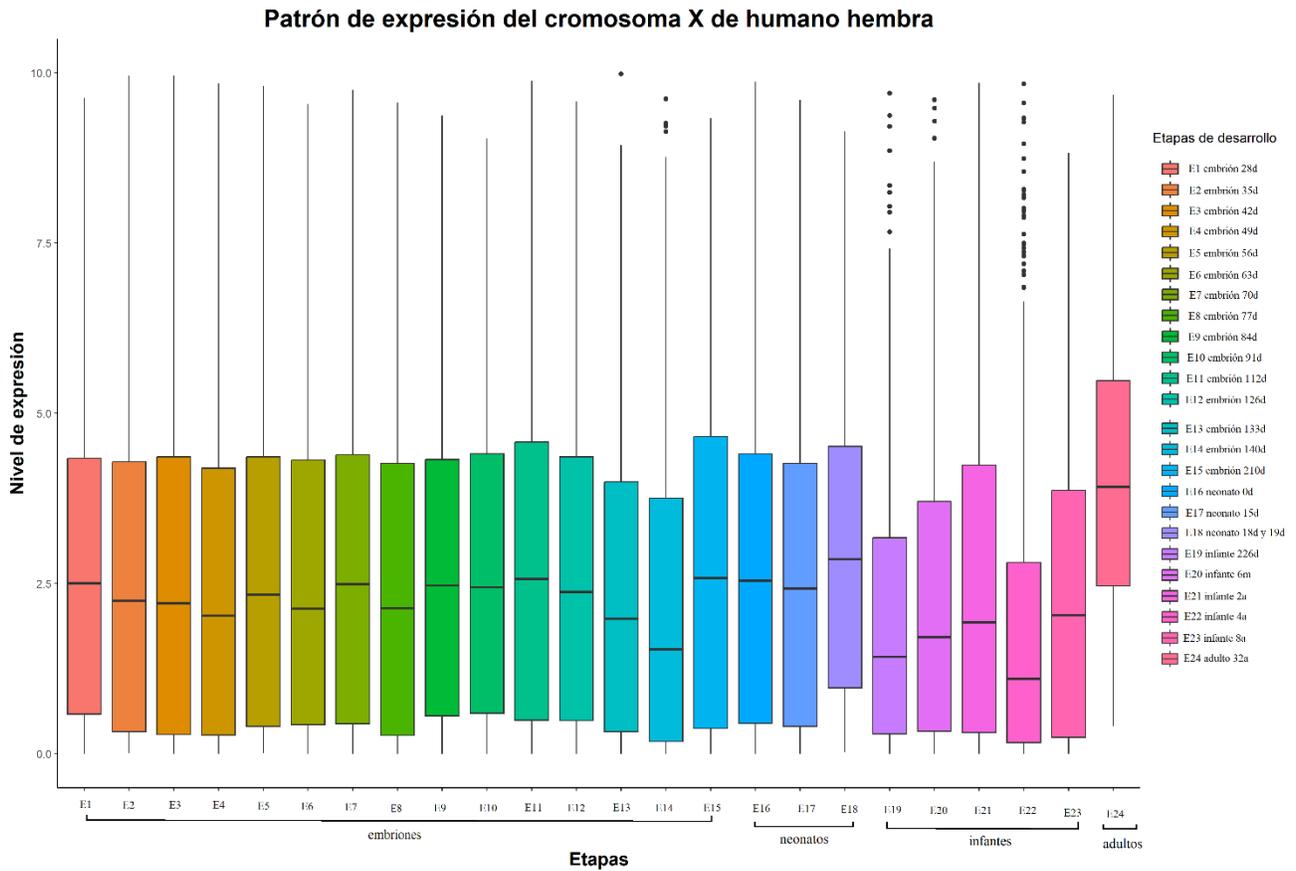


Figura 11. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano hembra sin normalizar.

