



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**PAISAJE CELULAR DE LA PÉRDIDA MOSAICA DEL
CROMOSOMA Y DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE *Rattus
norvegicus***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
CARLOS ALBERTO HERNÁNDEZ ORTA**

**DIRECTOR
DR. DIEGO CORTEZ QUEZADA**

CUERNAVACA, MORELOS

MARZO, 2021



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, Mor., ____25 de febrero de 2021.

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

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **HERNÁNDEZ ORTA CARLOS ALBERTO**, con el título del trabajo: **Paisaje celular de la pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento de *Rattus norvegicus***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

A T E N T A M E N T E

DR. RAÚL ERNESTO ALCALÁ MARTÍNEZ



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

RAUL ERNESTO ALCALA MARTINEZ | Fecha:2021-02-25 18:20:22 | Firmante

fKIQx5D+I3jcFjnDYNoSjel6oiHLJx28uGuCW0wTH8xcJh4LtdzpwchLIbg7uiPVxCfBuqCogn+k2GKbiNC8yytTijV5KMsSF4Zip1rqGaKBfXqY2YLaWf66QhUB0zZ3X12dznQYi
dm6VQRh76tWwMPhcNhsVnvl9c8HW/DW0NHNRPVWBx5V6NZEsw5WOZWwzb228qdv6daNUseQOpadPcmT6OEHYiQ1vvtgoQ4R0u/z18kpsKjtGiftdkoOVQsApbWVL
cL+ADnmOzrsI070OZEemYadiiVITIMJ7PjDlwhPH97TzuLEqoex/0dj5PqMreiFZOyZjJqEOD4WsPIpHw==

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



[zxyLRI](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/GI9CKHJMwNKh6ISnm2zzghfyVkpYNHRD>



Cuernavaca, Mor., a 6 de enero del 2021

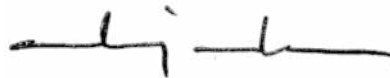
DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **HERNÁNDEZ ORTA CARLOS ALBERTO**, con el título del trabajo: **Paisaje celular de la pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento de *Rattus norvegicus***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI (X) NO (____)

A T E N T A M E N T E



DRA. ALEJANDRA VÁZQUEZ LOBO YURÉN



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

ALEJANDRA VAZQUEZ LOBO YUREN | Fecha:2021-01-07 11:44:02 | Firmante

dpH9IYUPMrOTRvWDPHOj1516JWgoSsf7S/JsJxrhYc4Nw3a8XRxv6VEu67N1z65g8B4yluHsKTqJXOxGWUbrqO+20iW2lqG/xqTPKs4IP8mLjQBrvx3lfGFu5K5eS5UOzzzS1z61wAO60BA1CgclX0aEIRbkbjpuIN8VuM2LLKylL1Kw/H4FTjXbVYcZ+nrPZK24ZL74o5d87M7OFhvnnQhIqblRe0idFXGgt2zDggW4KnSbs8RP49pPrcm1Vvwp8AkX2c2I7BOG74U4UeyNFrOiu1Jik8kwRav3l9MvQ4ZgW/Nhs03i2l+15ctzbNAF8VOaUpb5PrdK4ERAdhg==

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



21unVJ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/SCL0W6vd6QnydBY0znSjai0gWKe17eVC>



Cuernavaca, Mor., 4 de enero de 2021

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

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **HERNÁNDEZ ORTA CARLOS ALBERTO**, con el título del trabajo: **Paisaje celular de la pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento de *Rattus norvegicus***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI (X) NO (____)

A T E N T A M E N T E



DR. DIEGO CLAUDIO CORTEZ QUEZADA



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:2021-01-04 15:52:33 | Firmante

diUuSNNalcznP37Cpgrk5MHvsNlwWft35Ui0xx1o0WUQhW5Z0wTc+RBZ3LutrnNH+Lvd4zflEOgbcMZy3OeGtO8wtmGK0B64iJKoy1a5DM99DSiYDVOAqmmYXihX2TiAx2EtBd1HiHuBAbWA7oNpBYgYoraMEib/jHedQDdyEszUXbD919TjshYy+ZKeACKc/SKHFJA9VOehcniQ9ECtBa7542i5ulRKd78bTII3/31dlMaTIMMeXlo8fDhq7t/fZdNCItq/HJq3GkSC4K7ZirlzaKX1UIkmODX6t5kUtJ/aUAqjcnvzdUk3vOuAhDv1DoEC78cijT6NrGMiHgCftMQ==

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



2nmTpb

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/kfvI4GaXxoiJWEMVqLpEqJnWVZSLikSE>



Cuernavaca, Mor.,_A 13 DE ENERO DE 2021

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

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **HERNÁNDEZ ORTA CARLOS ALBERTO**, con el título del trabajo: **Paisaje celular de la pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento de *Rattus norvegicus***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

A T E N T A M E N T E

DRA. ROSA ESTELA QUIROZ CASTAÑEDA



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

ROSA ESTELA QUIROZ CASTAÑEDA | Fecha:2021-01-13 16:51:39 | Firmante

uABBwFY4vVxvbx72eQY+Tz1tRNNV18t+C3IHgbyw4SRd1AdpxF0ZhZuxU1qR92tL/D88yakGMF7ciWl0taO13y7yYY1Gs3Gzsk9HhEtUma3h8L62ZI02P4pO1Gv49ZL1NtvKLjeURnFhNZaycxXFbvhXrdgDqvmhLZVrjLagH3jYJMzyQckjzJGAhXsEOMTP1cyOn4lk+/lxqjkdE9FyRfXv4HLXkscO95FmSoabjsQYywWsjNq6YpNzcnB5D3VNT01fkcFnFS+k4SSj6W1qA9926iD+flNRTYjOCzed7w3ON5fzMP62js9HFm50olePbunX7S+4u6qpPeTw/3AHg==

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



[JyEmCM](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/skWRAb00Hgl8kRcZzjQNPNeE9XW5FGAi>



Cuernavaca, Mor., 21 de diciembre 2020

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

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **HERNÁNDEZ ORTA CARLOS ALBERTO**, con el título del trabajo: **Paisaje celular de la pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento de *Rattus norvegicus***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

A T E N T A M E N T E



DRA. ERIA REBOLLAR CAUDILLO



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

ERIA REBOLLAR CAUDILLO | Fecha:2021-01-14 09:46:50 | Firmante

hAMW7HKcpj2fWVrJU33HpaYChxA+lfX92E9LR1bZAeap3T+Tj6mlm0v5GJnLnp2kf2dlvioXr5Fx1RNt/rlktnwnvw6ivyGgF6liiHXSPxJudh+PzljyHVpZaV5Cm2T1SeulWUpmA27n5o37VrBfnxNh71Vn4GGGAPXv74dKCCWyuP5b/7davdyOtpQYlc0WqXXirX06mEqK647FUVKwflPaTuQU16cQ5eHB8FnWqWkH/hluz65vql0MxfW8TjfJVsuPTMXQvhYonYKokneq5mlt5NAsayxf5yvfZoodXxvxKXanjZtRGZzQyTu9G9R8Dma0Mk+joyvHDW2B9WQ/b4g==

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



FKcsX4

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/c9pSdTIzBqUoV4MnqjGTKApS60vCmETc>





*“I’m always going to be right here.
No one’s going anywhere.”*

E. Grant

*A mi mamá y papá.
Y a ti R.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a mi tutor Dr. Diego Cortez Quezada por abrirme las puertas a su laboratorio, por su apoyo y confianza que me brindó para la realización de este proyecto, así como sus consejos que me permitieron crecer profesional y académicamente.

A los miembros de mi comité tutor Dr. Raúl Alcalá Martínez, Dra. Alejandra Vázquez Lobo, Dra. Rosa Estela Quiroz, Dra. Eria Rebollar Caudillo, por los comentarios, retroalimentaciones y apoyo que me brindaron en cada seminario lo que me permitió tener un mejor desarrollo en este proyecto.

A la Dra. Susana Castro Obregón, Dra. Mariana Gutiérrez Mariscal, Dra. Elizabeth Lorraine Jaimes y a sus respectivos estudiantes por la donación de las distintas muestras en especial por la ayuda recibida en el manejo y sacrificio de las ratas. Asimismo, al Bioterio del Instituto de Biotecnología de la UNAM por facilidades dadas para el mantenimiento y cuidado de las ratas.

A la Unidad de Secuenciación Masiva del Instituto de Biotecnología de la UNAM en especial a Dr. Alejandro Sánchez, Dr. Ricardo Grande y la Biol. Gloria Vázquez por la ayuda recibida en el planteamiento metodológico y en el procesamiento de las muestras.

A mi casa de estudios la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y a mi Facultad de Ciencias Biológicas por haberme formado como profesional y permitido desarrollarme académicamente durante los cuatros años de licenciatura, así también, a todos los profesores que me han compartido parte de sus conocimientos y saberes.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Centro de Ciencias Genómicas que ha sido mi segunda casa por estos últimos tres años y por permitirme realizar mi proyecto de investigación en sus instalaciones, así también, al laboratorio de Biología de Sistemas y Biología Sintética por las facilidades dadas para el desarrollo metodológico.

Finalmente, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada por diez meses correspondiente al proyecto de Fronteras en la Ciencia no. 1682 y al financiamiento recibido para la realización de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A mis padres Francisco y Adelfa, por su esfuerzo dado y apoyo recibido a lo largo de toda mi vida que me permitieron poder lograr esta carrera. Por acompañarme en estos años de mi vida con sus consejos y su cariño, así como en los momentos difíciles en los cuales nunca me han abandonado y siempre han estado con su amor. Pero, sobre todo, gracias por enseñarme que, con mucho esfuerzo, estudio y dedicación se puede lograr los sueños y todo lo que me proponga. Les doy muchas gracias por su educación y hacerme quien soy, por sus valores que me inculcaron y por siempre sentirme orgulloso de mi origen. Tlazcamati.

