

***TRABAJO DE FIN DE MÁSTER***  
***en***  
***Biología y Tecnología Aplicada a***  
***la Reproducción Humana Asistida***

**Desórdenes de impronta genética  
asociados a TRA (Técnicas Reproducción  
Asistida) y técnicas de diagnóstico.**

Autor: **Sergio Novella Rodríguez**

Tutor: **Esther Taboas Lima**

Alcobendas, Septiembre 2025

## ÍNDICE

RESUMEN	3
PALABRAS CLAVE	3
ABSTRACT	4
KEY WORDS	4
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1.Mecanismos de impronta	7
1.2.Desórdenes de impronta (ImpDis)	9
2. OBJETIVOS	14
3. MÉTODOS	14
4. RESULTADOS	15
4.1 Ciclo de impronta genómica	15
4.2 Relación defectos impronta con TRA	19
4.2.2 Modelos murinos para estudios de impronta y TRA	20
4.2.3 Las iPSC como herramienta para modelar trastornos de impronta	21
4.3 Técnicas de diagnóstico	22
4.3.2 Pruebas prenatales	25
4.3.3 Futuras líneas de investigación	25
5. DISCUSIÓN /ARGUMENTACIÓN CRÍTICA	27
6. CONCLUSIONES	28
7. BIBLIOGRAFIA	29

## RESUMEN

En los años 80 se observó que los embriones de ratones con dos cromosomas de un mismo progenitor no eran capaces de completar su desarrollo. *Reik W et al.* demostraron que los cromosomas heredados por vía materna y paterna no son funcionalmente equivalentes y que cada copia del genoma lleva “huellas” epigenéticas diferentes, que abarcaban a ciertos genes repartidos por el genoma, la mayoría agrupados en *clusters*, y que estos genes desempeñan un papel fundamental en el desarrollo embrionario.

Varios de los mecanismos que regulan la impronta genómica tienen lugar durante las primeras etapas del desarrollo embrionario, por lo que por varios años se ha cuestionado si el uso de técnicas de reproducción asistida podría dar lugar a errores o modificaciones a estos procesos, y cómo estos errores podrían afectar a la calidad embrionaria.

Esta revisión bibliográfica se ha realizado con la finalidad de: dar a entender los mecanismos de impronta genómica y su función en el desarrollo embrionario; demostrar si existe relación entre los defectos de impronta y el uso de TRA; y comparar las diferentes técnicas de diagnóstico actuales

Los resultados obtenidos muestran que, por los datos de los diferentes estudios poblacionales y moleculares, existe una correlación positiva entre el uso de TRA y el índice de defectos de impronta.

## PALABRAS CLAVE

Impronta genómica, TRA, Epigenética, Desarrollo embrionario

## **ABSTRACT**

In the 1980s, it was observed that mouse embryos with two chromosomes from the same parent were unable to complete their development. *Reik W et al.* proved that maternally and paternally inherited chromosomes are not functionally equivalent and that each copy of the genome carries different epigenetic "imprints," encompassing certain genes distributed throughout the genome, most of them grouped into clusters. These genes play a fundamental role in embryonic development.

Several of the mechanisms that regulate genomic imprinting occur during the early stages of embryonic development. Therefore, for several years, the question has been raised as to whether the use of assisted reproduction techniques could lead to errors or modifications in these processes, and how these errors could affect embryonic quality.

This literature review was conducted with the following aims: to understand the mechanisms of genomic imprinting and its role in embryonic development; To demonstrate whether there is a relationship between imprinting defects and the use of ART; and to compare the different current diagnostic techniques.

The results obtained show that, based on data from the different population and molecular studies, there is a positive correlation between the use of ART and the rate of imprinting defects.

## **KEY WORDS**

Genomic imprinting, ART, Epigenetics, Embryonic development

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
<b>AID</b>	<i>Activation-Induced Deaminase</i>
<b>ARN</b>	<i>Ácido ribonucleico</i>
<b>BER</b>	<i>Base pair Excision Repair /maquinaria de reparación de pares de bases</i>
<b>CNVs</b>	<i>Copy Number Variants / Variantes Numero de Copia</i>
<b>DMR</b>	<i>Differentially Methylation Region /Regiones Diferencialmente Metiladas</i>
<b>DMVs</b>	<i>DNA Methylation variations /Variaciones de la metilación del ADN</i>
<b>ET</b>	<i>Embryo Transfer /Transferencia embrionaria</i>
<b>FET</b>	<i>Frozen-thawed Embryo Transfer/ transferencia de embriones descongelados</i>
<b>GOM</b>	<i>Gain of methylation /Ganancia de metilación</i>
<b>ICSI</b>	<i>Intracytoplasmic Sperm Injection /Inyección espermática intracitoplasmática</i>
<b>ICR</b>	<i>Imprinting Control Region /Centros Reguladores de la Impronta Genómica</i>
<b>ID</b>	<i>Imprinting Disturbances /Perturbaciones de la impronta</i>
<b>ImpDef</b>	<i>Imprinting defects /Defectos de impronta</i>
<b>ImpDis</b>	<i>Imprinting disorders /Desórdenes de impronta</i>
<b>iPSC</b>	<i>induced Pluripotent Stem Cell /Célula madre pluripotente inducida</i>
<b>IVF</b>	<i>In vitro Fertilization /Fertilizacion in vitro</i>
<b>LOM</b>	<i>Lost of methylation /Pérdida de metilación</i>
<b>PGCs</b>	<i>Primordial Germ Cells /Células germinales primordiales</i>
<b>TDG</b>	<i>Thymine–DNA Glycosylase</i>
<b>TRA</b>	<i>Técnicas Reproducción Asistida</i>
<b>UPD</b>	<i>Uniparental Disomy / Disomía Uniparental</i>

## INTRODUCCIÓN

La epigenética es la ciencia encargada del estudio de los distintos cambios heredables, susceptibles a factores externos, que pueden alterar la expresión de los genes sin modificar su secuencia de nucleótidos. Estos cambios se corresponden con modificaciones covalentes reversibles en el ADN (ácido desoxirribonucleico) y/o histonas, regulando la expresión génica.

Para el campo de la reproducción asistida, es muy importante comprender cómo funcionan estos mecanismos, el cómo pueden afectar durante las distintas etapas de un ciclo y cómo podemos ser capaces de detectarlas.

Dentro de los procesos epigenéticos, los procesos de impronta genómica son de especial interés. Ya que se trata de un proceso epigenético mantenido en mamíferos placentarios, que consiste en la regulación génica por la cual los genes afectados presentan una expresión monoalélica sujeta a su origen paternal que es igual para todos los individuos de una misma especie (1).

En el genoma humano se conocen, aproximadamente, un centenar de genes que están regulados por la impronta genómica (<https://www.geneimprint.com/site/genes-by-species>). La función y regulación de estos genes es fundamental para que se dé un correcto desarrollo neurológico, embrionario y de los tejidos extraembrionarios. De estos genes regulados por impronta genómica, aproximadamente el 80% se encuentran agrupados en *clusters*. En estas agrupaciones se han encontrado regiones críticas conocidas como DMR (*Differentially Methylation Region*), donde se establecen las modificaciones epigenéticas en uno de los dos alelos parentales, regulando así la expresión monoalélica de los genes. Los DMR se dividen en dos tipos:

- DMR germinales (gDMRs) o primarios: son regiones en las cuales las modificaciones epigenéticas vienen transmitidas de los gametos y se mantienen en las células somáticas a lo largo del desarrollo.
- DMR somáticas (sDMRs) o secundarias: son las regiones del genoma cuyas modificaciones epigenéticas se establecen después de la fecundación.

Las gDMRs actúan como centros reguladores de la impronta genómica o ICRs (*Imprinting Control Region*), regulando la tasa de transcripción de genes que se encuentran en el mismo cromosoma, lo que se conoce como regulación en *cis*. Este proceso sirve para controlar la expresión monoalélica de los genes del cluster (1,2,3).

Las marcas epigenéticas específicas del alelo parental son heredadas a las células hijas, pero deben restablecerse en cada generación sucesiva para establecer las improntas específicas parentales. Dos importantes eventos de reprogramación epigenética a nivel del genoma tienen lugar durante la gametogénesis y la embriogénesis temprana. Las improntas específicas parentales deben eliminarse y se establecen nuevas improntas durante el desarrollo de las células germinales. Tras la fecundación, estas improntas se mantienen a medida que la célula

se propaga, excepto en las células germinales, donde se eliminan y se restablecen para la siguiente generación. (3)

Hay ciertas regiones del genoma que no se ven afectadas por este borrado epigenético, los ICRs escapan a la reprogramación epigenética que ocurre después de la fecundación en embriones. Pero la metilación de estos mismos ICRs es borrada durante la migración de las PGCs (Primordial germ cells) a la cresta genital.