Patrón de expresión de los cromosomas autosomales de humano hembra

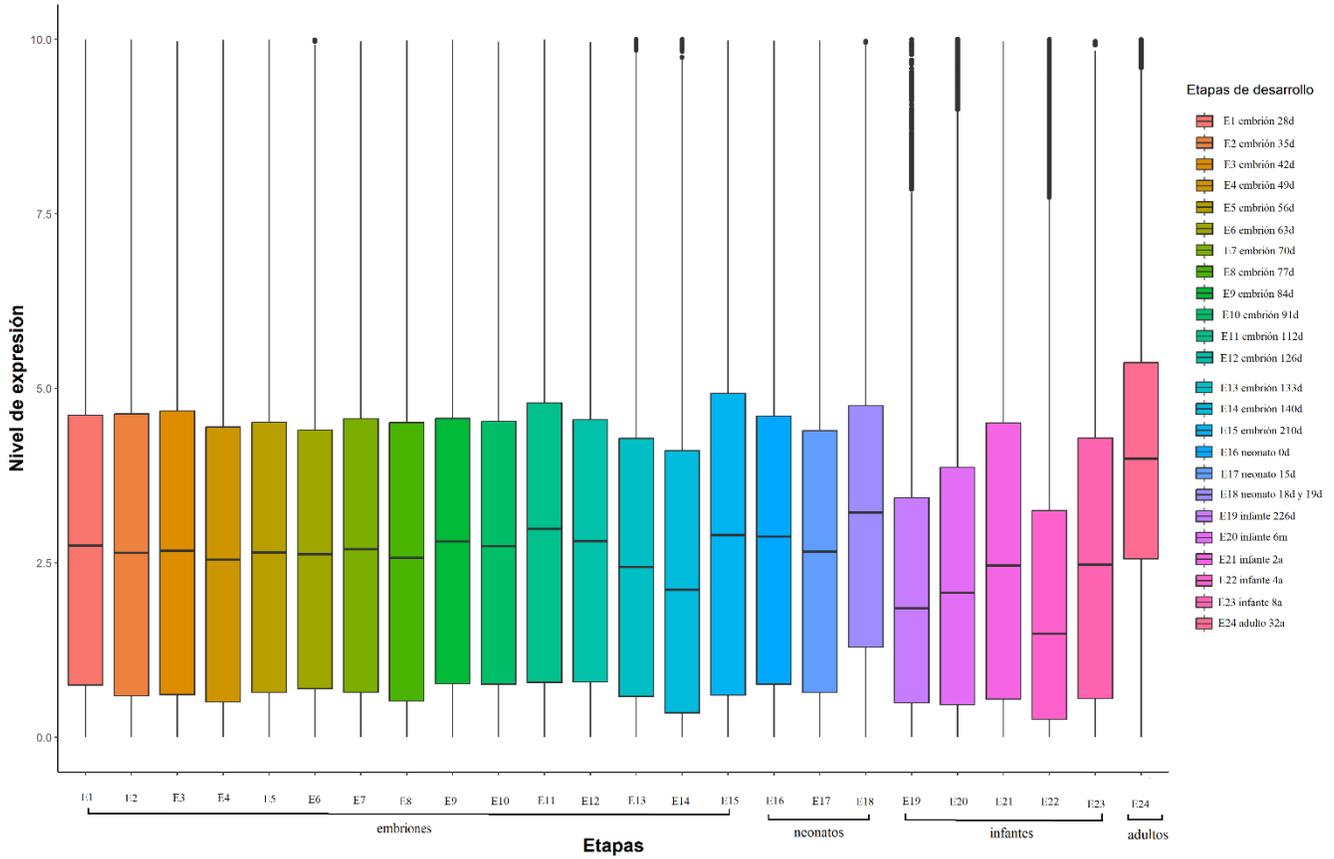


Figura 12. BoxPlot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano hembra sin normalizar.

Anexo F

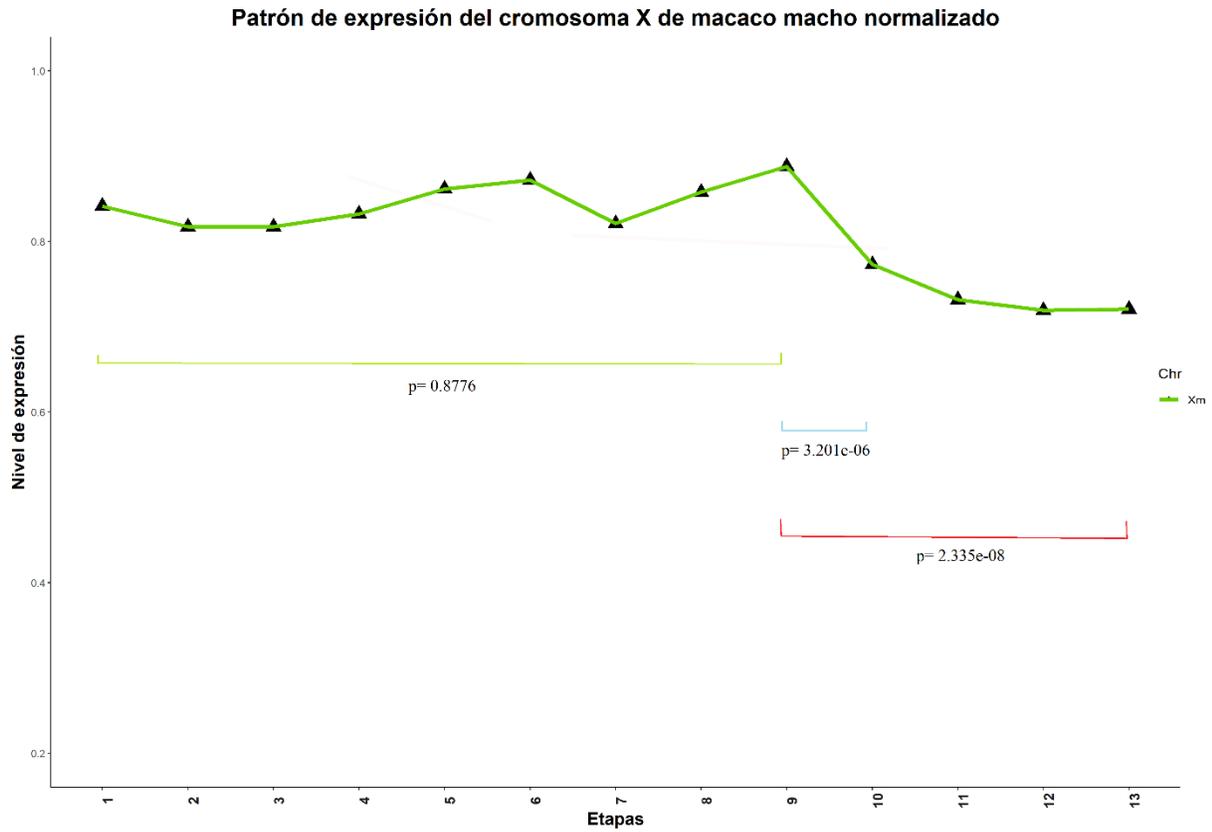


Figura 13. Lineplot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco macho normalizadas con su valor de significancia de la prueba de Wilcoxon.