A mi amiga Mónica, quien me acompañó en estos últimos años de la carrera y siempre me ayudó tanto en el trabajo del laboratorio como en lo personal. Muchas gracias por hacerme divertidos los días en el laboratorio y por ofrecerme tu amistad. Te lo agradezco con todo el corazón, y, asimismo, por aclararme muchas dudas ya que sin ti hubiera explotado el laboratorio. Gracias por tu sincera amistad y espero nos volvamos a encontrar en el camino de la vida otra vez.

A Karina, quien fue mi primera maestra que me enseñó a trabajar en el laboratorio y con quien me divertí mucho en el tiempo que trabajó conmigo. Fue un placer trabajar con un genómica y aprender mucho de ti.

A mis amigos de la carrera Clara, Daniel, Javier, Fernando, Dania y Criseth, por su amistad en estos cuatro años en los cuales nos hemos divertido mucho y he aprendido mucho cada uno de ustedes. Aunque en los últimos años casi no los vi e interactué con ustedes, siempre los llevo en el corazón y recuerdo los momentos en que hacíamos los trabajos al ultimo momento, nos quedamos jugando y platicando hasta las 10:00 p.m. en la universidad, nos perdíamos en nuestros viajes improvisados. Gracias por su amistad.

A mis amigos y compañeros del laboratorio, a Andrea, Charlie, Cesiah, Armando, Mariela, Bruno que hicieron mas divertido mi estancia en el laboratorio y que de alguna forma me compartieron de sus conocimientos. A Charlie por enseñarme a utilizar la qPCR y no arruinarlo en el intento y por su grandiosa actitud que alegraba los días frustrados, a Armando por ayudarme en la bioinformática y a Andrea con quien me escapaba para platicar y relajarme un rato de los experimentos fallidos y por su grandiosa ilustración que decora esta tesis.

Fue un poco complejo todo este proceso de estudiar biología porque no me identificaba con esto, pero quiero agradecer a la Dra. Karla Aguilar quien fue la primera persona que confió

en mi y me apoyo académicamente, aunque no terminé trabajando con helechos siempre llevo en mi sus consejos tanto personales como académicos, así como toda la experiencia que gané durante casi los dos años que trabajé con usted.

A la Dra. Alejandra, quien gracias a ella estoy aquí. Le quiero agradecer por todos los consejos que me dio y por las platicas que tuve con usted. Gracias a usted descubrí lo que realmente me gustó de la biología y por introducirme a la genómica en su clase de evolución. Aunque nunca tuve el placer de ser un alumno suyo; siempre le he tenido un gran aprecio y admiración. Gracias por ser la persona que me dio la avidez de terminar biología y de continuar en la academia.

A la Dra. Rosa Estela que gracias a usted volví a amar la genética y por su gran labor como profesora, asimismo, recuerdo que en una clase nos platicó un poco del cromosoma Y y lo que sucedió después dio origen a este trabajo.

Al Dr. Raúl, quien me demostró lo bonito de la evolución y de como esto se puede aplicar a la conservación. Asimismo, por ser un excelente profesor y por estar pendiente de mi crecimiento académico.

A la Dra. Eria, le quiero agradecer por permitirme realizar mi servicio social con usted y por enseñarme muchas cosas tanto académicas como para formación personal que de alguna manera repercutieron y las apliqué en este proyecto y en mi desarrollo académico. Asimismo, agradecer que gracias a usted pude descubrir un micromundo maravilloso. No quiero decir más porque espero poder continuar en un nuevo camino académico con usted.

Al Dr. Diego le quiero agradecer por aceptarme en su laboratorio y tener la confianza en mi para llevar acabo este proyecto. Asimismo, por ser un excelente tutor con quien pude aprender y crecer académica y personalmente. Muchas gracias por sus consejos y por su continuo estímulo para ser mejor en cada seminario, así como su apoyo y compromiso que siempre ha tenido conmigo. Personalmente, lo admiro mucho como investigador y persona. Gracias por ser unas de las personas que me hizo amar la biología y a dar lo mejor mi.

Finalmente, gracias a todos los que no mencioné pero que de alguna manera estuvieron en estos cuatros años de carrera.

RESUMEN

El cromosoma Y juega un papel fundamental en el desarrollo masculino de los mamíferos, ya que presenta genes que realizan funciones de regulación celular. Sin embargo, este cromosoma sufre aberraciones genómicas en las que las poblaciones de células de un organismo pierden totalmente el cromosoma Y, a lo que se le denomina como pérdida mosaica. Este fenómeno genómico se ha asociado directamente con el envejecimiento, el cáncer, la mortalidad temprana y otras enfermedades degenerativas observadas en las células sanguíneas humanas, sin embargo, se desconoce que sucede en otros linajes celulares; únicamente se ha demostrado que las neuronas sufren de una menor tasa de pérdida que las células sanguíneas. De este modo, los objetivos del proyecto son determinar si la pérdida del cromosoma Y aumenta con la edad y caracterizar el nivel de mosaicismo en once tejidos de la rata. Se evaluaron las cuantificaciones de la cobertura genómica de los tres loci (cromosoma 10, X e Y) en diferentes etapas de desarrollo. Se determinó que la rata también pierde el cromosoma Y en diferentes líneas celulares, sin embargo, el nivel de pérdida es específico para cada tejido. Asimismo, al igual que en el ser humano, se observó que esta pérdida aumenta con el envejecimiento, siendo los tejidos como sangre, riñón, hígado y cerebelo los más afectados. Finalmente, se demostró que el nivel de pérdida del cromosoma Y se correlaciona con el nivel de pérdida del cromosoma X en los tejidos más afectados. Por tanto, la pérdida del cromosoma Y es posiblemente un fenómeno común en los mamíferos placentarios por compartir el mismo cromosoma Y que ha sufrido los mismos procesos evolutivos que han provocado su degeneración y fragilidad. Esta pérdida del cromosoma Y en los distintos tejidos puede estar asociado con un decaimiento funcional y fisiológico teniendo afectaciones catastróficas

ABSTRACT

The Y chromosome plays a fundamental role in the male development of mammals since it presents genes that perform cellular regulation functions. However, this chromosome suffers from genomic aberrations in which the populations of cells in an organism totally lose the Y chromosome, which is called mosaic loss. This genomic phenomenon has been directly associated with aging, cancer, early mortality and other degenerative diseases observed in human blood cells, however, it is unknown what happens in other cell lineages; Neurons have only been shown to suffer a lower rate of loss than blood cells. Thus, the objectives of the project are to determine whether the loss of the Y chromosome increases with age and to characterize the level of mosaicism in eleven rat tissues. Quantifications of the genomic coverage of the three loci (chromosome 10, X and Y) at different stages of development. It was determined that the rat also loses the Y chromosome in different cell lines, however, the level of loss is specific for each tissue. Likewise, as in humans, it was observed that this loss increases with aging, with tissues such as blood, kidney, liver and cerebellum being the most affected. Finally, it was shown that the level of loss of the Y chromosome correlates with the level of loss of the X chromosome in the most affected tissues. Therefore, the loss of the Y chromosome is possibly a common phenomenon in placental mammals because they share the same Y chromosome that has undergone the same evolutionary processes that have caused its degeneration and fragility. This loss of the Y chromosome in the different tissues may be associated with a functional and physiological decay with catastrophic effects.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	III
AGRADECIMIENTOS ESPECIALES.....	IV
RESUMEN	VI
ABSTRACT.....	VII
TABLA DE CONTENIDO.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ENVEJECIMIENTO E INESTABILIDAD GENÓMICA.....	1
1.1.1. <i>Acumulación de alteraciones del genoma relacionadas con la edad.....</i>	<i>1</i>
1.1.2. <i>El efecto de la división celular en las aberraciones genómicas</i>	<i>4</i>
1.1.3. <i>El tipo celular influye en la tasa de aberraciones genómicas</i>	<i>7</i>
1.1.4. <i>Mosaïcismo genético</i>	<i>9</i>
1.1.5. <i>Pérdida mosaica del cromosoma Y.....</i>	<i>13</i>
1.2. IMPLICACIONES DEL CROMOSOMA Y EN EL FUNCIONAMIENTO ORGÁNICO	19
1.2.1. <i>Origen y evolución del cromosoma Y en mamíferos</i>	<i>19</i>
1.2.2. <i>Degeneración del cromosoma Y.....</i>	<i>21</i>
1.2.3. <i>Funcionamiento regulatorio del cromosoma Y.....</i>	<i>23</i>
1.2.4. <i>El cromosoma Y es una trampa tóxica en los machos</i>	<i>28</i>
2. JUSTIFICACIÓN	34
3. HIPÓTESIS.....	35
4. OBJETIVOS	35
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	35
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
5.1. MODELO DE ESTUDIO: <i>R. NORVEGICUS</i>	36
5.2. TOMA DE MUESTRA	36
5.3. EXTRACCIÓN DE DNA.....	37
5.4. DISEÑO Y VERIFICACIÓN DE OLIGONUCLEÓTIDOS.....	38
5.5. PREPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE LIBRERÍAS	40
5.6. ALINEACIÓN DE AMPLICONES Y ANÁLISIS DE COBERTURA.....	42
5.7. CATEGORIZACIÓN TISULAR Y OBTENCIÓN DEL NIVEL DE MOSAICISMO	43
5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	43
6. RESULTADOS	44
6.1. AMPLIFICACIÓN DE REGIONES GÉNICAS Y VERIFICACIÓN DE LIBRERÍAS	44
6.2. FILTRACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS DATOS DE COBERTURA.....	45
6.3. LA RATA PIERDE EL CROMOSOMA Y DURANTE EL ENVEJECIMIENTO.....	47
6.4. PAISAJE TISULAR DE LA PÉRDIDA MOSAICA DEL CROMOSOMA Y	49
6.5. LA DIVISIÓN CELULAR FAVORECE LA PÉRDIDA DEL CROMOSOMA Y.....	55
6.6. LA PÉRDIDA DEL CROMOSOMA Y INFLUYE EN EL CROMOSOMA X.....	59
6.7. PÉRDIDA MULTITISULAR DEL CROMOSOMA Y A NIVEL DE INDIVIDUOS.....	60
7. DISCUSIÓN	61
7.1. PÉRDIDA MOSAICA DEL CROMOSOMA Y DURANTE EL ENVEJECIMIENTO EN RATA	61