Además de estas regiones, existen regiones de ADN repetitivo no codificante, transposones o elementos móviles del genoma, que también escapaban de la desmetilación en ambos procesos de reprogramación epigenética. (3)

Este ciclo de impronta genómica es dado por varios mecanismos de impronta genómica, que de ser alterados pueden provocar desordenes de impronta, dando lugar a distintos síndromes caracterizados por alteraciones del crecimiento intrauterino y posnatal, así como anomalías placentarias, complicaciones del embarazo y alteraciones metabólicas.

Uno de los puntos más cruciales de este ciclo ocurre durante la embriogénesis temprana en embriones preimplantacionales. En la que se produce una reprogramación epigenética global. Estos mecanismos epigenéticos de impronta genómica pueden verse afectados por alteraciones en el ambiente (3,4). Lo que nos hace preguntarnos si el uso de TRA puede afectar a los distintos mecanismos que componen el ciclo, así como la medida en la que lo hacen.

En este trabajo veremos como funciona este ciclo de impronta y su función en el desarrollo embrionarios, la relación de los errores que pueden darse en este ciclo con el uso de TRA y las distintas técnicas de diagnóstico actuales.

Pero, primero debemos hacer un repaso sobre los diferentes elementos involucrados en este ciclo y los distintos síndromes que pueden aparecer debido a defectos de impronta.

### 1.1.Mecanismos de impronta

Las modificaciones epigenéticas se encuentran controladas y reguladas por la metilación del quinto carbono de una base de citosina (5-methylcytosine; 5mC). Esta metilación de la citosina se da en un 4% de las bases C del genoma humano. Su elevada frecuencia de aparición hace que se la conozca como “la quinta base”. La metilación de las citosinas suele estar asociada a una función represora de la transcripción (3,4).

La **metilación** del ADN en humanos está catalizada por la familia de ADN Metiltransferasas (DNMTs), de las que se conocen 4 activas en humanos:

- DNMT1: está encargada del mantenimiento de los patrones de metilación en la cadena naciente en procesos de replicación y reparación
- DNMT3A y DNMT3B: ambas se encuentran encargadas de la metilación *de novo*

- DNMT3L: regula a DNMT3A y DNMT3B permitiendo que se dé su actividad.

La **desmetilación** puede darse a través de dos vías:

- Desmetilación pasiva: Consiste en la inactivación de la DNMT1 durante la replicación del ADN, provocando la pérdida del patrón de metilación en la cadena naciente.
- Desmetilación activa: Se realiza por la acción de las proteínas TET1/2 (Ten Eleven Translocation proteins) que se encargan de oxidar la 5mC en varios estadios intermedios (5mC, 5hmC, 5fC, 5caC). Estas oxidaciones provocan que sean reconocidos por los mecanismos de reparación y escisión de bases que, posteriormente, los reemplazarán por nuevas bases C.

Otro mecanismo de desmetilación implica la desaminación de 5mC a Timidina por la acción de AID (activation-induced deaminase), que crea un *mismatch* T:G que es reconocido por TDG (thymine–DNA glycosylase) que remueve la base de Timina, dejando una Guanina activando la maquinaria de reparación de bases (BER; base pair excision repair) añadiendo una Citosina no metilada.

Otra forma por la cual se regula la expresión de los DMRs se da modificando la accesibilidad de los mecanismos de transcripción hacia los genes improntados. Lo cual se lleva a cabo mediante la alteración de la estructura tridimensional cromosómica. El proceso puede llevarse a cabo de dos formas:

- Modificaciones postraduccionales de las estructuras de las histonas. Que puede ser a través de:
  - La acetilación de residuos de lisinas, que cambia la carga de las histonas a parcialmente negativa resultando en una descompactación de la cromatina, permitiendo la transcripción. Y, por el contrario, la deacetilación de las histonas comporta una conformación represora, por el aumento positivo de la carga, que imposibilita la transcripción. El grado de acetilación de las histonas se encuentra regulado por las Acetiltransferasas (HAT) y Deacetilasas de histonas (HDAC).
  - La metilación de residuos de lisina y arginina varía la basicidad e hidrofobicidad sin cambiar la carga de las histonas modificando su afinidad por determinadas proteínas como factores de transcripción. La metilación está regulada por Metiltransferasas (HMT) y Desmetilasas (HDM) de histonas, con SAM como donador de grupos metilo.
- Unión de ARNs (ácido ribonucleico) no codificantes (ncRNAs), que se clasifican según su tamaño. Siendo los pequeños (20-30 nucleótidos) y medianos (31-200 nucleótidos) encargados de una regulación postranscripcional y los largos (lncRNAs) de una regulación pretranscripcional mediante reclutamiento de complejos proteicos.



## 1.2. Desórdenes de impronta (ImpDis)

Los genes afectados por impronta genética intervienen en el aporte de nutrientes fetales a través de la placenta y también regulan el crecimiento fetal. Tras el nacimiento, contribuyen al desarrollo de los órganos metabólicos y modulan las vías metabólicas. Por consiguiente, las principales características clínicas de los trastornos de impronta incluyen alteraciones del crecimiento intrauterino y posnatal, así como anomalías placentarias, complicaciones del embarazo y alteraciones metabólicas (4).

Basado en estudios en modelos murinos, se han sugerido tres clases funcionales de genes improntados: (4)

- Genes con funciones exclusivas de la fisiología y metabolismo placentario.
- Genes con funciones placentarias y fetales, con expresión en diferentes tejidos como (Tejido neuroendocrino, derivados mesodérmicos, tejidos cerebrales específicos...).
- Genes de expresión postnatal, con funciones en el crecimiento y metabolismo neonatal.

Se conocen 4 tipos distintos de alteraciones moleculares que pueden alterar la impronta genómica pudiendo dar lugar a desórdenes de impronta. Cualquiera de estas alteraciones conlleva la ausencia del producto del gen o genes regulados por impronta, o su sobreexpresión. Estas alteraciones son las siguientes:

- Disomía uniparental (UPD); Trisomía/Aneuploidía: es el resultado de la no disyunción o reordenamientos cromosómicos y supone la sobreexpresión o la no expresión de los genes improntados del cromosoma. Cuando aparece esta alteración existe riesgo de mosaicismo. (1,4)
- Variaciones estructurales patogénicas (SVs): causado por variaciones del número de copias (CNV) que pueden ser: deleciones, duplicaciones o inserciones. El fenotipo resultante es muy variable en función del tipo de alteración que aparezca, dentro de las mencionadas anteriormente. Estas alteraciones tienen el riesgo de que puedan ser heredadas. Pueden causar UPD en caso de duplicación o inserción del gen expresado.
- Variantes de un solo nucleótido (SNVs): igualmente su origen puede ser heredado o *de novo*. Solo tienen relevancia clínica si afecta al gen improntado o su expresión.
- Defectos de impronta (ImpDef): anomalías puramente epigenéticas. Están asociados con eventos de hipometilación o hipermetilación de un DMRs o varios, lo que se conoce como Multi-locus Imprinting Disturbances (MLID).

A día de hoy, se han definido 12 ImpDis distintos (6). De los cuales vamos a centrarnos en 4:

- 1) Síndrome de Russell-Silver (SRS). Se trata de un trastorno caracterizado por la restricción del crecimiento intrauterino, una deficiencia en el crecimiento después del nacimiento, desarrollo de la cabeza relativamente grande con apariencia facial triangular y frente prominente, asimetría del cuerpo y dificultades importantes de alimentación. Los síntomas varían mucho tanto en frecuencia como en gravedad dentro de las personas afectadas. La mayoría de las personas con SRS tienen una inteligencia normal, pero es común que se dé retraso motor y/o del habla.

Este síndrome comparte la región afectada con el síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS), pero presentan sintomatologías opuestas (6,7).

Se trata de un síndrome genéticamente heterogéneo, lo que significa que es causado por diferentes anomalías genéticas:

- El 40% de las veces las pruebas genéticas son normales para niños con diagnóstico clínico, lo que implica un alto porcentaje de casos de causa desconocida.
- Dentro del cromosoma 11, en el segmento 11p15.5, que se divide en dos regiones funcionales denominadas regiones centrales de impresión (ICR1 e ICR2) encontramos alrededor de un 30-60% de niños con SRS. Estos pacientes sufren pérdida de metilación (LOM) en la región ICR1 del cromosoma paterno, que afecta a los genes H19 y IGF2 (Figura 1).  
Dentro de este grupo, alrededor del 25-30% de los afectados con SRS por LOM en 11p15.5 también presentan otros LOM en otras regiones de impronta (MLID).  
Un 1% de las personas con SRS poseen mutaciones en IGF2 o en CDKN1C en el cromosoma 11.
- Alrededor del 5-10% de los afectados presentan UPD del cromosoma 7 de la madre (upd(7)mat).