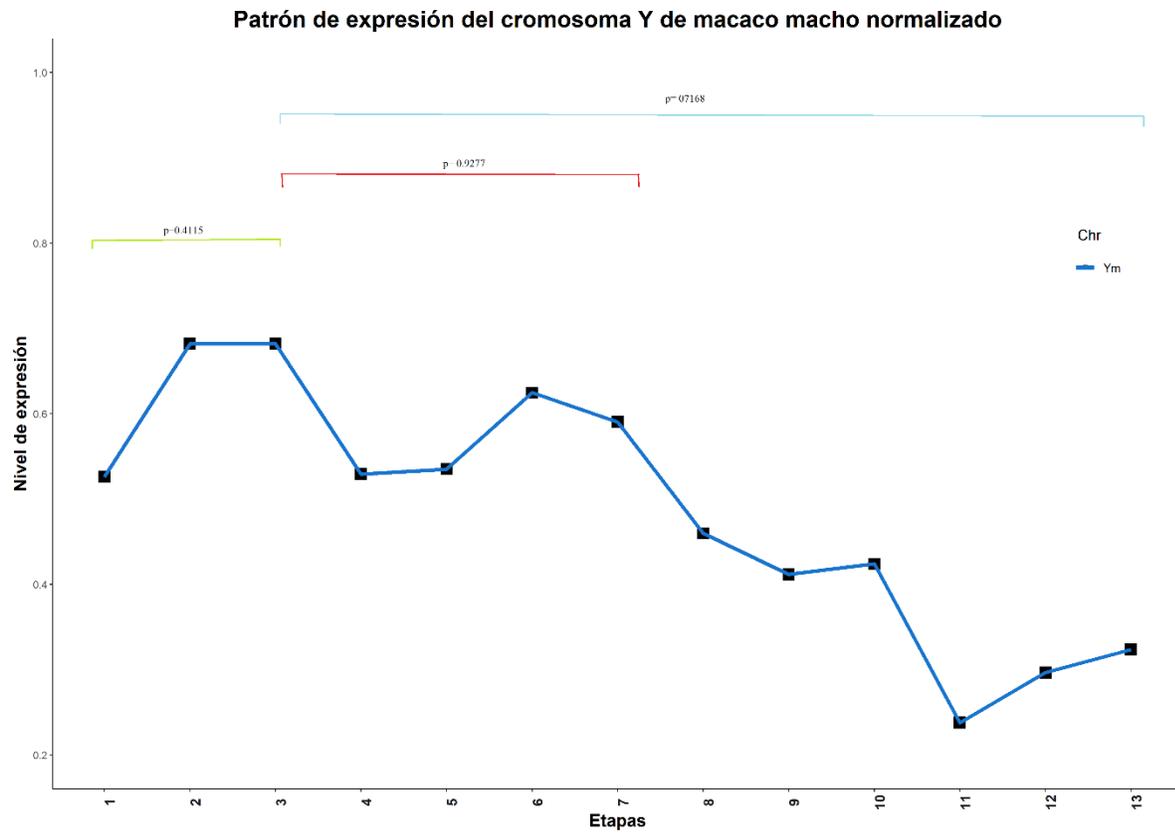


Figura 14. Lineplot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma Y de macaco macho normalizadas con su valor de significancia de la prueba de Wilcoxon.