7.2.	LA MEDICIÓN DE LA COBERTURA COMO NUEVO MÉTODO.....	63
7.3.	ENTENDIENDO LA PÉRDIDA MOSAICA DEL CROMOSOMA Y EN DIFERENTES TEJIDOS	65
7.4.	PAISAJE GENÓMICO DE LA PÉRDIDA DEL CROMOSOMA Y	68
7.5.	LAS CÉLULAS GERMINALES NO SUFREN DE PÉRDIDA DEL CROMOSOMA Y	71
7.6.	LA PÉRDIDA DEL CROMOSOMA Y FAVORECE A PERDER EL CROMOSOMA X	72
8.	CONCLUSIONES.....	74
9.	PERSPECTIVAS	75
	ANEXO	76
	TABLAS SUPLEMENTARIAS.....	76
	APÉNDICE	80
	TABLAS SUPLEMENTARIAS.....	80
	FIGURAS SUPLEMENTARIAS	82
	REFERENCIAS	86
	GLOSARIO.....	118

1. Introducción

1.1. Envejecimiento e inestabilidad genómica

1.1.1. Acumulación de alteraciones del genoma relacionadas con la edad

El envejecimiento puede definirse como una disminución funcional progresiva y una mortalidad creciente durante el tiempo de vida de un organismo. Este declive funcional y fisiológico es causado por la constante acumulación de daño al DNA a través del tiempo, generando una deficiencia en la maquinaria de reparación del DNA; por consiguiente, modificando la información genética del organismo a nivel somático (Lombard *et al.*, 2005). Recientemente, se ha considerado la inestabilidad genómica como una de las principales características y marcas del envejecimiento de los organismos junto con la senescencia celular, alteraciones epigenéticas (por ejemplo, el aumento de regiones hipometiladas), la disfunción mitocondrial y otros cinco procesos moleculares y celulares que actúan de manera conjunta (Fig. 1) (López-Otín *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2018).



Figura 1. El esquema enumera las nueve características descritas que influyen en el envejecimiento: inestabilidad genómica, desgaste de los telómeros, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostasis, detección de nutrientes desregulada, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de células madre y comunicación intercelular alterada. Editado de López-Otín *et al.* (2013).

La inestabilidad genómica se refiere a un rango de alteraciones del DNA, desde mutaciones puntuales, deleciones e inserciones hasta reordenamientos cromosómicos y cambios numéricos irreversibles de cromosomas completos que modifican el contenido de información del genoma (Vijg & Montagna, 2017). Estas alteraciones permanentes del genoma son consecuencias de errores realizados por enzimas responsables de la segregación de los cromosomas, la replicación y reparación del DNA (Vijg & Suh, 2013).

Una causa principal de la inestabilidad es la continua inducción de daño al DNA, dado principalmente por agentes externos (Whittemore *et al.*, 2019a). Sin embargo, estas alteraciones físicas en la estructura del ácido nucleico son generalmente reparadas, pero influyen en la formación de mutaciones durante la reparación del daño al DNA. No obstante, las mutaciones que no pueden ser reconocidas por las enzimas de reparación solo se pueden eliminar a través de la muerte celular o de todo el organismo (Vijg & Montagna, 2017). Por otra parte, la acumulación de mutaciones en células somáticas en diferentes tejidos durante el envejecimiento está asociada con una pérdida gradual de la integridad del genoma y del funcionamiento celular (Dollé *et al.*, 1997), así como con la disminución funcional progresiva de los tejidos y órganos del cuerpo aumentando la probabilidad de una muerte temprana.

Unos de los primeros estudios para entender el papel de la inestabilidad genómica durante el envejecimiento fue el realizado por Failla (1958) en el que postula la “teoría de la acumulación de mutaciones somáticas del envejecimiento”, proponiendo como idea central que durante el envejecimiento existe una acumulación de mutaciones aleatorias que da lugar a una muerte celular mayor generando un deterioro funcional. Sin embargo, conforme ha ido aumentando el entendimiento del material genético, esta teoría evolucionó a la "teoría del daño del DNA del envejecimiento", mencionando que los diferentes tipos de daño al DNA se acumulan durante el envejecimiento y estos tienen consecuencias moleculares y celulares.

Asimismo, Jacobs *et al.* (1961) reportaron el incremento de alteraciones en el genoma durante el envejecimiento mediante el análisis de linfocitos de humano, en donde se observó un aumento de modificaciones en el cariotipo conforme aumentaba la edad, principalmente de aneuploidías y siendo más común la pérdida de cromosomas (hipoploidía) por errores durante la división celular a causa de un anafase rezagada (Fig. 2). Por otro lado, la acumulación de aberraciones cromosomales también se han visto en otras líneas celulares y organismos, así, por

ejemplo, Crowley y Curtis (1963) observaron una acumulación de aberraciones cromosomales durante el envejecimiento de ratones en las células del hígado; más aún, demostraron que organismos con una menor esperanza de vida acumulan más rápidamente alteraciones cromosomales.

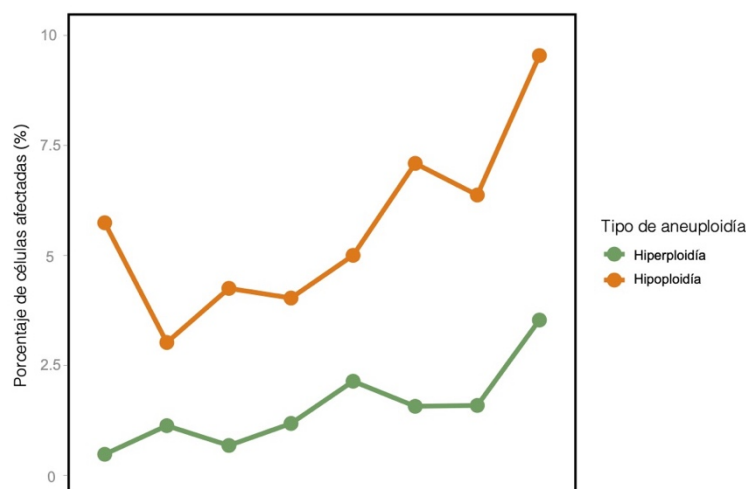


Figura 2. Análisis de los tipos aneuploidías que suceden en células de linfocitos de sangre periférica con cariotipo normal durante el envejecimiento. En verde se muestra las células con hiperploidía y en naranja las células con hipoploidía. Tomado de Jacobs *et al.* (1961).

Del mismo modo, se ha observado que en el cerebro existe una acumulación de aneuploidías conforme el organismo envejece; esto se ha descrito en humanos y ratones, asociándose directamente con enfermedades neurodegenerativas (Rehen *et al.*, 2005). Mas aún, en un modelo murino, y mediante un protocolo de seguimiento horizontal, se observó que la acumulación de aberraciones cromosomales durante el envejecimiento sucede en casi todos los tejidos, no obstante, el porcentaje de estas alteraciones genómicas depende directamente del tipo de tejido y de sus características fisiológicas (Baker *et al.*, 2013). Por consiguiente, las aberraciones cromosómicas son eventos comunes en el genoma durante el envejecimiento de los organismos (Forsberg *et al.*, 2012; Xie *et al.*, 2014; Franco *et al.*, 2018; Lobato *et al.*, 2018; Martincorena *et al.*, 2018; Osorio *et al.*, 2018), sin embargo, la frecuencia de las aneuploidías depende directamente del tipo celular y no ocurren en todos los órganos (Vijg y Suh, 2013). Finalmente, estas diferencias en la carga de mutaciones somáticas y de arreglos cromosómicos en las distintas líneas celulares se ha conjeturado que es una consecuencia de errores en la

división celular; propios de cada tejido, y, al desmedro de los puntos de control del ciclo celular (Tomasetti *et al.*, 2017).

1.1.2. El efecto de la división celular en las aberraciones genómicas

A lo largo de la vida de un organismo multicelular, las distintas células que conforman los órganos y tejidos se deterioran por diferentes causas, por ejemplo, el contacto directo con agentes mutagénicos como sustancias cancerígenas o la luz ultravioleta, provocando una alteración en la homeóstasis tisular y generando el decaimiento orgánico. Por lo tanto, el mecanismo para evitar la disfunción del órgano o tejido es a través del recambio de las células viejas y dañadas por nuevas por mediación de las células madre adultas. Este tipo de células son capaces de dividirse y diferenciarse durante toda la vida de un organismo (Prósper y Verfaillie, 2003). Sin embargo, no todos los tejidos presentan células madre adultas que les confieren la capacidad de renovarse, como son el tejido neuronal y cardíaco. Por ese motivo, las células formadas durante la organogénesis presentan mecanismos moleculares que les permiten sobrevivir durante toda la vida del organismo (Castillo-Morales *et al.*, 2019).