- 2) Síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS). Es un trastorno caracterizado por un crecimiento excesivo y predisposición al cáncer. La sintomatología es muy variada, entre la que se pueden incluir: lengua grande (macroglosia), anomalías de la pared abdominal (onfalocoele, hernia umbilical o diástasis de rectos) y agrandamiento anormal de un lado o estructura del cuerpo (crecimiento excesivo lateralizado), lo que resulta en un crecimiento asimétrico del cuerpo. Este síndrome está asociado también a un mayor riesgo de desarrollar ciertos tipos de cánceres infantiles (6,7).

Otros signos que pueden aparecer son: un peso al nacer superior al promedio, un mayor crecimiento después del nacimiento (macrosomía), agrandamiento de ciertos órganos internos (organomegalia), surcos distintivos en los lóbulos de las orejas (pliegues y fosas de las orejas) y una apariencia facial característica.

El síndrome es causado por una regulación anormal de genes de 11p15.5, entre las que podemos encontrar:

- Hipometilación LOM del gen KCNQ1 en ICR2 del genoma materno, se da en un 50% de los casos y resulta en un aumento de la expresión de KCNQ10T1 y una disminución de la expresión de CDKN1C. (Figura 2)
- Hipermetilación GOM en ICR1 del genoma materno. Aparece en un 5% de los afectados, generando un aumento de la expresión de IGF2 y una disminución de la expresión de H19. (Figura 1).
- UPD paterna del cromosoma 11. Causa el 20% de las anomalías y, dentro de este grupo, un 10% de las veces presenta a su vez mosaicismo. La gravedad de la enfermedad varía según la cantidad y localización de las células afectadas (Figura 1).
- Mutación gen CDKN1C. Se da en el 5% de los casos.
- Anomalías cromosómicas (SVs) (deleción, duplicación o translocación) del cromosoma 11 que aparece en el 6% de los casos.

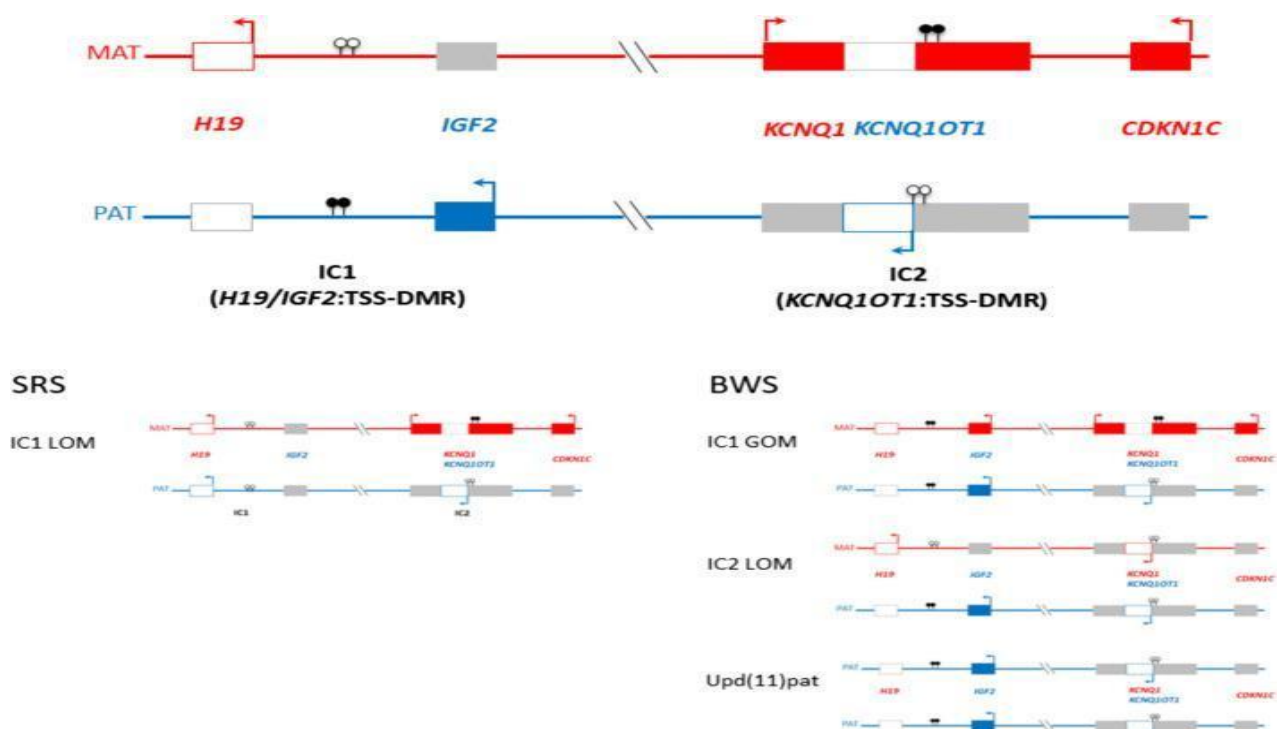


Figura 2. Representación de las regiones centrales de impresión (ICR1 e ICR2) del segmento 11q15.5. En esta se muestra el genotipo normal en grande diferenciando la región materna en rojo y la paterna en azul y los genotipos alterados que causan las enfermedades SRS y BWS. Se muestran como círculos negros las regiones metiladas y como círculos blancos las no metiladas. Están representados como rectángulos los distintos genes, su expresión está representada en azul si la expresión es paterna, en rojo si es materna y en gris si no la hay. (7)

- 3) Síndrome de Prader-Willi (PWS), es un trastorno genético que se caracteriza por la aparición en el primer año de vida de letargo, hiperfagia, hipotonía, crecimiento deficiente y otras deficiencias hormonales. En los niños mayores de un año es caracterizado por estatura baja, genitales pequeños y apetito excesivo. Todas las personas con SPW tienen algún deterioro cognitivo que va desde problemas de aprendizaje hasta una discapacidad intelectual de leve a moderada (6).

Dentro de las causas de este síndrome encontramos:

- Delección cromosómica de 15q11-q13, denominada región del síndrome de Prader-Willi/síndrome de Angelman (PWS/AS). Esta delección se da en el cromosoma paterno y es la causante de un 60% de los casos.
  - Cambios genéticos en la región PWS/AS, se dan en menos del 5% de los casos.
  - UPD materno del cromosoma 15. Afecta al 35% de los pacientes.
  - Defectos de impronta (ImpDef), que provocan el 1% de los casos del síndrome.
- 4) Síndrome de Angelman (AS), es un trastorno genético que afecta principalmente al sistema nervioso. Los rasgos característicos de esta condición incluyen retraso del desarrollo, discapacidad intelectual y/o severa para hablar, problemas con el movimiento y el equilibrio (ataxia), epilepsia, cabeza muy pequeña y comportamiento distintivo caracterizado por una disposición feliz y episodios no provocados de risa y sonrisas (6).

El síndrome de Angelman es causado por una mutación o una falta del gen de la ubiquitina proteína ligasa E3 UBE3A, dentro de las cuales distinguimos:

- Delección cromosómica de 15q11-q13 (región PWS/AS) de origen materno. Se da en un 70-75% de los casos.
- Mutaciones en UBE3A. Aparecen en un 10-20% de los afectados por este síndrome.
- Defectos de impronta (ImpDef). Son los causantes del 3 al 5% de los casos.
- UPD paterna. representa el 2-5% de los afectados.
- En el 10-15% de los casos la causa es desconocida.

Tabla 1. Tabla desordenes de impronta, alteraciones y síntomas. (6)

Síndrome	Alteraciones	Síntomas
SRS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Causa desconocida (40%)</li> <li>-LOM (11p15.5) pat en ICR1 (30-60%)</li> <li>-Upd(7)mat (5-10%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Restricción del crecimiento intrauterino.</li> <li>-Crecimiento deficiente después del nacimiento.</li> <li>-Retraso motor y/o del habla.</li> </ul>
BWS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-LOM (KCNQ1) mat en ICR2 (50%)</li> <li>-GOM mat en ICR1 (5%)</li> <li>-UPD(11) pat (20%)</li> <li>-Mutación CDKN1C (5%)</li> <li>-SVs crom 11 (6%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Macrosomía</li> <li>-Organomegalia</li> <li>-Onfalocele</li> <li>-Macroglosia</li> <li>-Crecimiento excesivo lateralizado.</li> </ul>
PWS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Del crom. 15q11-q13 pat (60%)</li> <li>-UPD(15) mat (35%)</li> <li>-SVs/SNVs 15q11-q13 (&lt;5%)</li> <li>-ImpDef (1%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Hiperfagia</li> <li>-Hipotonía</li> <li>-Crecimiento deficiente</li> <li>-Estatura baja</li> <li>-Genitales pequeños</li> <li>-Discapacidad intelectual.</li> </ul>
AS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Del crom. 15q11-q13 mat (70-75%)</li> <li>-Mut UBE3A (10-20%)</li> <li>-ImpDef (3-5%)</li> <li>-UPD(15) pat (2-5%)</li> <li>-Causa desconocida (10-15%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Retraso del desarrollo</li> <li>-Discapacidad intelectual y/o severa para hablar</li> <li>-Ataxia</li> <li>-Epilepsia.</li> </ul>

## 2.OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo de fin de máster, realizado en base a una revisión bibliográfica, son:

- El estudio de la impronta genómica y su función en el desarrollo embrionario.
- La relación de los defectos de impronta con las técnicas de reproducción asistida.
- La comparación de las diferentes técnicas de diagnóstico actuales y futuras líneas de investigación.