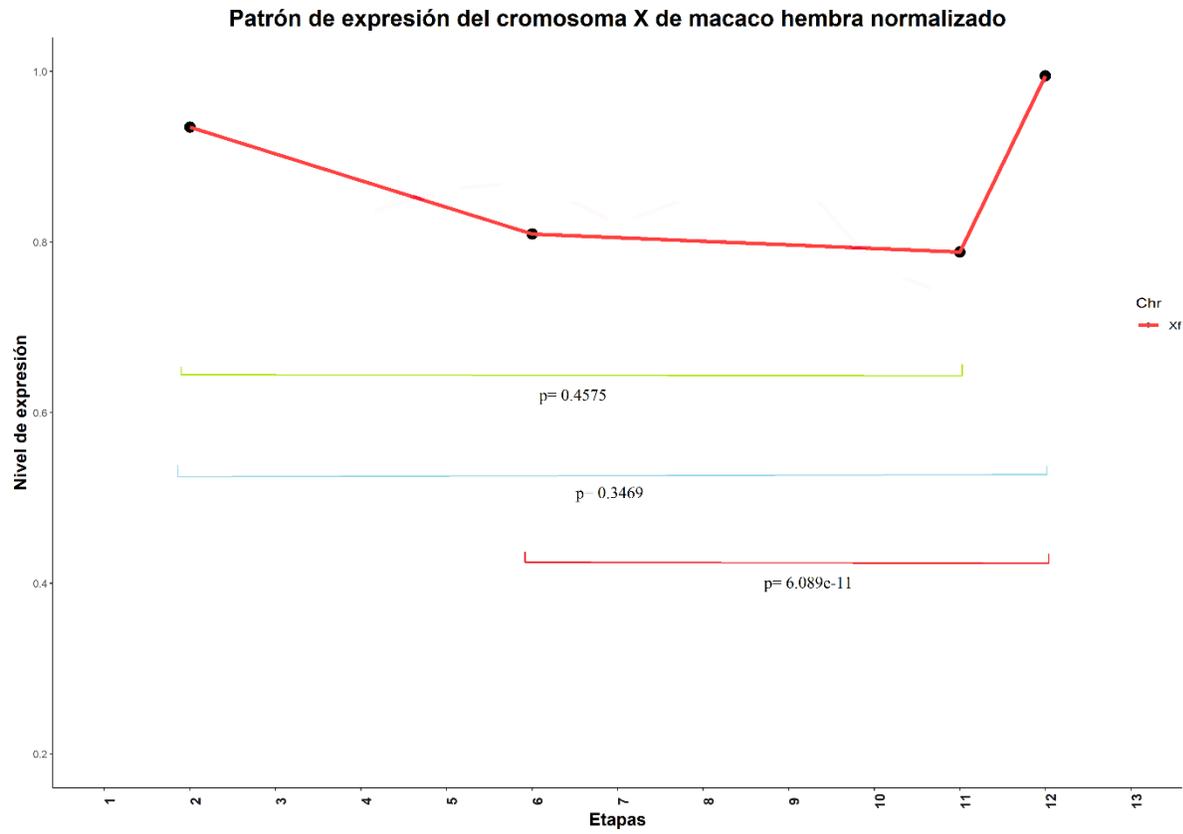


Figura 15. Lineplot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco hembra normalizadas con su valor de significancia de la prueba de Wilcoxon.

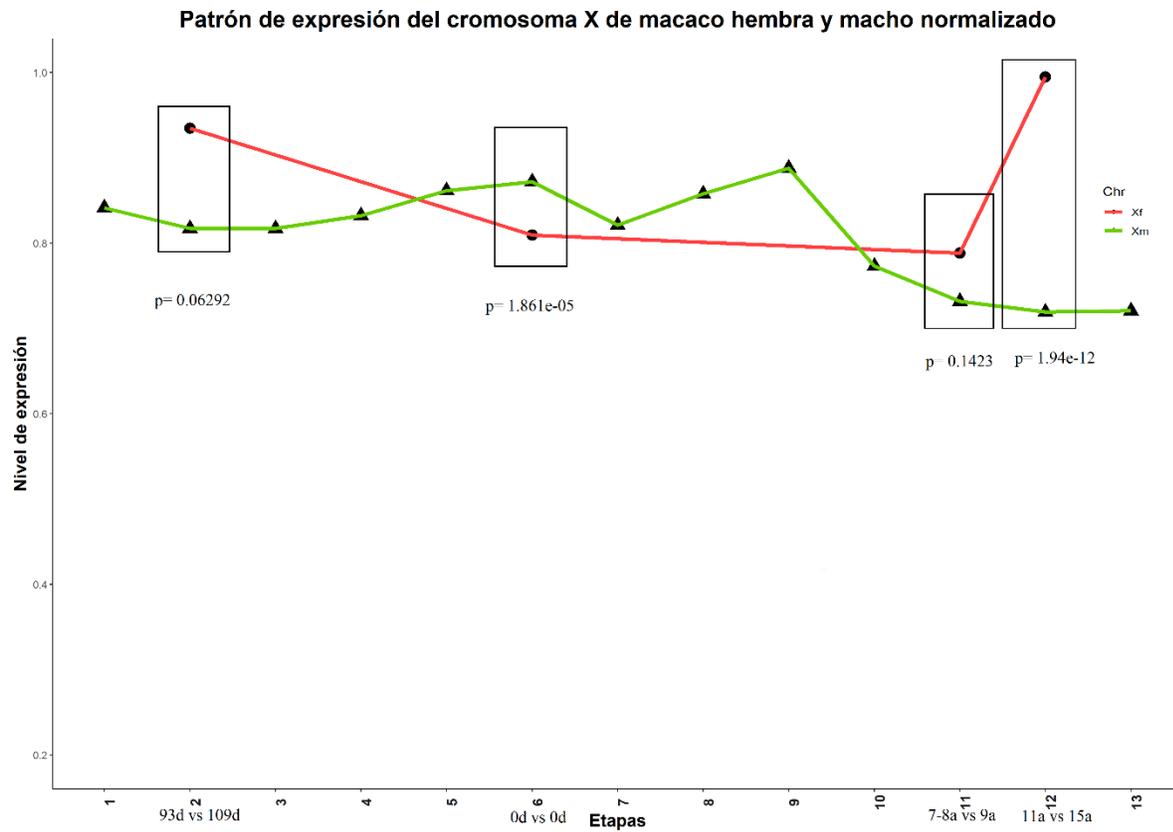


Figura 16. Lineplot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de macaco hembra y macho normalizadas con su valor de significancia de la prueba de Wilcoxon.