En lo que se refiere a los tejidos que son capaces de renovarse, la división celular mediante la mitosis juega un papel fundamental. Este mecanismo celular forma parte del ciclo celular integrado principalmente por tres etapas (Fig. 3). La primera etapa se llama interfase, en donde el DNA es replicado, se sintetizan las histonas, se produce una reserva de los organelos en el citoplasma y la célula se prepara para dividirse, asimismo, durante esta etapa existen puntos de revisión y de regulación para evitar errores durante la replicación o daño al DNA por medio de un complejo de proteínas denominadas cinasas dependientes de ciclinas (Cdk) y la proteína p53 (Nigg, 2001). La segunda etapa es la mitosis, la cual se divide en cuatro fases llamadas profase, metafase, anafase y telofase (McIntosh, 2016). Durante la profase los cromosomas previamente duplicados son condensados y la envoltura nuclear se dispersa en pequeñas membranas. Posteriormente, en la metafase los pares de cromátidas se ubican en el ecuador de la célula, y al mismo tiempo, un polo del huso mitótico; formado por microtubulos y que se encuentra unido a un centrosoma, se asocia al centrómero de las cromátidas (Vermeulen *et al.*, 2003). En esta zona se ubica el conjunto proteico denominado cinetocoro, el cual está compuesto por diversas proteínas como las denominadas centroméricas (por ejemplo, CEPN-A, CEPN-B,

CEPN-C, etc.) que son indispensables para la unión con el huso mitótico y las proteínas reguladoras como son la quinasa Aurora B y BubR1 que controlan el correcto ensamblaje y segregación (Klare *et al.*, 2015). Una vez ensamblado el huso mitótico, en la anafase cada cromátida que constituye un cromosoma migra a su respectivo polo de la célula, y por último, en la telofase el huso mitótico desaparece y se forma la envoltura nuclear. Finalmente, la última etapa del ciclo celular es citocinesis en donde la célula se divide en dos (Rodríguez-Gómez y Frias-Vázquez, 2014).

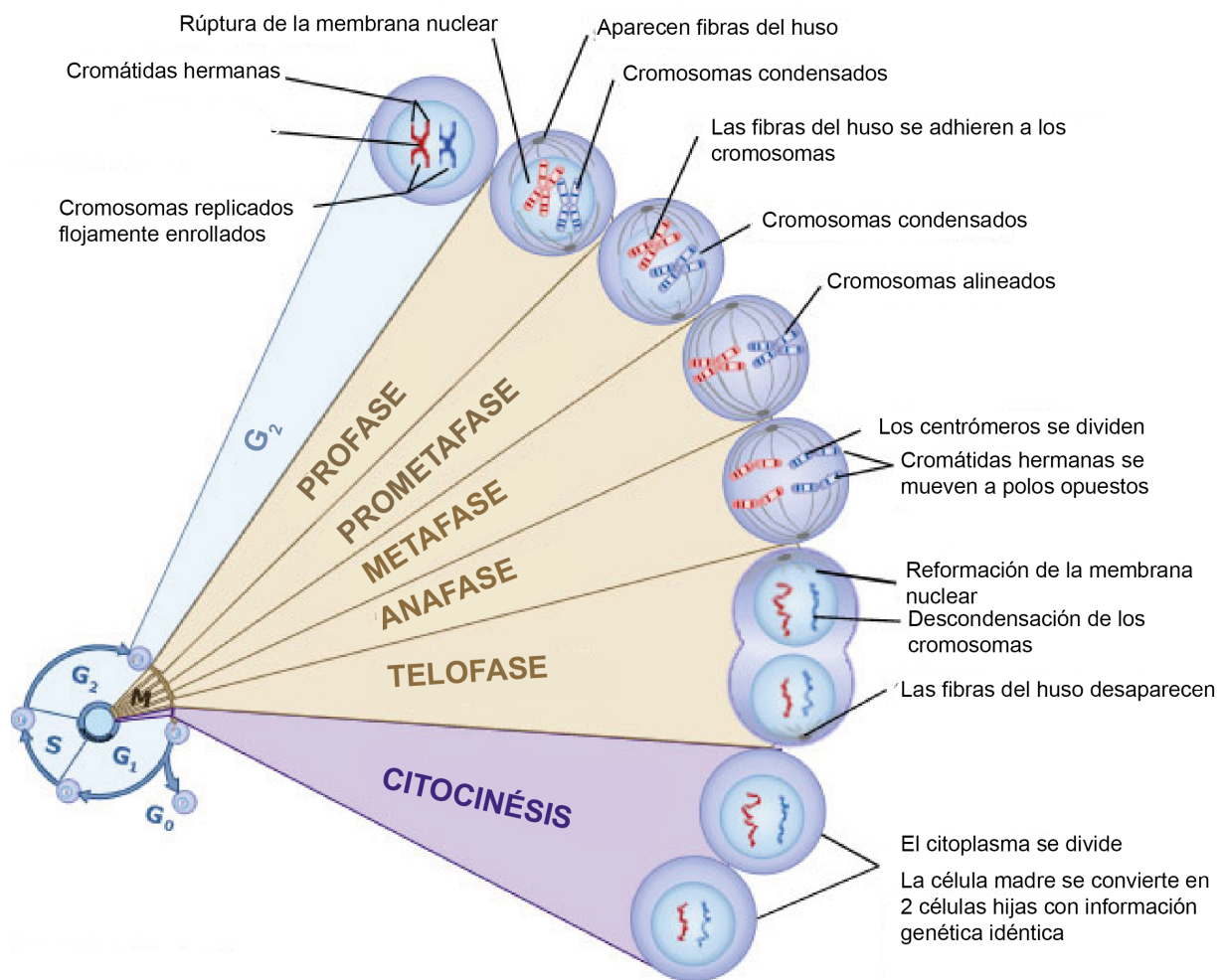


Figura 3. Esquema representativo de las etapas del ciclo celular haciendo hincapié en las fases de la mitosis en donde se obtiene como resultado a dos células hijas genéticamente idénticas.

Por lo tanto, el ciclo celular es un proceso complejo y altamente regulado evita la formación de células aberrantes con alteraciones genómicas que produzcan alguna enfermedad como el cáncer o la degeneración del órgano (Martincorena y Campbell, 2015). Sin embargo, durante el envejecimiento se ha visto que estos mecanismos de control y regulación celular son menos eficientes generando una diversidad de mutaciones somáticas. Esta deficiencia se debe a la acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo y al constante daño al DNA (Sansregret y Swanton, 2017).

Se ha demostrado que las células madre adultas hematopoyéticas y adiposas presentan alteraciones en el ciclo celular en edades adultas tanto en el humano como en el ratón. Estas modificaciones corresponden a un acortamiento de la fase G1 de la interfase que repercuten directamente en una deficiencia en la reparación al daño del DNA y a un estado de dediferenciación celular (Kowalczyk *et al.*, 2015; Shan *et al.*, 2017). De este modo, una acumulación masiva de daño al DNA en la interfase a causa del envejecimiento puede desencadenar eventos de aneuploidización (Crane *et al.*, 2019). La inestabilidad cromosómica, se ha asociado principalmente con la segregación errónea de los cromosomas por consecuencia de errores de unión del cinetocoro a los microtúbulos (Thompson y Compton, 2011). Esto se debe a la formación de un acoplamiento merotélico, donde los microtubulos de dos husos mitóticos de centrosomas de polos opuestos se unen al mismo cinetocoro de una cromátida provocando un error en la segregación, desencadenando un rezago del cromosoma durante la anafase y su consecutiva pérdida (Cinimi *et al.*, 2001; Sansregret y Swanton, 2017).

Otros factores determinantes que influyen en la inestabilidad cromosómica a causa de la división celular son, por ejemplo, el aumento de la inefectividad de los centrosomas con respecto a la edad de las células (Gasic *et al.*, 2015) y el decaimiento funcional durante el envejecimiento de las proteínas centroméricas (Lee *et al.*, 2010). Por otro lado, a nivel meiótico se ha identificado que la dinámica de los microtubulos es defectuosa en los ovocitos de ratones viejos promoviendo segregaciones erróneas por un incorrecto ensamblaje con el cinetocoro (Nakawaga y FitzHarris, 2017). Sin embargo, el entendimiento del origen de las aneuploidías durante el envejecimiento no está tan claro; se cree se pueden generar por diferentes causas, empero, la actividad de la proteína BubR1 durante la senescencia orgánica es crucial para comprender la inestabilidad cromosómica.

BubR1 es una proteína expresada por el gen *Bub1b* que contribuye a la adecuada segregación de los cromosomas, no solo a través de la activación del punto de control mitótico, sino también mediante la regulación de las uniones del huso cromosómico (Baker *et al.*, 2004). Sin embargo, se ha identificado que la disminución de expresión de este gen durante el envejecimiento está directamente relacionada con un aumento de aneuploidías durante la división celular. Asimismo, con una merma en la sobrevivencia del organismo y una aceleración en fenotipos asociados al envejecimiento (Baker *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2017). Por lo tanto, se observa que esta proteína es un importante regulador de la mitosis y su decaimiento al envejecer tiene un gran impacto a nivel celular y fisiológico. De esta manera, alteraciones en los puntos de control del ciclo celular a causa del envejecimiento (principalmente en la mitosis) provocan inestabilidad cromosómica, por ende, da a entender que la división celular juega un rol primordial en la acumulación de aberraciones genómicas.