Todo esto con el objetivo de que haya un mayor conocimiento y entendimiento de estos problemas actualmente tan pocos conocidos que son los defectos de impronta.

## 3.MÉTODOS

Este trabajo ha requerido de una exhaustiva búsqueda bibliográfica de literatura relacionada con el tema tratado. La base de datos utilizada ha sido PubMed, con ayuda de descriptores como “Genomic imprinting”, “Genomic imprinting AND ART”, “Genomic imprinting AND diagnosis” o “Imprinting disorders”.

Tras realizar la búsqueda se obtuvieron 18 artículos en total, comprendidos entre el año 2009 y la actualidad. De los cuales la mayoría son del 2020 hacia delante, pues se ha intentado incluir la información lo más actualizada posible.

Los estudios incluidos en esta revisión bibliográfica son reviews, estudios longitudinales, estudios de cohorte retrospectivos... Además, las revistas que han publicado los artículos tienen un buen factor de impacto, algunos ejemplos son *Clinical Epigenetics*, *Genes & Development*, *Human Reproduction*, *Fertility and Sterility* y *Journal of Molecular Medicine*.

## 4.RESULTADOS

### 4.1 Ciclo de impronta genómica

La herencia de los patrones de impronta genómica requiere de un ciclo de reprogramación de la metilación. Este ciclo se divide en dos de desmetilación y una de metilación (1,3,4):

1. Reprogramación epigenética en PGCs (Primordial germ cells): Las PGCs son las células precursoras de los espermatozoides y los óvulos, estas se originan en el epiblasto temprano del embrión y migran a las gónadas para convertirse en células sexuales. La principal tarea de la reprogramación epigenética a la totipotencia es alejar a las PGC de la diferenciación característica de su origen somático y forzar a la reexpresión de marcadores de pluripotencia clave. Este proceso de reprogramación también revierte la impronta parental. Con la ayuda de métodos de análisis de genoma completo, se vio que es necesario un proceso combinatorio, casi secuencial y quizás dependiente del contexto de desmetilación activa y pasiva del ADN. (3)
- Desmetilación pasiva en PGCs: el silenciamiento de genes clave de la maquinaria de metilación del ADN en las PGCs facilita la desmetilación pasiva del ADN. A la edad E9.5, las metiltransferasas de novo (Dnmt3a/b) se reprimen y permanecen prácticamente ausentes durante el período de reprogramación. Aunque la metiltransferasa de mantenimiento Dnmt1 sigue expresándose y la proteína sigue siendo abundante, su cofactor esencial, Np95, está reprimido en E9.5 hasta E12.5, lo que impide que pueda llevar a cabo su función de mantenimiento de la metilación. (4)
- Desmetilación activa en PGCs: los procesos generales de desmetilación en las PGCs son independientes de la AID.  
También se observó la expresión de TDG por expresión de mRNA (Aunque no pudo ser detectado por inmunofluorescencia). Se vio que, en su ausencia, se producía una metilación bialélica de IGF2R (Insulin-like growth factor 2 receptor). Lo que da a entender que esta proteína podría desempeñar un papel en la desmetilación activa. (4)  
Se detectaron a su vez, componentes de la ruta de BER. Probablemente para la reparación del ADN tras la acción de AID/TDG o TET.  
Se conoce la presencia de TET1/2 por la presencia de los diferentes estadios intermedios de oxidación de 5mC. En estudios en ratones nulos para TET1/2, se vio que era compatible con el desarrollo de las PGCs y el manteniendo la fertilidad; pero la mayoría de descendientes mutantes degradaban durante la embriogénesis o morían brevemente después de nacer. Y los que no, presentaban hipermetilación en varias regiones de impronta. (4)

2. Remetilación de las células germinales: el establecimiento de marcas de metilación específicas de las células germinales después de la reprogramación de PGCs ocurre en diferentes momentos y en diferentes entornos celulares en machos y hembras. Lo que conduce a patrones específicos de espermatozoides y ovocitos.  
En machos, la remetilación inicia en E14.5 en pro espermatogonias, que están detenidas en fase G1 de mitosis. Llegando al 50% en E16.5. Los patrones de metilación están completamente establecidos en el nacimiento.  
En hembras, la remetilación de los gametos se inicia en el nacimiento durante la foliculogénesis, mientras que los óvulos se detienen en la profase de la meiosis I en etapa de diploteno.  
Se requieren DNMT3L y DNMT3A para establecer las improntas específicas del sexo. La pérdida de DNMT3A o DNMT3L en machos provoca una detención meiótica catastrófica en las espermatogonias y la pérdida apoptótica de espermatocitos. Por otro lado, los ovocitos con alteración de la metilación pueden dar lugar a embriones que se detienen en estadio E10.5 debido a la falta de control de la impronta. (3,4)
3. Reprogramación epigenética en embriones preimplantacionales: la segunda ola de reprogramación epigenética global ocurre durante la embriogénesis temprana y es crucial para el establecimiento de la pluripotencia. El embrión recién formado sufre una desmetilación masiva y global del ADN, alcanzando los niveles de metilación más bajos en etapa temprana de blastocisto (32-64 células).

El proceso de desmetilación en embriones difiere del de las PGCs. En primer lugar, la desmetilación es casi absoluta en las PGCs, con la excepción de algunos retroelementos resistentes. mientras que la metilación del ADN de las ICRs se conserva en los embriones, permitiendo la expresión génica específica del progenitor de origen en tejidos posteriores. En segundo lugar, el genoma del cigoto (que contiene contribuciones haploides del genoma del ovocito y del espermatozoide, cada uno con sus propias propiedades de cromatina específicas) sigue una cinética de desmetilación del ADN diferente después de la fertilización. (4)

Gracias a trabajos con modelos murinos se sabe que el genoma del espermatozoide maduro muestra una metilación global de CpG del 80% al 90%, el nivel más alto de metilación global del ADN de cualquier célula del ratón (Popp et al. 2010). Sin embargo, el genoma paterno aparentemente se desmetila por completo poco después de la formación del cigoto. Esto es debido a un mecanismo de desmetilación activa, ya que se completa antes del inicio de la replicación del ADN en la etapa pronuclear. Por el contrario, el genoma materno muestra niveles de metilación global más bajos (~40%) y sufre una desmetilación dependiente de la replicación. (4)

TET3 se localiza específicamente en el pronúcleo paterno, donde es responsable de la desmetilación activa mediante de la conversión de 5mC a 5hmC. La proteína STELLA se encarga de proteger al genoma materno de la maquinaria de desmetilación. Aunque STELLA se localiza en ambos pronúcleos del cigoto, su unión al genoma paterno es



débil. La función protectora está mediada específicamente por la interacción de STELLA con la cromatina marcada con la histona H3 Lys9 dimetilada (H3K9me2), que se encuentra enriquecida en el pronúcleo materno, pero no en el paterno. Esta interacción entre los nucleosomas de STELLA y H3K9me2 altera la configuración de la cromatina, impidiendo la unión y la actividad de TET3. Los embriones que carecen de STELLA muestran fenotipos graves, que rara vez se desarrollan más allá de la etapa de cuatro células y pocos embriones sobreviven hasta el nacimiento. (4)

En el genoma materno, la pérdida pasiva de 5mC se logra mediante la exclusión nuclear de DNMT1. Sin embargo, la exclusión nuclear de DNMT1 plantea un problema para el mantenimiento requerido de las secuencias epigenéticas que deben conservar sus patrones de metilación de ADN durante todo el desarrollo. Se demostró que la forma específica del ovocito de DNMT1 (DNMT1o) es necesaria para el mantenimiento de la impronta sólo durante un ciclo celular en la etapa de ocho células. Debido a que la forma somática de DNMT1 no se detectó hasta la etapa de blastocisto, el mantenimiento de las improntas durante las divisiones de escisión temprana se atribuyó a metiltransferasas de ADN no identificadas. (4)

ZFP57, una proteína de dedo de zinc con dominio de caja asociada a Kruppel (KRAB), también se ha asociado con el mantenimiento de la impronta. La pérdida de ZFP57 en embriones y células madre embrionarias de ratón provoca la hipometilación de los ICR paternos y maternos, así como la desregulación de los genes improntados. Las proteínas de dedo de zinc KRAB a menudo actúan como represores epigenéticos a través de su interacción con TRIM28. Al ser un factor de transcripción que se une al ADN, la localización de ZFP57 en los ICR abre la perspectiva del reconocimiento específico de la secuencia y el mantenimiento de la impronta. La pérdida de Trim28 materno por sí sola es letal para el embrión. El momento de la degradación y los fenotipos embrionarios de los mutantes maternos de Trim28 son muy variables. (4)

Sólo en etapas embrionarias posteriores, después de que los niveles de DNMT1 aumentan significativamente en los núcleos, se produce el mantenimiento de la metilación canónica del ADN.