Anexo G

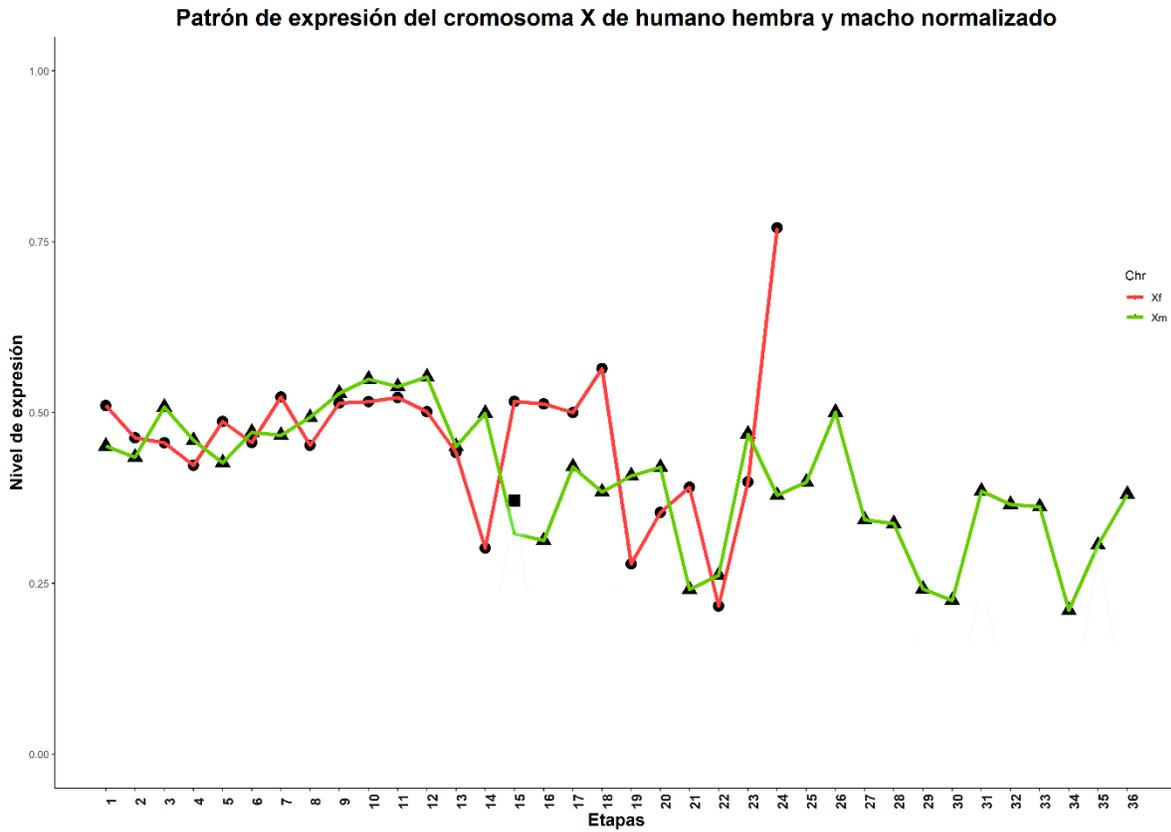


Figura 17. Lineplot de las diferentes etapas de desarrollo del cromosoma X de humano hembra y macho.

Referencias

- Álvarez-Romero, J. & R. A. Medellín.** (2005). *Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales*. Bases de datos SNIB-CONABIO. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Macacamulatta00.pdf>
- Arnold, A. P.** (2017). A general theory of sexual differentiation: A General Theory of Sexual Differentiation. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1–2), 291–300. <https://doi.org/10.1002/jnr.23884>
- Bachtrog, D. & Charlesworth, B.** (2002). Reduced adaptation of a non-recombining neo-Y chromosome. *Nature*, 416(6878), 323-326. <https://dx.doi.org/10.1038/416323a>
- Bachtrog, D.** (2013). Y-chromosome evolution: emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration. *Nature Review Genetics*, 14, 113-124. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3366>
- Bachtrog, D., Kirkpatrick, M., Mank, J. E., McDaniel, S. F., Pires, J. C., Rice, W. & Valenzuela N.** (2011). Are all sex chromosomes created equal?. *Trends in genetics*, 27 (9), 350-357. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2011.05.005>
- Bellot, D., Hughes, J. F., Skaletsky, H., Brown, L. G., Pyntikova, T., Ting-Jan, C., Koutseva, N., Zaghlul, S., Graves, T., Rock, S., Kremitzki, C., Fulton, R.S., Dugan, S., Ding, Y., Morton, D., Khan, Z., Lewis, L., Buhay, C., Wang, Q., Watt, J., Holder, M., Lee, S., Nazareth, L., Alföldi, J., Rozen, S., Muzny, D. M, Warren, W. C, Gibbs, R. A., Wilson, R. K & Page, D. C.** (2014). Mammalian Y chromosomes retain widely expressed dosage-sensitive regulators. *Nature*, 508, 494-499. <http://dx.doi.org/10.1038/nature13206>
- Berletch, J. B., Yang, F., Xu, J., Carrel, L. & Disteche, C. M.** (2011). Genes that escape from X inactivation. *Human Genetics*, 130(2), 237-245. <https://dx.doi.org/10.1007/s00439-011-1011-z>
- Bolger, A. M., Lohse, M. & Usadel, B.** (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30 (15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P. & Pachter, L.** (2016). Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology*, 34, 525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>