1.1.3. El tipo celular influye en la tasa de aberraciones genómicas

Los organismos multicelulares presentan una gran diversidad de tipos celulares que han permitido la evolución de los animales mediante la regulación del genoma (Sebé-Pedrós *et al.*, 2018a; Sebé-Pedrós *et al.*, 2018b). En el caso específico de los mamíferos, como los humanos, se han identificado alrededor de 411 diferentes tipos celulares (Vickaryous y Hall, 2006). Esta vasta diversidad de tipos celulares en el cuerpo humano presenta una gran variedad de morfologías, funciones y adaptaciones específicas que le permite sobrevivir, por ejemplo, la función neurológica, motora e inmune. Además, las diferentes células no están esparcidas en el organismo de forma aleatoria, sino que células con funciones similares se agrupan para formar órganos para actuar de forma conjunta (Cao *et al.*, 2019; Cardoso-Moreira *et al.*, 2019). Sin embargo, una propiedad crucial aunada a esto es la gran variedad existente en la longevidad celular (Anexo, Tabla 1), la cual se ha asociado directamente con la esperanza de vida del organismo (de Magalhaes y Faragher, 2008).

Dicho lo anterior, las células en el humano pueden llegar a vivir desde dos días, por ejemplo, los monocitos (CD14⁺), hasta 32,850 días (alrededor de 91 años) como las neuronas (Seim *et al.*, 2016). Esto genera que los tejidos y órganos presenten diferentes tasas de renovación celular para mantener correctamente su funcionalidad. De este modo, existen células

que durante toda la vida del organismo son constante y rápidamente renovadas, por ejemplo, las células sanguíneas, de la piel, del bazo, de los epitelios y las mucosas (Zipori, 1992). Por otro lado, hay tejidos que renuevan sus células sólo cuando presentan algún tipo de daño o por después de grandes lapsos de tiempo, como son, las células del hígado, del riñón, del músculo esquelético y del tejido adiposo (Spalding *et al.*, 2008; Seim *et al.*, 2016). Finalmente, el último tipo de tejido son los que presentan células que viven durante toda la vida del organismo, siendo únicamente el cerebro y el corazón (Spaldin *et al.*, 2005; Castillo-Morales *et al.*, 2019). Sin embargo, estas diferencias en las tasas de renovación celular de los tejidos se han implicado directamente con la acumulación de aberraciones genómicas durante la vida del organismo.

Por un lado, se ha identificado que los tejidos que muestran tasas de renovación celular rápidas presentan niveles bajos de aneuploidías durante su envejecimiento. Por el contrario, los tejidos que no se dividen o su tasa de renovación es muy baja presentan altos porcentajes de aneuploidías al envejecer (Baker *et al.*, 2013; Pfau *et al.*, 2016) (Fig. 4). Una hipótesis que se ha establecido para explicar esto es que los tejidos que constantemente se renuevan poseen más activos los mecanismos para eliminar las células aberrantes y están más protegidos contra este tipo de daño, a discrepancia de los que no se renuevan. Además, posiblemente estos tejidos con baja renovación celular sean más tolerables a las aneuploidías (Ricke y van Deursen, 2013; Pfau *et al.*, 2016).

No obstante, a nivel de mutaciones puntuales y de rearrreglos cromosómicos se ha observado un patrón distinto. Caso contrario a lo mencionado anteriormente, los tejidos que presentan una mayor tasa de recambio celular tienen mayores niveles de mutaciones somáticas. Mientras, los tejidos que su recambio celular es bajo o nulo poseen un grado inferior de mutaciones somáticas (Tomasetti y Volgestein, 2015; Blokzijl *et al.*, 2016; Oluwole *et al.*, 2016; Tomasetti *et al.*, 2017; Vijg *et al.*, 2017; Lodato *et al.*, 2018; García-Nieto *et al.*, 2019; Yizhak *et al.*, 2019). Por ejemplo, en el intestino existe una acumulación rápida de mutaciones puntuales durante el envejecimiento hasta alcanzar niveles muy altos. Caso contrario suceden en el corazón e hígado, donde la tasa de rearrreglos es mucho menor (Dollé *et al.*, 2000). Por lo tanto, cada tipo de mutación somática sigue su propia tendencia de acumulación durante el envejecimiento y esto depende directamente del tipo celular (Hoang *et al.*, 2016). Finalmente, como consecuencia de estas alteraciones, la acumulación de mutaciones somáticas en el genoma

convierten a los tejidos envejecidos en un mosaico de células con diferentes genotipos. Este fenómeno es llamado mosaicismo genético y generalmente se debe a una expansión clonal de una mutación *de novo* (Vijg, 2014).

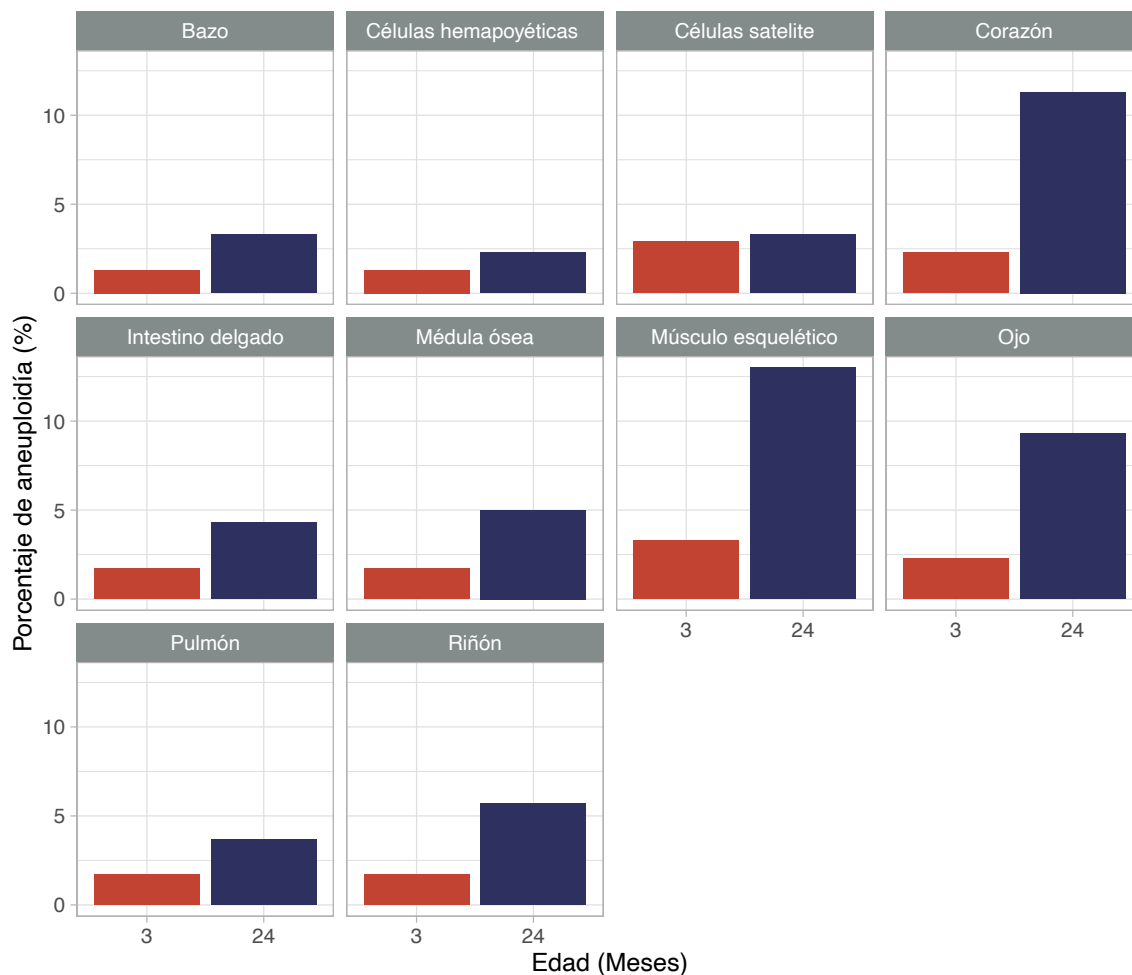


Figura 4. Análisis del porcentaje de aneuploidías en cromosomas autosomales en un estudio transversal usando tejidos con distintas tasas de recambio celular en un modelo murino. Los tejidos con poco recambio celular presentan altos porcentajes de eventos de aneuploidías (corazón, células satélites, músculo esquelético, ojo). A diferencia de los tejidos con recambio celular alto (bazo, células hemapoyéticas, intestino delgado, médula ósea, pulmón, riñón). Tomado de Baker *et al.* (2013).

1.1.4. Mosaicismo genético

El mosaicismo genético se define como la presencia de una o más poblaciones celulares genótipicamente distintas dentro de un organismo, provenientes de un mismo cigoto y siendo resultado de un evento mutacional post-cigótico durante el desarrollo; pudiendo suceder tanto en soma como en células germinales (Yousoufian y Pyeritz, 2002; Jacobs *et al.*, 2012; Machiela

y Chanock, 2017). Estos eventos mosaicos incluyen desde la sustitución de un sólo nucleótido, cambios en el número de copias de genes y hasta la pérdida o ganancia total de un cromosoma o segmentos de éste (Biesecker y Spinner, 2013). Los cambios cromosómicos, se originan a través de errores en la mitosis, y posteriormente las aneuploidías son transmitidas a las células hijas generando una expansión clonal. De este modo, se ha observado que la mayoría de los eventos mosaicos empiezan en un telómero y se expanden a todo o parte del cromosoma. Cabe señalar que, entre los diferentes tipos de mutaciones mosaicas, la sustitución de nucleótidos es el evento más común, seguido de la pérdida de un cromosoma, y finalmente, la ganancia de un cromosoma (Jacobs *et al.*, 2012).