Se creía que el mantenimiento de la metilación en las regiones de impronta en embriones preimplantacionales era muy robusto hasta que el análisis de metilación de todo el genoma mostró que incluso los ICR están parcialmente desmetilados, especialmente en las regiones periféricas. Sin embargo, dicha pérdida tendría escasa o nula repercusión mientras el sitio de unión de ZFP57 permanezca metilado y sea el objetivo del complejo ZFP57/TRIM28. Las enzimas de metilación de novo DNMT3A y DNMT3B, que también se encuentran en el complejo ZFP57/TRIM28, podrían explicar la recuperación de la metilación del ADN en estas regiones periféricas en etapas posteriores del desarrollo. (4)

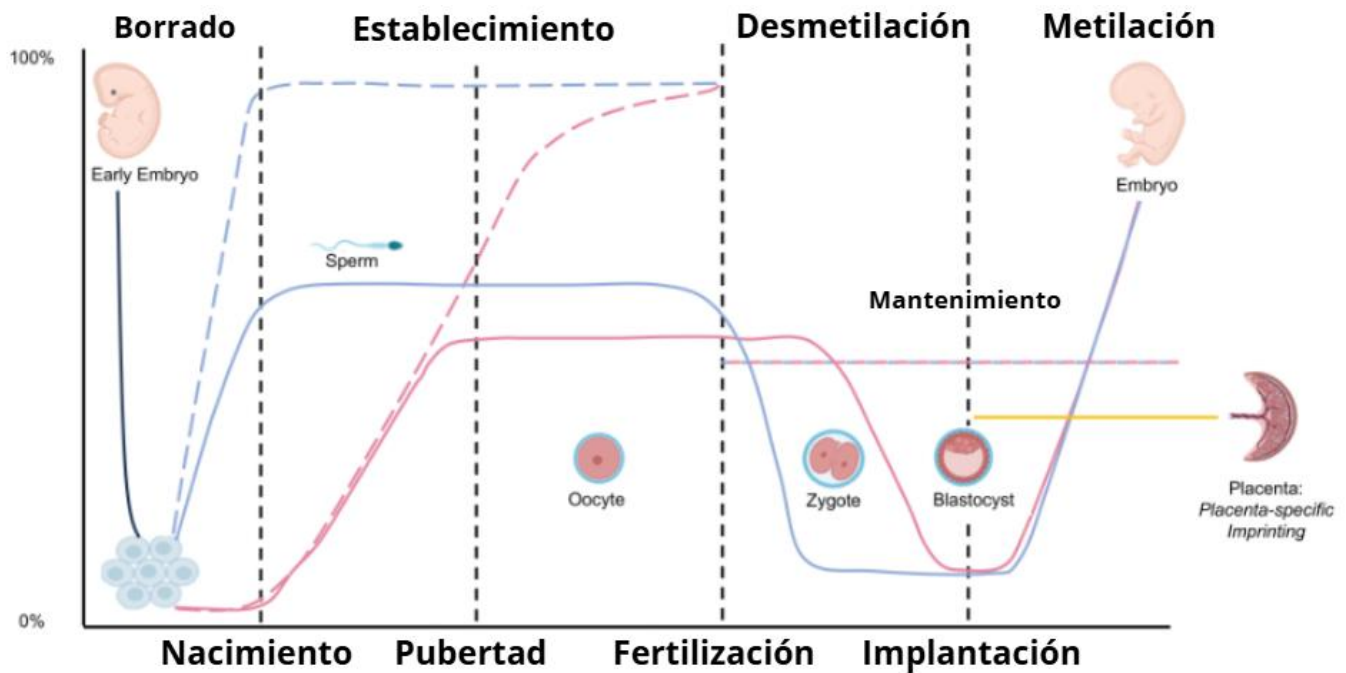


Figura 1. Imagen modificada del trabajo (1) El ciclo de la vida de la impronta. En las células germinales primordiales (PGC) del embrión, la metilación del ADN generalmente se borra (línea negra continua). A continuación, se establecen señales de metilación de novo durante la gametogénesis. Se puede observar una dicotomía dependiente del sexo: en los ovocitos, la metilación general del ADN se establece después del nacimiento (línea roja continua), mientras que en los espermatozoides, ocurre poco después de la desmetilación en el embrión y finaliza al nacer (línea azul continua). El establecimiento de DMRs con impronta genómica se puede observar al mismo tiempo (líneas discontinuas), pero la desmetilación no afecta a los DMRs con impronta. Los loci sin impronta se desmetilan rápidamente de forma activa en el caso de los genomas paternos y de forma pasiva tras la replicación del ADN en el caso de los genomas maternos. Señalar que la firma de la impronta es diferente para varios genes en la placenta y el embrión.(1)

## 4.2 Relación defectos impronta con TRA

Las TRA son un tratamiento ampliamente aceptado para parejas infértiles. Al mismo tiempo, numerosos estudios han apuntado que puede existir una correlación entre las TRA y el aumento de la incidencia de trastornos de impronta, poco frecuentes como BWS, SRS, PWS o AS.

Un estudio epidemiológico reciente en Japón, donde se comparó la incidencia del uso de TRA en más de 900 pacientes con desórdenes de impronta, se observó que la frecuencia de estos en personas concebidas mediante TRA, comparada con los concebidos espontáneamente era 4,46 y 8,91 veces mayor para BWS y SRS respectivamente.

Los individuos concebidos por TRA presentaban también un mayor número de variaciones en la metilación del ADN en DMVs (DNA methylation variations) además de ser más grandes y extendidas. También se vio que los DMVs tendían más a ser eventos de metilación que de desmetilación y se presentaron con mayor frecuencia en regiones metiladas específicas de los espermatozoides. Se observaron patrones de metilación aberrantes en la mayoría de los pacientes TRA. Estos patrones se encontraron en múltiples loci de impronta, en DMRs maternas y paternas, con eventos de hipermetilación e hipometilación y en mosaico.

Los autores del artículo sugieren que estos datos indicarían que los cambios se produjeron tras la fecundación y no en el propio gameto, pues de haberse producido en uno solo de los gametos las metilaciones aberrantes solo se presentarían en DMRs materna o paterna según el gameto y no habría presencia de mosaicismo. Además, la mayor frecuencia de DMV en el dominio de metilación específico paterno, sugiere que se produjeron justo después de la fecundación, debido a que en esta etapa los procesos de desmetilación se dan de forma activa en el genoma paterno y pasivo en el materno (8).

Varios estudios han realizado pruebas para evaluar si el uso de diferentes TRA afecta al índice de pacientes con desórdenes de impronta y otros riesgos epigenéticos. Se evaluaron combinaciones específicas de TRA (IVF-ET, IVF-FET, ICSI-ET y ICSI-FET) comparadas con niños nacidos de parejas con infertilidad sin la asistencia de terapia de TRA.

Todas las combinaciones presentaron un pequeño aumento del riesgo de PWS, SRS y de BWS. Sin embargo, de las diferentes combinaciones, la terapia IVF-ET mostró menor perturbación epigenética que la IVF-FET o la ICSI-ET. La terapia ICSI combinada con terapia de FET fue responsable del mayor riesgo elevado de PWS, SRS y de BWS. (9,10,11,12)

Tabla 2. Asociación entre terapias específicas de reproducción asistida y trastornos de impronta. (9)

	IVF-ET	IVF-FET	ICSI-ET	ICSI-FET
TRA en comparación con no-TRA con infertilidad parental				
IDs	1.07 (0.61–1.89)	0.72 (0.17–3.05)	0.97 (0.51–1.86)	4.57 (2.17–9.64)
PWS/SRS	0.99 (0.42–2.34)	1.31 (0.31–5.61)	0.88 (0.36–2.16)	4.60 (1.72–12.28)
BWS	1.64 (0.73–3.68)	-	1.12 (0.41–3.09)	6.69 (2.09–21.45)
Procedimientos de TRA comparados directamente				
IDs	-	0.45 (0.13–1.55)	0.85 (0.42–1.74)	2.44 (1.09–5.46)
PWS/SRS	-	0.99 (0.26–3.81)	0.87 (0.33–2.32)	3.29 (1.02–10.57)
BWS	-	-	0.72 (0.24–2.16)	1.91 (0.65–5.57)

En la tabla podemos observar el riesgo relativo de las diferentes técnicas de reproducción asistida (IVF-ET, IVF-FET, ICSI-ET y ICSI-FET) con varios defectos de impronta (IDs), Síndrome de Prader-Willi/ Síndrome de Russell-Silver (PWS/SRS) y Síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS). Comparando el efecto de las técnicas directamente y con el no uso de las TRA en parejas con infertilidad.