- Burgoyne, P. S.** (1998). The mammalian Y chromosome: a new perspective. *Bioessays*, 20 (5), 363-6. [https://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199805\)20:5<363: AID-BIES2>3.0.CO;2-P](https://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199805)20:5<363: AID-BIES2>3.0.CO;2-P)
- Cardoso-Moreira, M., Sarropoulos, I., Velten, B., Mort, M., Copper, D. N., Huber, W. & Kaessmann, H.** (2020). Developmental Gene Expression Differences between Humans and Mammalian Models. *Cell Reports*, 33 (4). <https://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108308>.
- Carrel, L. & Willard, H. F.** (2005). X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*, 434 (7031), 400-404. <https://dx.doi.org/10.1038/nature03479>
- Cohen, D. E., Davidow, L. S., Erwin, J. A., Xu, N., Warshawsky, D. & Lee, J. T.** (2007). The *DXPas34* Repeat Regulates Random and Imprinted X Inactivation. *Developmental Cell*, 12 (1), 57-71. <https://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2006.11.014>
- Cortez, D., Marin, R., Toledo-Flores, D., Froidevaux, L., Liechti, A., Waters, P. D., Grützner, F. & Kaessmann, H.** (2014). Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature*, 508, 488–493. <https://dx.doi.org/10.1038/nature13151>
- Database, G. H. G.** (s.f.). *GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search*. <https://www.genecards.org/>
- Disteche, C. M.** (2016). Dosage compensation of the sex chromosomes and autosomes. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 56, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.04.013>
- Ek-Hernández, G. E.** (2019). Análisis Bioinformático del Transcriptoma de Conidios de *Pseudocercospora fijiensis* producidos *in vitro* (Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.). CICY repositorio. <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/>
- Engelstädter, J.** (2008). Muller's ratchet and the degeneration of Y chromosomes: a simulation study. *Genetics*, 180 (2), 957-967. <https://dx.doi.org/0.1534/genetics.108.092379>
- Filippova, G. N., Cheng, M. K., Moore, J. M., Truong, J. P., Hu Y. J., Nguyen, D. K., Tsuchiya, K. D. & Disteche, C. M.** (2005). Boundaries between chromosomal domains of

X inactivation and escape bind CTCF and lack CpG methylation during early development. *Developmental Cell*, 8 (1), 31–42. <https://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2004.10.018>

Hawkes, K., Smith, K. R. & Robson, S. L. (2009). Mortality and fertility rates in humans and chimpanzees: How within-species variation complicates cross-species comparisons. *American Journal of Human Biology*, 21 (4), 578-86. <https://dx.doi.org/10.1002/ajhb.20890>.

Hughes, J. F., Skaletsky, H., Brown, L. G., Pyntikova T, Graves T, Fulton RS, Dugan S, Ding Y, Buhay CJ, Kremitzki C, Wang Q, Shen H, Holder M, Villasana D, Nazareth LV, Cree A, Courtney L, Veizer J, Kotkiewicz H, Cho TJ, Koutseva N, Rozen S, Muzny D. M, Warren W. C, Gibbs R. A, Wilson R. K & Page D. C. Strict evolutionary conservation followed rapid gene loss on human and rhesus Y chromosomes. *Nature*. 2012 Feb 22;483(7387):82-6. doi: 10.1038/nature10843.

Hughes, J. F., Skaletsky, H., Koutseva, N., Pyntikova, T. & Page, D.C. (2015). Sex chromosome-to-autosome transposition events counter Y-chromosome gene loss in mammals. *Genome Biology and evolution*, 16, 104. <https://dx.doi.org/10.1186/s13059-015-0667-4>

Li, J., Ming, Z., Yang, L., Wang, T., Liu, G., & Ma, Q. (2022). Long noncoding RNA XIST: Mechanisms for X chromosome inactivation, roles in sex-biased diseases, and therapeutic opportunities. *Genes & Diseases*, 9(6), 1478–1492. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.04.007>

Lopes-Ramos, C. M., Chen, C.-Y., Kuijjer, M. L., Paulson, J. N., Sonawane, A. R., Fagny, M., Platig, J., Glass, K., Quackenbush, J., & DeMeo, D. L. (2020). Sex differences in gene expression and regulatory networks across 29 human tissues. *Cell Reports*, 31(12), 107795. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107795>

Kirkpatrick, M. (2010). How and Why Chromosome Inversions Evolve. *PLOS Biology*, 8 (9), 1-5. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1000501>

Lahn, B.T. & Page D. C. (1999). Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science*, 286 (5441), 964-967. <https://dx.doi.org/10.1126/science.286.5441.964>

Marín, I., Siegal, M. L. & Baker, B. S. (2000). The evolution of dosage-compensation mechanisms. *BioEssays*, 22 (12), 1106-1114. [https://dx.doi.org/10.1002/1521-1878\(200012\)22:12<1106::AID-BIES8>3.0.CO;2-Wcromatina](https://dx.doi.org/10.1002/1521-1878(200012)22:12<1106::AID-BIES8>3.0.CO;2-Wcromatina)