Fernández *et al.* (2016) mencionan que el mosaicismo genético es un evento que sucede naturalmente en las células teniendo tasas diferentes en los distintos tejidos que generalmente, tienen un efecto colateral en los individuos, ya que se ha relacionado con muchas enfermedades; principalmente con varios tipos de cáncer como la leucemia, de pulmón, de próstata, de hígado, y también como distintos síndromes genéticos (Forsberg *et al.*, 2017). Por otro lado, también expone que el mosaicismo surge en el estado embrionario, durante las divisiones celulares del cigoto, y en muchos casos, estas aberraciones genéticas no se reflejan fenotípicamente al instante sino al pasar de los años, haciendo énfasis en que muchos individuos desde el estado embrionario disponen de mutaciones generadoras de cáncer y éstas sólo tienen su efecto a edades avanzadas (Fernández *et al.*, 2016). De este modo, la aneuploidización de las células es un proceso que acompaña la ontogenia y el desarrollo del organismo y generalmente tiene efectos catastróficos (Iourov *et al.*, 2008).

Aunado a esto, en los estudios realizados por Jacob *et al.* (2012) y Laurie *et al.* (2012), se demostró que el mosaicismo cromosomal se correlaciona con la edad, debido a que individuos libres de cáncer de 0 – 15 años de edad sólo presentaban 0.2% de eventos mosaicos en su genoma, y de igual manera, los individuos menores a 50 años presentaban un porcentaje bajo de estos eventos mutacionales. Sin embargo, en individuos por encima de 50 años, el porcentaje de mosaicismo aumenta rápidamente de 0.23 a 2.7%; incrementándose seis veces la tasa de aberraciones genómicas en individuos mayores de 75 años, y de esta manera, demostrando que estas aberraciones genómicas dependen directamente de la edad y que son un fenómeno común durante el envejecimiento (De, 2011).

Esta relación entre el nivel de mosaicismos y la edad ha generado la postulación de dos modelos principales para entender el origen de estas aberraciones genéticas (Machiela y Chanock, 2013) (Fig. 5). El primero sugiere que el genoma sufre alteraciones somáticas en edades mayores (>50 años) causado por la disminución en la eficiencia de los mecanismos de protección del DNA. A diferencia, el segundo supone que el genoma puede sufrir alteraciones a edades tempranas a causa de la alta tasa de división celular, pero que éstas pueden ser controladas por el mismo organismo (sistema inmune). Sin embargo, estas alteraciones se incrementan al envejecer ya que los mecanismos de retención son menos eficientes y la estabilidad del genoma es menor (Machiela y Chanock, 2017). No obstante, aun falta esclarecer otros diferentes aspectos ligados a este fenómeno genómico para poder entender su surgimiento.

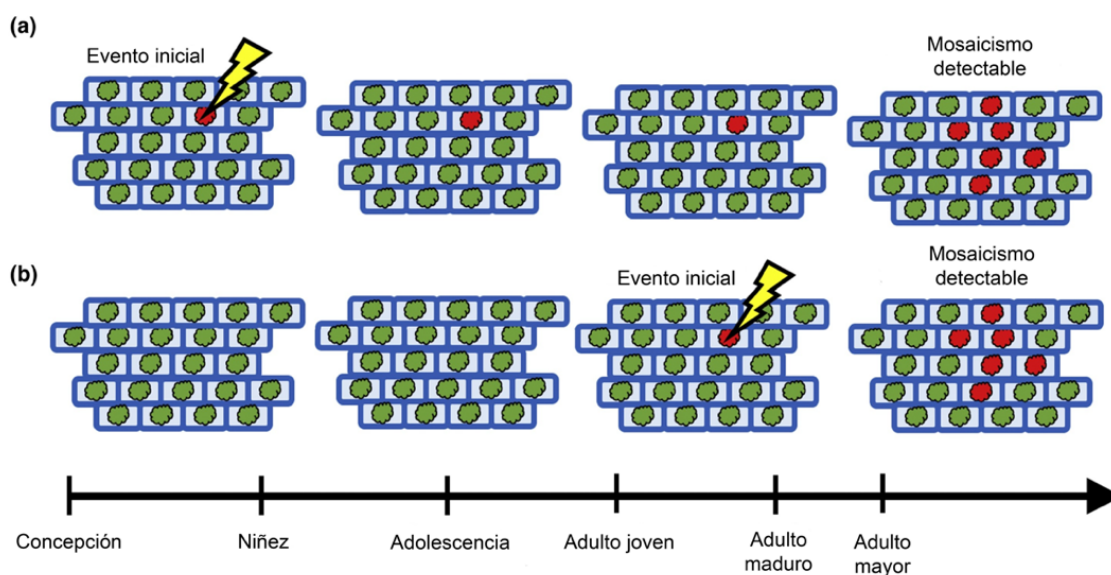


Figura 5. Comparación de dos modelos biológicamente plausibles para la adquisición del mosaicismo. En el primer modelo (a), un evento somático se adquiere temprano durante el desarrollo durante periodos de rápido crecimiento y división celular, pero las células aberrantes permanecen en bajas proporciones celulares hasta más adelante en la vida cuando los cambios en el entorno celular confieren una ventaja selectiva de los clones aberrantes sobre células normales que les permiten expandirse a una proporción detectable de la población celular. En el segundo modelo (b), los eventos somáticos se adquieren más adelante en la vida y poco después se expanden clonalmente para convertirse en una proporción adecuada de la población celular. Tomado de Machiela y Chanock, (2017).

Por otra parte, en los últimos años el mosaicismo genético ha ganado mayor relevancia debido a que es una fuente común de variación genética post-cigótica a causa de su inexorable relación con el envejecimiento (Iourov *et al.*, 2008; De, 2011). Asimismo, esto ha generado su asociación como un estado bivalente entre consecuencia y causa de diversas enfermedades o simplemente una súbita relación. Por ejemplo, altos niveles de mosaicismo se han concommitado

con enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas (Jourdon *et al.*, 2020), cardiovasculares (Jaiswal *et al.*, 2017), con una variedad de tumores y cánceres (Jacobs *et al.*, 2012), y, diabetes tipo II (Bonnetfond *et al.*, 2013). Sin embargo, es importante acentuar que estas asociaciones son menores cuando el mosaicismo se encuentra en forma crítica; es decir, en niveles inferiores. No obstante, puede considerarse como una marca de la patología (Forsberg *et al.*, 2017). Conjuntamente, se ha identificado ciertas variaciones en algunos loci que regulan tanto a nivel *cis* como en *trans* la predisposición al mosaicismo en ciertas células, y estos a su vez, facilitan la expansión clonal de las células aberrantes por medio de la disfunción de genes ligados a la regulación de la división celular (Xie *et al.*, 2014) (Fig. 6).

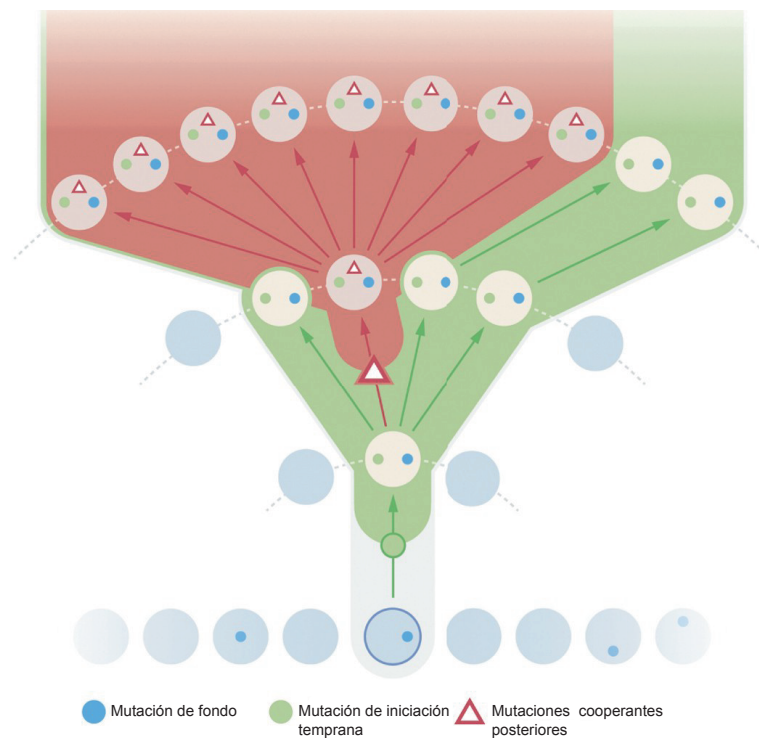


Figura 6. Modelo establecido para el entendimiento de la expansión clonal de un evento mosaico. Una mutación inicial (punto verde) promueve y facilita el surgimiento de mutaciones cooperantes (triángulos rojos) en loci asociados con la regulación de la división celular que permiten rápida expansión mediante un incremento en el fitnes en las células aberrantes a comparación de las células normales y de esta manera aumentando el número de células mosaicas. Editado de Xie *et al.* (2014).