Las TRA también redujeron la similitud del metiloma del ADN entre pares de gemelos. Los epigenomas de los neonatos concebidos mediante TRA son, en general, similares a los de los niños concebidos de forma natural, lo que podría explicar en parte por qué la mayoría de los hijos de TRA son generalmente sanos. Sin embargo, Wei Chen *et al* (13) observaron que las TRA aumentan la heterogeneidad del metiloma del ADN en los pares de gemelos e inducen cambios locales sutiles en diferentes capas epigenéticas, lo que respalda la teoría de que las TRA aumentan el riesgo de anomalías epigenómicas. (13)

Es importante destacar que las alteraciones únicas y comunes inducidas por diferentes procedimientos de TRA se vieron altamente enriquecidas en los procesos relacionados con el sistema nervioso, el sistema cardiovascular y el metabolismo de los glucolípidos, etc. Lo cual tiene sentido teniendo en cuenta los síntomas comunes de los desórdenes de impronta (13).

#### 4.2.2 Modelos murinos para estudios de impronta y TRA

La posibilidad de evaluar exhaustivamente los efectos inducidos por las TRA sobre la metilación y la impronta del ADN se ve limitada por la naturaleza heterogénea de los tratamientos de fertilidad. Por lo que es necesario el uso de modelos murinos para poder hacer estudios y correlaciones que en humanos no serían posibles. (10)

Los modelos de ratón son una herramienta esencial para el estudio de la impronta genómica, gracias a que existe una fuerte conservación de los mecanismos subyacentes a la impronta en el ratón y el hombre.

Numerosos grupos han reportado errores de metilación del ADN en las improntas de ovocitos, placentas y embriones después de procedimientos de superovulación en ratones. Los modelos de ratón pueden ser recapitulados hacia estudios en humanos. Uno de estos estudios mostró que la metilación de H19, PEG1 y KCNQ1OT1 también se altera en ovocitos humanos después de un evento de superovulación. Los estudios en ratones sugieren que la

superovulación tiene el potencial de influir en la expresión de factores ovocitarios que regulan las improntas de metilación posteriores a la fertilización (10).

Se ha demostrado que la criopreservación de embriones de ratón afecta a la metilación en el gen KvDMR1. Otro estudio halló que los blastocistos y las mórulas de ratones concebidos mediante FIV presentaban una metilación anormal del ADN en el locus de impronta Igf2/H19.

Se ha demostrado que otros numerosos factores, como los medios de cultivo y la selección de embriones cultivados de crecimiento rápido o lento para la implantación, tienen consecuencias epigenéticas en los distintos locus de impronta.

Los estudios con ratones también han permitido identificar ciertos sesgos en las poblaciones humanas y TRA, como la edad materna. Si bien la edad materna puede influir en defectos cromosómicos como la UPD, varios estudios han demostrado que no afecta a la metilación de las improntas (10).

Si bien los modelos murinos han aportado avances en el conocimiento de la impronta genómica, existen grandes limitaciones para modelar los defectos de impronta genómica en humanos. Por ejemplo, un factor causal del BWS, el UPD11 paterno, no puede modelarse adecuadamente en ratones debido a que la disomía uniparental del cromosoma 7 murino, en el cual se encuentran los genes a los que afecta el BWS con el IGF2, causa letalidad embrionaria. Además, los pacientes con UPD11 paterno presentan mosaicismo, algo que no se ha observado en ratones. Incluso las sutiles divergencias en la regulación genética y epigenética entre ratones y humanos justifican la necesidad de modelos humanos de impronta genómica (10).

#### 4.2.3 Las iPSC como herramienta para modelar trastornos de impronta

Debido a las limitaciones que presentan los modelos de ratón tradicionales, se pueden utilizar otras estrategias que involucran iPSC (induced pluripotent stem cell) para estudiar los trastornos de impronta y los efectos de las TRA en la regulación de los genes improntados. Las iPSC derivadas de ID (Imprinting Disturbances) ofrecen una alternativa prometedora, ya que la diferenciación específica de linaje de las iPSC también se puede utilizar para investigar más a fondo los efectos de los trastornos de impronta en diversos tejidos que serían difíciles de obtener de pacientes humanos. (10)

El estudio de las alteraciones de la metilación del ADN que se producen y que inducen la pérdida de impronta (LOI) durante la reprogramación de iPSC podría ofrecer información valiosa sobre las vulnerabilidades de los loci de impronta en los trastornos de impronta asociados a TRA. El restablecimiento epigenético que se produce durante la reprogramación in vitro de iPSC se caracteriza por una desmetilación global del ADN, que también se observa durante los eventos de reprogramación en el embrión temprano y la línea germinal durante el desarrollo de los mamíferos placentarios. (10)

Hasta que se realicen estudios de cohorte a gran escala con métodos de análisis exhaustivos y estandarizados en la población de pacientes con TRA, los sistemas modelo en ratones seguirán siendo el estándar de oro para comprender cómo las TRA influyen en el epigenoma. (10)

#### 4.3 Técnicas de diagnóstico

El diagnóstico molecular de los trastornos de impronta es complejo debido al amplio espectro de defectos moleculares y su presentación en mosaico. Además, la decisión de realizar una prueba molecular se ve dificultada por la heterogeneidad clínica de los distintos trastornos, que muchas veces comparten sintomatología. Sin embargo, la identificación precisa del tipo de defecto suele ser un prerequisite para el tratamiento clínico y el asesoramiento genético. (7)

Aunque la mayoría de los pacientes con resultados positivos muestran los resultados moleculares esperados, en múltiples estudios realizados se han identificado un número considerable de alteraciones moleculares clínicamente inesperadas, así como cambios aún no reportados, distribuciones en mosaico discrepantes, cambios moleculares atípicos, loci improntados en cromosomas distintos o trastorno de impronta multilocus.

De manera similar, los cambios moleculares detectados dependían de las estrategias y pruebas empleadas por los diferentes laboratorios. Un estudio demostró cómo las pruebas multilocus podrían optimizar el diagnóstico para pacientes con trastornos de impronta clínica no clásicos y menos familiares. Al detectar alteraciones atípicas de la impronta en los cromosomas 11, 14, 15 y 20, aumentando la tasa de diagnósticos positivos en un 2,5%. Estos casos muestran que se deben aplicar estrategias de pruebas integrales en las pruebas diagnósticas. El diagnóstico molecular preciso es necesario como base para un manejo específico, además, proporciona la base para el asesoramiento genético. (14)

Las pruebas moleculares que se aplican actualmente en el diagnóstico de ID se limitan principalmente a loci específicos de la enfermedad, pero los factores técnicos, biológicos y clínicos influyen en el rendimiento diagnóstico. Cada vez hay más técnicas moleculares disponibles (Tabla 3) que se dirigen a una sola región de impronta o a varias DMR. (15)

Otro problema de las pruebas diagnósticas para las ID es el amplio espectro de alteraciones moleculares: un locus improntado puede verse afectado por diferentes tipos de epimutaciones, además, en algunas ID, incluso diferentes loci pueden verse afectados. Por lo tanto, el estudio diagnóstico para cada ID requiere un profundo conocimiento de los posibles hallazgos moleculares y las limitaciones de las técnicas aplicadas. Para variantes putativas, podrían requerirse pruebas de laboratorio adicionales (ej., cariotipo molecular, FISH, genotipado); para mutaciones puntuales, debe realizarse una estimación bioinformática de su patogenicidad, junto con estudios familiares para determinar el modo de transmisión y segregación con el fenotipo.

El análisis cuantitativo de la metilación del ADN mediante el ensayo MassARRAY puede mejorar la detección de correlaciones epigenotipo-fenotipo, lo que puede promover un mejor asesoramiento genético y la atención médica para estos pacientes. (16,17)

La NGS tiene el potencial de detectar todos los tipos de (epi)mutaciones a la vez, puede dirigirse a múltiples loci y permite una detección en mosaico más sensible. Esto la haría la mejor opción para pruebas prenatales, si no fuera por sus limitaciones de complejidad y tiempo, pudiendo tardar varios meses.