- Martínez-Pacheco, M., Tenorio, M., Almonte, L., Fajardo, V., Godínez, A., Fernández, D., Cornejo-Páramo, P., Díaz-Barba, K., Halbert, J., Liechti, A., Székely, T., Urrutia, A. O. & Cortez, D.** (2020). Expression Evolution of Ancestral XY Gametologs across All Major Groups of Placental Mammals. *Genome Biology and Evolution*, 12 (11), 2015-2028. <https://dx.doi.org/10.1093/gbe/evaa173>
- Méndez-Mendez, S. M.** (2020). *Expresión diferencial de genes en Cladocopium sp. de dos especies de coral en el Golfo de California* (Tesis de maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.). http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/3016/1863%20mendez_s%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Nguyen, D., Disteche, C.** (2006). Dosage compensation of the active X chromosome in mammals. *Nature Genetics*, 38, 47–53. <https://dx.doi.org/10.1038/ng1705>
- Okamoto, I., Patrat, C., Thépot, D., Peynot, N., Fauque, P., Daniel, N., Diabangouaya, P., Wolf, J.-P., Renard, J.-P., Duranthon, V., & Heard, E.** (2011). Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development. *Nature*, 472(7343), 370–374. <https://doi.org/10.1038/nature09872>
- Oliva, M., Muñoz-Aguirre, M., Kim-Hellmuth, S., Wucher, V., Gewirtz, A. D. H., Cotter, D. J., Parsana, P., Kasela, S., Balliu, B., Viñuela, A., Castel, S. E., Mohammadi, P., Aguet, F., Zou, Y., Khramtsova, E. A., Skol, A. D., Garrido-Martín, D., Reverter, F., Brown, A., ... GTEx Consortium.** (2020). The impact of sex on gene expression across human tissues. *Science (New York, N.Y.)*, 369(6509). <https://doi.org/10.1126/science.aba3066>
- Ovalle-Rivera, T. M.** (2018). *Análisis transcriptómico asociado a la producción de β -caroteno en Yuca* (Tesis de maestría, Universitat Oberta de Catalunya). <http://openaccess.uoc.edu/webapps/o2/bitstream/10609/83085/6/tovalleTFM0618memoria.pdf>
- Paz-Y-Miño, C & López-Cortés, A.** (2014). *Genética Molecular y Citogenética Humana: Fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador*. <https://es-b-ok.lat/book/2880789/6c13f6>

- Pedrosa, I., Juarros-Basterretxea, J., Robles-Fernández, A., Basteiro, J., & García-Cueto, E.** (2014). Pruebas de bondad de ajuste en distribuciones simétricas, ¿qué estadístico utilizar? *Universitas Psychologica*, 14(1). <https://doi.org/10.11144/javeriana.upsy14-1.pbad>
- Plath, K., Mlynarczyk-Evans, S., Nusinow, D. A. & Panning, B.** (2002). *Xist* RNA and the mechanism of X chromosome inactivation. *Annual review of genetics*, 36, 233–278. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genet.36.042902.092433>
- Posynick, B. J., & Brown, C. J.** (2019). Escape from X-chromosome inactivation: An evolutionary perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 241. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00241>
- Prentout, D.** (2021). Plant genera *Cannabis* and *Humulus* share the same pair of well-differentiated sex chromosomes. *New Phytologist*, 1599-1611. <https://dx.doi.org/10.1111/nph.17456>
- Prissette, M.** (2001). *Initiation de l'inactivation du chromosome x: Etude des elements regulateurs dxpas34 et xce* (Tesis de doctorado, Université de Montréal). Theses fr. <https://www.theses.fr/2001PA112201>
- Reinius, B., Shi, C., Hengshuo, L., Sandhu, K. S., Radomska, K. J., Rosen, G. D., Lu, L., Kullander, K., Williams, R. & Jazin E.** (2010). Female-biased expression of long non-coding RNAs in domains that escape X-inactivation in mouse. *BMC Genomics*, 614. <https://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-11-614>
- Riaño, D., Ramírez, F., Alexa, A., González, E. & Visch, F.** (2010). *Bioinformática aplicaciones a la genómica y proteómica*. https://www.researchgate.net/publication/253408324_Bioinformatica_Aplicaciones_en_Genomica_y_Proteomica#fullTextFileContent
- Rice, W. R.** (1984). Sex chromosomes and the evolution of sexual dimorphism. *Evolution*, 38(4), 735-742. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb00346.x>
- Sahakyan, A., Plath, K., & Rougeulle, C.** (2017). Regulation of X-chromosome dosage compensation in human: mechanisms and model systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 372(1733). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0363>
- Sánchez, R. A.** (2015). Prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney: mitos y realidades. *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo & Nutrición*, 2, 18–21.

<https://biblat.unam.mx/hevila/Revistamexicanadeendocrinologiametabolismo&nutricion/2015/vol2/no1/3.pdf>

- Schoeftner, S., Blanco, R., de Silanes, I. L., Munoz, P., Gomez-Lopez, G., Flores, J. M. & Blasco, M. A.** (2009) Telomere shortening relaxes X chromosome inactivation and forces global transcriptome alterations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (46), 19393–19398. <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.0909265106>
- Solari, A. J.** (2004). *Genética Humana: Fundamentos y Aplicaciones en Medicina*. Editorial Médica Panamericana. <https://books.google.es/>
- Sykes, B.** (2004). Adam's curse A future without men. *The Journal of Clinical Investigation*, 114 (7), 870. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC518678/>
- Valdés, A., Pérez, H. M., García, R. E., & López, A.** (2010). *Embriología humana*. Ciencias Médicas.
<http://www.untumbes.edu.pe/vcs/biblioteca/document/varioslibros/0662.%20Embriolog%C3%ADa%20humana.pdf>
- Verzani, J.** (2012). *Getting started with RStudio*. O'REILLY.
- Wang, Z., Willard, H. F., Mukherjee, S. & Furey, T. S.** (2006). Evidence of influence of genomic DNA sequence on human X chromosome inactivation. *PLoS Comput Biol* 2, 9. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020113>
- Whole genome** - Homo_sapiens - Ensembl genome browser 106. (2021, marzo). Ensembl. Recuperado 15 de mayo de 2021, de https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/Genome