Principalmente, el mosaicismo cromosomal se ha estudiado en sangre periférica denominado específicamente como hematopoyesis clonal. En este fenómeno sanguíneo, se ha identificado que la principal causa es la edad, y, asimismo, la mayoría de los eventos mosaicos

ocurre en genes con funciones en la regulación celular, como supresores tumorales y en la señalización del crecimiento celular (Jaiswal *et al.*, 2014; Jaiswal y Elbert, 2019). El caso de los humanos, el mosaicismo tiene mayor prevalencia en hombres que en mujeres, por ejemplo, en individuos masculinos libres de cáncer se presentaron 0.87% de eventos mosaicos en su genoma, a diferencia de las mujeres que sólo presentaron 0.56% de estos eventos. Por otro lado, en individuos con cáncer se observó la misma tendencia; los hombres presentaban 1.21% de eventos y las mujeres 0.79%. También es importante mencionar que los individuos de ascendencia africana y latina presentan una menor cantidad de eventos mosaicos que los de ascendencia asiática o europea (Jacobs *et al.*, 2012; Jaiswal *et al.*, 2014). Con respecto a la tasa de eventos mosaicos en los cromosomas en humano, el cromosoma Y es el que presenta mayor número de alteraciones en el número de copias por eventos mosaicos; teniendo una prevalencia de >15% en hombres por arriba de los 80 años. Asimismo, el cromosoma X es el segundo con mayor número de eventos, afectando mayormente al cromosoma X inactivo en mujeres. Finalmente, los cromosomas autosomales tienen una menor cantidad de eventos mosaicos, y estos eventos son más frecuentes en el cromosoma 20 (Machiela *et al.*, 2016; Machiela y Chanock, 2017; Machiela *et al.*, 2017a).

1.1.5. Pérdida mosaica del cromosoma Y

El cromosoma Y tiene un papel fundamental en el desarrollo masculino de los mamíferos, estando involucrado en la determinación de sexo. En los humanos se ha observado que la pérdida mosaica del cromosoma Y es el tipo de mosaicismo cromosómico más frecuente (Zhou *et al.*, 2016). Aunado a esto, en los últimos años el estudio de este fenómeno ha aumentado en los debido a que se ha señalado como uno de los principales factores de riesgo en la mortalidad de los hombres y la incidencia de varias enfermedades (Forsberg, 2017).

En el hombre, la pérdida mosaica del cromosoma Y en leucocitos está relacionada principalmente con el envejecimiento (Fig. 7). Esto quiere decir que conforme los individuos envejecen, muchas de las células sanguíneas nucleadas del sistema inmune pierden el cromosoma Y (Forsberg *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2017a). Por ejemplo, en un estudio donde se analizaron 13,729 hombres adultos, la frecuencia de la pérdida mosaica en células sanguíneas en hombres mayores de 60 años fue de 1.28%, incrementando a 18.71% en hombres mayores a

80 años (Zhou *et al.*, 2016). Asimismo, se ha observado que entre el 13-25% de las células sanguíneas nucleadas presentan pérdida del cromosoma Y detectable. Aunado a esto, existe la prevalencia de que uno de cada cinco hombres mayores de 80 años presenta mosaicismo detectable del cromosoma Y en sus células sanguíneas esto se debe a que la aberración genómica se ha expandido clonalmente. Además, se demostró que la pérdida mosaica del cromosoma Y no sólo sucede en la sangre periférica, sino que las células cerebrales de la corteza prefrontal dorso lateral también sufren de esta misma aberración genómica durante el envejecimiento de los hombres (Kimura *et al.*, 2018), y del mismo modo, las células de la médula ósea muestran la misma tendencia de perder el cromosoma Y al envejecer (Pierre y Hoagland, 1972).

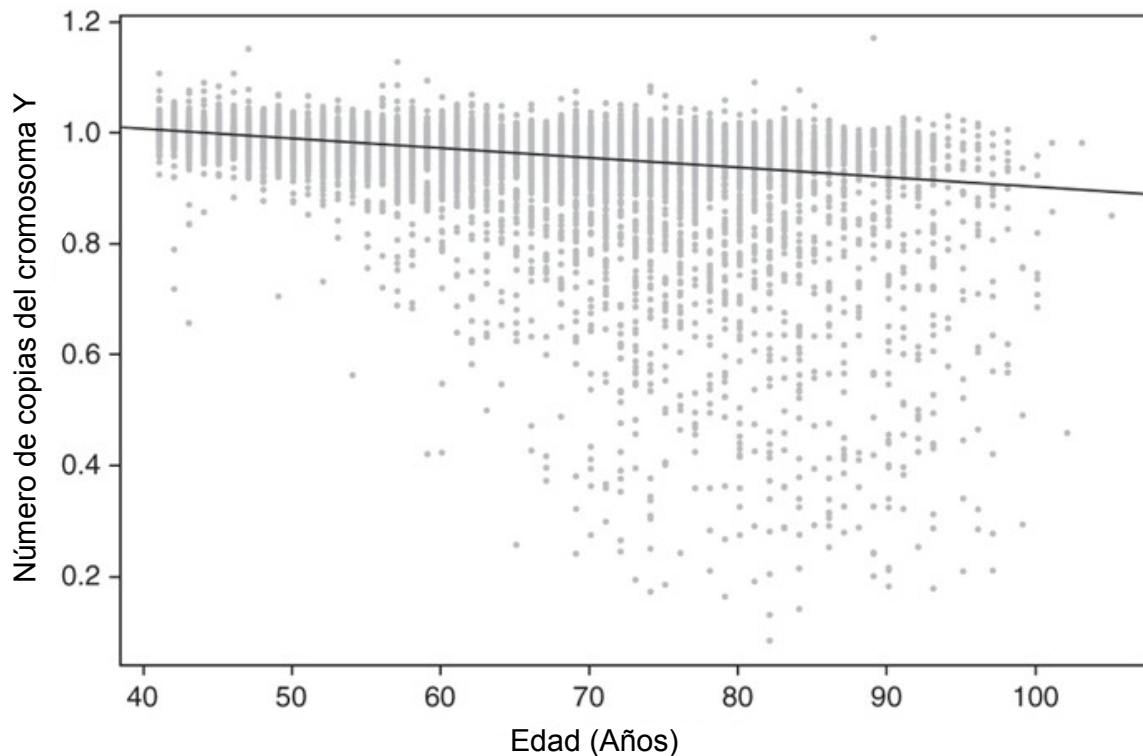


Figura 7. Pérdida estimada del número de copias del cromosoma Y en sangre periférica dependiente de la edad en los miembros del estudio genómico realizado por la compañía deCODE en Islandia. La pérdida del cromosoma Y empieza a aumentar drásticamente a partir de los 50 años y afectando la mayor parte de los hombres desde los 80 años. Además, la mayor parte de las células nucleadas sanguíneas pierden este cromosoma en una edad superior de 80 años. Tomado de Wright *et al.* (2017a).

En un estudio realizado por Loftfield *et al.* (2018) donde se utilizaron los datos de 223,338 hombres adultos de la base de datos UK Biobank, evidenció que 3,789 hombres (1.7%) presentan pérdida mosaica del cromosoma Y de forma detectable, y de esos hombres con aberraciones genómicas, 596 (16%) tienen altas proporciones de células afectadas. De igual modo, Thompsons *et al.* (2019), identificaron que el 20% de hombres de una cohorte de 205,011 individuos en Inglaterra presentaron mosaicismo detectable del cromosoma Y con una prevalencia de 2.5% a la edad de 40 años y de 43.6% a la edad de 70 años. Por otra parte, se identificó que en hombres de menores a 50 años el grado de mosaicismo es muy bajo, pero conforme aumenta la edad de los individuos, la pérdida de este cromosoma se acrecienta de forma exponencial. Asimismo, cabe señalar que los hombres con una gran proporción de células afectadas por la pérdida mosaica presentan un mayor riesgo de mortalidad temprana por cualquier causa, siendo el cáncer el principal factor de riesgo (Loftfield *et al.*, 2018).

Cabe añadir que la pérdida mosaica del cromosoma Y se ha asociado con la variación 156 loci y 36 posiciones de metilación en el genoma humano. De estos loci, 20 están implicados en la replicación y estabilidad del DNA durante la mitosis, en la digestión del DNA de una sola hebra durante la división celular, y en otros aspectos en la regulación del ciclo celular como son la proliferación celular, la síntesis del DNA, la respuesta a daño del DNA y la apoptosis (Wright *et al.*, 2017a). Posiblemente, esta asociación con los loci involucrados en la división celular se deba a que los tejidos con una mayor tasa de división presentan una mayor cantidad de células afectadas por la pérdida del cromosoma Y. Lo anterior se determinó estudiando las células de la médula ósea que tienen un mayor grado de células afectadas y también presentan una tasa de recambio celular más rápida (24 horas) comparado con los leucocitos que tienen una tasa de recambio celular que puede tardar entre cinco y siete días (Fig. 8) (Pierre y Hoagland, 1972) y, por otro lado, las neuronas presentan un grado menor de pérdida que las células sanguíneas (Graham *et al.*, 2019). De este modo, se ha demostrado que mosaicismo del cromosoma Y afecta a distintas líneas celulares con diferentes funciones.