Tabla 3. Técnicas de diagnóstico para impronta. (15)

Técnicas de diagnóstico para impronta								
Método	Loci por test	UPD	Epimutaciones	CNV	SNV	Valido para test prenatal	ADN necesario	Limitaciones
MS Southern blot	1	Si	Si	Si	No	Si	5 µg	Requiere grandes cantidades de ADN, requieren mucho tiempo. La sensibilidad es relativamente baja en comparación con otras técnicas
Seq. bisulfito	1	Si	Si	No	No	No	80 ng	Es un proceso costoso y lento que requiere la clonación de amplicones tras la modificación del ADN con bisulfito. Existe riesgo de sesgo relacionado con la modificación incompleta del ADN.
MS PCR	1	Si	Si	Si	No	Si	1 µg	No hay discriminación entre los diferentes tipos de (epi)mutaciones
ASMM RTQ-PCR (allele-specific methylated multiplex real time quantitative PCR)	1	Si	Si	No	No	Si	150 ng	No hay kit disponible comercialmente. Solo discriminación indirecta de CNV.
Microsatélites	1	Si	No	Si	No	Si	<20ng/locus	Se requiere ADN de al menos uno de los padres; restringido a la detección de CNV y UPD
MS-HRMA (high resolution melting analysis)	1	Si	Si	Si	No	Si	1 µg	Riesgo de sesgo relacionado con la modificación incompleta del ADN. No examina sitios CpG discretos, sino el perfil regional. Requiere una validación exhaustiva.
MS pirosecuenciación	1	Si	Si	Si	No	Si	<100 ng	Es caro y requiere equipo especializado.
MS-MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification)	Hasta 46	Si	Si	Si	No	Si	50-100 ng	Pueden tener una sensibilidad reducida para la detección de epimutaciones en mosaico y UPD. Las SNV pueden interferir. Según la composición de la sonda del kit, es posible discriminar entre los tipos de (epi)mutaciones y UPD.
MS-SNuPE (single nucleotide primer extensión)	Hasta 10	Si	Si	Si	No	Si	100 ng	No hay ningún kit comercial disponible. Sólo permite una discriminación indirecta de CNV y epimutaciones
Kariotipo molecular (arrayCGH, SNP array)	Genoma completo	(SNP) Si (CGH) No	No	Si	No	Si	250 ng	Solo se detectan alteraciones desequilibradas. No se detectan epimutaciones. No se detecta UPD mediante arrayCGH.
MS-NGS (next generation sequencing)	(Epi) Genoma completo	Si	Si	Si	Si	No	<100 ng	Actualmente, su aplicación, incluida la interpretación bioinformática, es demasiado compleja y requiere mucho tiempo, por lo que podría ser necesario un filtrado centrado en los loci improntados conocidos para evitar hallazgos incidentales.



#### 4.3.2 Pruebas prenatales

Los hallazgos prenatales influyen en el manejo perinatal y, por lo tanto, mejoran el pronóstico de las ImpDis asociadas con complicaciones clínicas graves, aunque a veces transitorias, en el período neonatal. Por lo tanto, el diagnóstico prenatal puede ser crucial para un manejo adecuado no solo del embarazo en sí, sino que también podría tener un efecto a lo largo de la vida.

El diagnóstico molecular de ImpDis es complejo, ya que varios tipos de cambios moleculares a nivel del ADN pueden provocar ImpDis. (18,19)

En los individuos afectados, las alteraciones (epi)génicas pueden limitarse a un solo tejido; por lo tanto, los falsos negativos no son algo infrecuente. Por otro lado, la detección de una impronta alterada en un tejido no puede considerarse un factor pronóstico de la gravedad clínica, ya que otros tejidos pueden no mostrar la alteración debida al mosaicismo.

En las ImpDis con crecimiento acelerado, suele existir un mayor riesgo de tumores en la infancia. (18)

Respecto al riesgo de recurrencia, puede ser tan bajo como cero en caso de alteraciones moleculares poscigóticas (p. ej., upd(11)pat en el síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS)) o de hasta el 100 % en caso de una mutación de efecto materno que desencadena ImpDefs secundarias en la descendencia.

Para mejorar el diagnóstico clínico y el tratamiento médico, se han establecido directrices de consenso internacionales para la ImpDis más comunes. Sin embargo, estos artículos se centran en las manifestaciones posnatales y sus sistemas de puntuación para el diagnóstico, y aún no se ha realizado una evaluación sistemática de los hallazgos prenatales. (18,19)

#### 4.3.3 Futuras líneas de investigación

A día de hoy quedan muchas incógnitas por descubrir acerca de los ImpDef, en este trabajo vamos a enfocarnos en la asociación entre los distintos genes afectados por defectos de impronta y sus síntomas, en concreto de SRS. Nos centramos en regiones promotoras que presentan DMVs correspondientes a 19 genes candidatos para sus síntomas clínicos (Tabla 4) (8):

Los estudios a nivel genético de los DMVs y su impacto en los distintos ImpDef conocidos, ayudarían a tener un mayor conocimiento de estos.

Tabla 4. Genes diferencialmente metilados, funciones y asociación sintomatología SRS. Creación propia. (8,20)

Síntomas	Gen	Funciones
<b>Restricción del crecimiento</b>	<b>TSPAN1</b>	Transducción de señales celulares, adhesión, migración y tráfico de proteínas. Regula la diferenciación neuronal.
	<b>LIMS2</b>	Desempeña un papel en la modulación de la propagación y migración celular.
	<b>SCHIP1</b>	Tamaño y forma facial. Los ratones deficientes en SCHIP1 tienen problemas esqueléticos, craneofaciales y digestivos.
	<b>HOXA5</b>	Regula la expresión genética, la morfogénesis y la diferenciación, y regula positivamente el supresor tumoral p53.
	<b>ABALON</b>	Apoptosis (desarrollo embrionario)
	<b>AATBC</b>	Apoptosis (desarrollo embrionario)
<b>Tumorigénesis</b>	<b>NPM2</b>	Actividad de unión del ARN a la cromatina y a las histonas. Participa en diversos procesos, como el desarrollo del blastocisto, la diferenciación de los ovocitos y la regulación del ciclo celular.
	<b>GSTO2</b>	Participa en el metabolismo de xenobióticos y carcinógenos.
	<b>H19</b>	El producto de este gen es un ARN largo no codificante que funciona como supresor tumoral. Las mutaciones en este gen se han asociado con el síndrome de Beckwith-Wiedemann y la tumorigénesis de Wilms.
	<b>KCNQ10 T1</b>	Regula la transcripción de múltiples genes diana mediante modificaciones epigenéticas. Desempeña un papel importante en la carcinogénesis colorrectal.
	<b>MEG3</b>	Inhibe la proliferación de células tumorales in vitro. También interactúa con el supresor tumoral p53 y regula la expresión del gen diana p53. Su eliminación potencia la angiogénesis in vivo.
	<b>BANP</b>	Funciona como supresor de tumores y regulador del ciclo celular.
<b>Hipoglicemia</b>	<b>SLC25A25</b>	Transportan metabolitos, nucleótidos y cofactores a través de la membrana mitocondrial y, de este modo, conectan y/o regulan las funciones del citoplasma y la matriz.
	<b>TCF7L2</b>	Implicado en la homeostasis de la glucosa en sangre. Las variantes genéticas de este gen se asocian con un mayor riesgo de diabetes tipo 2.
<b>Audición defectuosa</b>	<b>RIPOR2</b>	Este gen codifica un inhibidor atípico de la proteína G pequeña RhoA. Esta proteína codificada es un componente de los estereocilios de las células ciliadas, esencial para la audición. Una mutación en el sitio de empalme de este gen provoca pérdida auditiva en pacientes humanos.
<b>Malformación cardíaca</b>	<b>CMYA5</b>	Funciona como represor de la actividad transcripcional mediada por la calcineurina. Participa en el ensamblaje de los grupos de receptores de rianodina (RYR2) en el músculo estriado.
	<b>PRKAG2</b>	Este gen pertenece a la familia de subunidades gamma de la AMPK, la cual monitoriza el estado energético celular y sus funciones. Las mutaciones en este gen se han asociado con el síndrome de Wolff-Parkinson-White, la miocardiopatía hipertrófica familiar y la enfermedad cardíaca por almacenamiento de glucógeno.
	<b>CTF1</b>	La proteína codificada por este gen es una citocina secretada que induce hipertrofia de miocitos cardíacos in vitro.

## 5. DISCUSIÓN /ARGUMENTACIÓN CRÍTICA

Esta revisión proporciona una visión detallada de los aspectos clave relacionados con los desórdenes de impronta genética, su relación con las técnicas de reproducción asistida y las distintas técnicas de diagnóstico.

Los hallazgos obtenidos en esta revisión bibliográfica permiten entrever que la literatura científica publicada acerca de los desórdenes de impronta genética es escasa y muy reciente; y que todavía quedan muchas incógnitas por descubrir y campos que abarcar.