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad *Acreditado* por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 3 de febrero de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Tania Abigail Flores Villeda**, con el título del trabajo: **Estudio bioinformático de la compensación de dosis de los cromosomas sexuales en *Macaca mulatta* y *Homo sapiens* desde el desarrollo embrionario hasta la adultez.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: M. EN C. MARIA LUISA BARROSO GARCÍA

SECRETARIO: DRA. ALEJANDRA VÁZQUEZ LOBO YUREN

1° VOCAL: DR. DIEGO CLAUDIO CORTÉZ QUEZADA

SUPLENTE: BIOL. ALICIA QUEVEDO MALDONADO

SUPLENTE: DR. DANTE AVILES MONTES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DIEGO CLAUDIO CORTEZ QUEZADA | Fecha:2023-02-03 12:14:26 | Firmante

vhePbEXU2vcZuFtVU2VMCoAJWLI3wdnXCphFUlfagTxe66YXbSoOEeh9aowjMd9+R/2vLSrsDueyYyTOOuD8Te8ECW2UYXYSJMEa1ub9hVNolkAWIXXGipQbAPh6ErAX1gMf4ucpS7Re2O48se6qUiyplN4Ez9IfEk+iNS4lp91M/0UH45yg/Ds8REjK7buSTqo7KRh6ovcTBgc1gEpwpXAsqrryzz6m9utGysJF7f0cx69galUwyOeeV7XO93DKSS+IFXAgFDFJlZpn+MP5enhczax+1CDwUz7sEgzwTBOrWBAmUMqWzM+XLurdJL9cj1xysg+qn8FLXYppLbNCg==

MARIA LUISA BARROSO GARCIA | Fecha:2023-02-03 16:25:42 | Firmante

EM+e4bjJ2BigUQ2TiiErEmBu/wjTEbW5TwOVHEb5EzICcQa3MNFpk9i+YXkLRCAYYdlwiEVvEcElzFMP2vQzUc6T1MYeCTDsp3IgdBZw+zqqjsw3KvUipq6f2LVGqHr13Krm2xUsrjxdPOg6C6LcBZ3NzHVQepZwyW840NFInysMntueZmFkjo79PpmWO1DGDosKIObK5PXQeXa9vrudzcTR5SL9JwPF8zQWfyLTM6hhICgGAlI070LOWEldfrpsSyJvUJSjY3k+Sss6FKiAeiKcDGDgld35SiafzLoWqg+d4YxIH5gBqKwHtqVEYuhog9tBUA2jBNe7BD/0Nw==

DANTE AVILES MONTES | Fecha:2023-02-07 14:56:01 | Firmante

oPyUkA7qGS/ithAFXEdKt0pVvaXea14puEArGz2kCFBSGrvQ+TYxSnUATk3/Laz0/EirYewalPGYenR0Wcv7e5LHJrL1VCydWwqaoOPjWjDXiUohRAcc58arqWsnwpxb0uoulYcFAysWQvodM9k57qPdHNLI0GbkfFdsRFwPaMlnhsL4ExC5KoMpPIEhsQyAirtZmCPi7kSxOvVo5FAaagT0Jx91vq0fxqear6zYYSRF5Cp+4w7UdWGLZ9ZYIhelKKqxQPSmgDiscD XhHyfvcKBFFrYVdyM9Mkmtx0XZl/wwL6t+0YIhL72w67/AxoTW3SpnWXbKHZsaFDqRnxw==

ALICIA QUEVEDO MALDONADO | Fecha:2023-02-07 22:14:54 | Firmante

MMfoGW8MAFLSYThWih0K2TKcfq5yM5LWS52cyRMdtMOWLX64XJG7GAaiqyW8mBLYSC3es8AyE7fpK66DC24BaHpPkvm4ZyXv8PltdpjUH7Bn3fhTek4IG5ObD5JrK9oDQ7ppFsUXoybBmzqKZEbHT2MZeX9kIPz/jT+Msi8Gdn41EHYdoJdTfNyAsz6yh5Ytxefq82KpVz/9Ttt4I0uamEWFJLK88mVUXjIA6mpl+kvvmvc6K3pddcwfrg+gKR6YkPo/MmSEZqVh9tQqrMazoTxDgXfNGh9iLLF62fRtkvory5o9yY8SV1+o4KsCvBp36KUIs0I99RmZTbpc7J6A==

ALEJANDRA VAZQUEZ LOBO YUREN | Fecha:2023-02-10 11:02:44 | Firmante

LNWuDOoosH+SPB4NTEf1fjK2//KpOr6NggqEQPGrv0MN31JHsVD5vNpau7XCwINe32odz6AKSTUSPSZL1IZL8a+CjLsXY6kEuRIKneGwOR2ztXhEZCovJgNQC9synsbvYdnYvPccmxGd6BXbsdr8FBtibqFlr3zVqpG4CyGLgcw1SL6yNcrAcwfi33OIDWSxTFNkPjinMGkacuPO+U+EoJsKdrTntFBDjmd4EGHxeAITHuOFCZYISwt3/ihAri1ACcq0RySfUEhMH84tC4ApGdoFKtoNpBogKiy9a5QB1cqG2H6Sw1ZkQ/s2fPYJj7PIH6jT56rMfCkiGAA4z+atUw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



2WUozZINO

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/XuYSNoChdAXA3ufLaJnN9b3N7c9D7BXH>