El principal problema es el efecto desconocido que tienen las técnicas de reproducción asistida sobre los mecanismos de impronta. En esta revisión hemos podido observar varios estudios que indican que el uso de las TRA aumenta la incidencia de niños nacidos con desórdenes de impronta y que el uso de unas técnicas u otras también afectan al aumento del riesgo relativo de estas, como se observa en la Tabla 2. Por lo que podemos deducir que, en todos los casos en los que sean posibles, se deberían utilizar técnicas menos agresivas como IVF-ET. (9-13)

Por esto mismo, el uso de los modelos murinos y de iPSC nos son útiles para el estudio de los distintos trastornos de impronta y los efectos de las TRA en la regulación de los genes improntados, así como para tener un mayor entendimiento de los mecanismos involucrados en los distintos puntos del ciclo de impronta como son los procesos de desmetilación y restablecimiento del patrón de metilación. (10)

Por otro lado, hemos visto que el diagnóstico molecular de los trastornos de impronta es complejo por las diferentes causas explicadas en la revisión, pero su diagnóstico es clave para el correcto tratamiento clínico y asesoramiento genético. Tal como se muestra en la Tabla 3, existen múltiples técnicas para el diagnóstico molecular, todas con sus pros y sus contras y debe utilizarse la indicada para cada caso, priorizando el uso de pruebas multilocus. (7,14,15,16,17) Adicionalmente, deberían priorizarse el uso de las técnicas que permiten un diagnóstico prenatal, pues son cruciales para un correcto manejo perinatal y pueden tener un efecto a lo largo de la vida. Por todo lo mencionado anteriormente, debería proponerse el

establecimiento de directrices para la detección y manejo prenatal de las distintas ImpDis. (18,19)

Para finalizar, enfatizo que las futuras líneas de investigación deberían enfocarse en obtener un mayor entendimiento de los procesos y mecanismos que provocan y componen los distintos desórdenes de impronta. Puesto que en varios de los artículos analizados en este trabajo señalaron como limitaciones o futuras líneas de investigación esta falta de información. Dentro de estos se ha hecho especial mención en esta revisión a los genes con DMVs que componen un desorden específico y que, en conjunto con otros genes con DMV cuyas funciones son desconocidas, explicarían la sintomatología y desarrollo de ese desorden y otros relacionados. (8,20)

## 6. CONCLUSIONES

La revisión proporciona una visión detallada de los procesos y mecanismos conocidos implicados en los procesos de impronta genómica, así como los posibles defectos y síndromes que se pueden encontrar.

Podemos afirmar, que el uso de TRA aumenta el riesgo de padecer desórdenes de impronta y que este aumento depende de las técnicas utilizadas.

Observamos, que existen múltiples técnicas diagnósticas con distintas ventajas y desventajas unas con otras, siendo la más prometedora la NGS.

Para concluir, el campo de la impronta genómica es relativamente nuevo y quedan muchas áreas por abarcar.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Eggermann T. (2024). Human Reproduction and Disturbed Genomic Imprinting. *Genes*, 15(2), 163. <https://doi.org/10.3390/genes15020163>
2. Butler M. G. (2009). Genomic imprinting disorders in humans: a mini-review. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 26(9-10), 477–486. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9353-3>
3. Ishida, M., & Moore, G. E. (2013). The role of imprinted genes in humans. *Molecular aspects of medicine*, 34(4), 826–840. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.06.009>
4. Messerschmidt, D. M., Knowles, B. B., & Solter, D. (2014). DNA methylation dynamics during epigenetic reprogramming in the germline and preimplantation embryos. *Genes & development*, 28(8), 812–828. <https://doi.org/10.1101/gad.234294.113>
5. Argyraki, M., Damdimopoulou, P., Chatzimeletiou, K., Grimbizis, G. F., Tarlatzis, B. C., Syrrou, M., & Lambropoulos, A. (2019). In-utero stress and mode of conception: impact on regulation of imprinted genes, fetal development and future health. *Human reproduction update*, 25(6), 777–801. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz025>
6. [NORD; National Organization for Rare Disorders]
7. Eggermann, T., Brück, J., Knopp, C., Fekete, G., Kratz, C., Tasic, V., Kurth, I., Elbracht, M., Eggermann, K., & Begemann, M. (2020). Need for a precise molecular diagnosis in Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndrome: what has to be considered and why it is important. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 98(10), 1447–1455. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01966-z>
8. Hattori, H., Hiura, H., Kitamura, A., Miyauchi, N., Kobayashi, N., Takahashi, S., Okae, H., Kyono, K., Kagami, M., Ogata, T., & Arima, T. (2019). Association of four imprinting disorders and ART. *Clinical epigenetics*, 11(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0623-3>
9. Ye, M., Reyes Palomares, A., Iwarsson, E., Oberg, A. S., & Rodriguez-Wallberg, K. A. (2024). Imprinting disorders in children conceived with assisted reproductive technology in Sweden. *Fertility and sterility*, 122(4), 706–714. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2024.05.168>
10. Horánszky, A., Becker, J. L., Zana, M., Ferguson-Smith, A. C., & Dinnyés, A. (2021). Epigenetic Mechanisms of ART-Related Imprinting Disorders: Lessons From iPSC and Mouse Models. *Genes*, 12(11), 1704. <https://doi.org/10.3390/genes12111704>
11. Khambata, K., Raut, S., Deshpande, S., Mohan, S., Sonawane, S., Gaonkar, R., Ansari, Z., Datar, M., Bansal, V., Patil, A., Warke, H., & Balasinor, N. H. (2021). DNA methylation defects in spermatozoa of male partners from couples experiencing recurrent pregnancy loss. *Human reproduction (Oxford, England)*, 36(1), 48–60. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa278>

12. Hara-Isono, K., Matsubara, K., Mikami, M., Arima, T., Ogata, T., Fukami, M., & Kagami, M. (2020). Assisted reproductive technology represents a possible risk factor for development of epimutation-mediated imprinting disorders for mothers aged  $\geq$  30 years. *Clinical epigenetics*, 12(1), 111. <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00900-x>
13. Chen, W., Peng, Y., Ma, X., Kong, S., Tan, S., Wei, Y., Zhao, Y., Zhang, W., Wang, Y., Yan, L., & Qiao, J. (2020). Integrated multi-omics reveal epigenomic disturbance of assisted reproductive technologies in human offspring. *EBioMedicine*, 61, 103076. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103076>
14. Mackay, D., Bliet, J., Kagami, M., Tenorio-Castano, J., Pereda, A., Brioude, F., Netchine, I., Papingi, D., de Franco, E., Lever, M., Sillibourne, J., Lombardi, P., Gaston, V., Tauber, M., Diene, G., Bieth, E., Fernandez, L., Nevado, J., Tümer, Z., Riccio, A., ... Eggermann, T. (2022). First step towards a consensus strategy for multi-locus diagnostic testing of imprinting disorders. *Clinical epigenetics*, 14(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s13148-022-01358-9>
15. Eggermann, T., Brioude, F., Russo, S., Lombardi, M. P., Bliet, J., Maher, E. R., Larizza, L., Prawitt, D., Netchine, I., Gonzales, M., Grønskov, K., Tümer, Z., Monk, D., Mannens, M., Chrzanowska, K., Walasek, M. K., Begemann, M., Soellner, L., Eggermann, K., Tenorio, J., ... Lapunzina, P. (2016). Prenatal molecular testing for Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes: a challenge for molecular analysis and genetic counseling. *European journal of human genetics : EJHG*, 24(6), 784–793. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.224>
16. Lin, H. Y., Lee, C. L., Fran, S., Tu, R. Y., Chang, Y. H., Niu, D. M., Chang, C. Y., Chiu, P. C., Chou, Y. Y., Hsiao, H. P., Yang, C. F., Tsai, M. C., Chu, T. H., Chuang, C. K., & Lin, S. P. (2021). Quantitative DNA Methylation Analysis and Epigenotype-Phenotype Correlations in Taiwanese Patients with Beckwith-Wiedemann Syndrome. *Journal of personalized medicine*, 11(11), 1066. <https://doi.org/10.3390/jpm11111066>
17. Lin, H. Y., Lee, C. L., Tu, Y. R., Chang, Y. H., Niu, D. M., Chang, C. Y., Chiu, P. C., Chou, Y. Y., Hsiao, H. P., Tsai, M. C., Chao, M. C., Tsai, L. P., Yang, C. F., Su, P. H., Pan, Y. W., Lee, C. H., Chu, T. H., Chuang, C. K., & Lin, S. P. (2024). Quantitative DNA Methylation Analysis and Epigenotype-Phenotype Correlations in Taiwanese Patients with Silver-Russell Syndrome. *International journal of medical sciences*, 21(1), 8–18. <https://doi.org/10.7150/ijms.84154>
18. Dufke, A., Eggermann, T., Kagan, K. O., Hoopmann, M., & Elbracht, M. (2023). Prenatal testing for Imprinting Disorders: A clinical perspective. *Prenatal diagnosis*, 43(8), 983–992. <https://doi.org/10.1002/pd.6400>
19. Yang-Li, D., Fei-Hong, L., Hui-Wen, Z., Ming-Sheng, M., Xiao-Ping, L., Li, L., Yi, W., Qing, Z., Yong-Hui, J., Chao-Chun, Z., PWS Cooperation Group of Rare Diseases Branch of Chinese Pediatric Society, & Zhejiang Expert Group for PWS (2022). Recommendations for the diagnosis and management of childhood Prader-Willi syndrome in China. *Orphanet journal of rare diseases*, 17(1), 221. <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02302-z>
20. Genecards.org