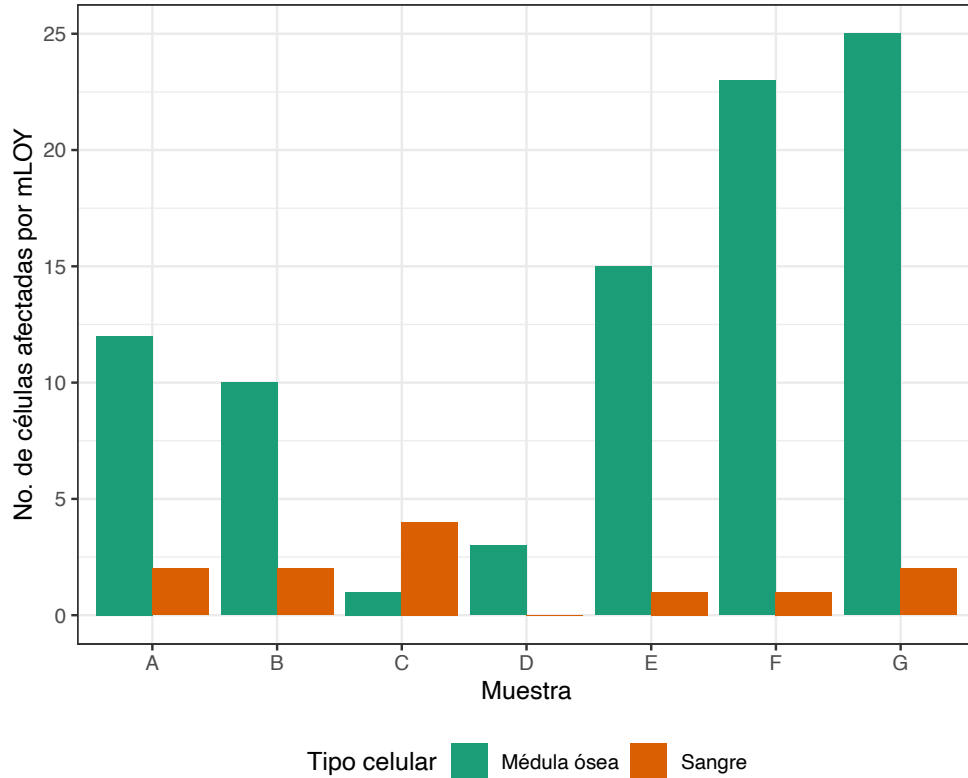


Figura 8. Comparación de células afectadas entre tejidos con diferente tasa de división celular. Editado de Pierre y Hoagland, (1972).

Este fenómeno de pérdida del cromosoma Y en células sanguíneas se ha asumido como un factor de riesgo para cualquier tipo de cáncer no hematológico y diferentes tipos de leucemia (Forsberg *et al.*, 2014). Asimismo, también se ha asociado directamente con el cáncer testicular familiar (Machiela *et al.*, 2017b), cáncer de mama masculino (que ha ido en aumento en los últimos años debido al envejecimiento de la población humana en algunos países (Yuen-Wong *et al.*, 2015) y cáncer de pulmón (Forsberg *et al.*, 2014). Del mismo modo, Loftfield *et al.* (2019) evidenciaron que hombres con tumores sólidos presentan pérdida del cromosoma Y en leucocitos. Se cree que esta incidencia en tumores se debe a un desequilibrio clonal en la composición cromosómica en los leucocitos que afecta la habilidad del sistema inmune de identificar y eliminar células pre-cancerígenas. Asimismo, células cancerosas renales (Arseneault *et al.*, 2017), del cuello y cabeza (Hollows *et al.*, 2018), de la próstata y del colon-recto (Noveski *et al.*, 2016), del páncreas (Wallrapp *et al.*, 2001) y de la vejiga (Minner *et al.*, 2010) se caracterizan por perder su cromosoma Y en alta frecuencia, además de presentar otros rearrreglos cromosomales. Se debe considerar que el mosaicismo del cromosoma Y aumenta su

frecuencia en personas con algún tipo de cáncer debido a que una aberración cromosomal facilita el surgimiento de más aberraciones en otros cromosomas, y en el caso de los hombres, el cromosoma Y es el cromosoma más propenso a perderse (Minner *et al.*, 2010; Jacobs *et al.*, 2012).

No obstante, la pérdida mosaica del cromosoma Y en células sanguíneas también se ha relacionado con una mayor prevalencia de degeneración macular (Grassmann *et al.*, 2018), el Alzheimer (Dumanski *et al.*, 2016), el fumar tabaco (Dumanski *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016), enfermedades cardiovasculares (Haitjema *et al.*, 2017), con una mayor incidencia de suicidios (Kimura *et al.*, 2018), diabetes tipo 2 y obesidad (Loftfield *et al.*, 2018), con la contaminación del aire (Wong *et al.*, 2018) y un incremento en la mortalidad temprana (Forsberg *et al.*, 2014) (Fig. 9); todos influenciados directamente por el envejecimiento. Finalmente, la pérdida mosaica del cromosoma Y en los leucocitos de los fumadores es bastante dinámica debido que en individuos que alguna vez fueron fumadores y perdieron el cromosoma Y, al momento de cesar de fumar esta aberración cromosómica disminuyó hasta llegar a niveles normales (Dumanski *et al.*, 2015). Esto quiere decir que la pérdida del cromosoma Y también puede ser influenciada por el ambiente, sin embargo, depende directamente del tiempo de exposición al ambiente severo que promueva esta aberración.

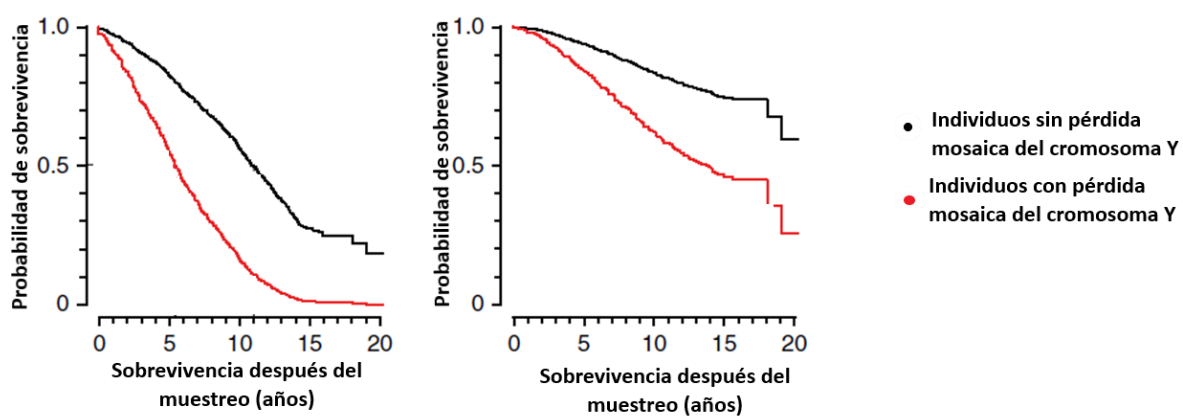


Figura 9. Impacto de LOY en la mortalidad por todas las causas y la mortalidad por cáncer en 982 hombres sin antecedentes de cáncer antes del muestreo. Los resultados se derivan de los modelos de regresión de riesgos proporcionales de Cox, con los sujetos clasificados en los grupos 1 y 0 en función de su nivel de LOY. Los individuos del grupo afectado (curvas rojas) tenían LOY en $\geq 35\%$ de las células sanguíneas nucleadas. Editado de Forsberg *et al.* (2014).

Considerando que a medida que las células madre hematopoyéticas y sus progenitores envejecen y se dividen, las mutaciones y errores mitóticos generan diversidad genética en un conjunto de estas células. Si alguna de estas mutaciones le provee de una ventaja de crecimiento selectivo sobre las otras, se genera una expansión clonal provocando mosaicismo (Jacobs *et al.*, 2012; Lee-Six *et al.*, 2018). Por lo tanto, siendo la pérdida del cromosoma Y el evento mosaico más común del genoma humano en células sanguíneas, se han elaborado diferentes hipótesis que explican la expansión clonal de esta aberración genómica. Thompson *et al.* (2019) proponen dos hipótesis, la primera es que posiblemente la ausencia del cromosoma Y proporciona una ventaja de crecimiento en células hematopoyéticas, suponiendo que podría deberse a la pérdida de un gen supresor del crecimiento celular ligado a cromosoma Y, o a la segunda, es que la pérdida de un factor de transcripción ligado a Y influye en la expresión de genes autosómicos relacionados con el crecimiento celular o el costo energético reducido de las divisiones celulares. No obstante, todavía se desconoce el funcionamiento a nivel somático de la mayoría de los genes ligados al Y.

Finalmente, la pérdida del cromosoma Y provoca un cambio en la expresión de diversos genes. Thompson *et al.* (2019) demostraron mediante la secuenciación de una sola célula de cultivos celulares de sangre de hombres de 80 años que en condiciones normales las células expresan varios genes localizados en la región específica masculina del cromosoma Y. Sin embargo, perder el cromosoma Y provoca cambios de expresión en los cromosomas autosomales, siendo principalmente el gen *TCL1A* (en el cromosoma 14) que se sobre-expresa en estas células y afecta mayormente a los linfocitos B. Este gen está involucrado en la señalización intracelular, estimula la proliferación celular, la supervivencia y disminuye la actividad de p53 (el guardián del genoma). Por lo tanto, la pérdida del cromosoma Y podría causar una disminución de la regulación de p53 a través de la sobre expresión de *TCL1A*, permitiendo una mayor proliferación celular e inhibiendo la apoptosis en estas células. Por otra parte, se ha observado una disminución expresión de *KCM5C* y *KDM6C* que son modificadores epigenéticos (desmetilasas) provocando de forma directa el apagado de la transcripción de ciertos genes asociados a ciertos tipos de cánceres (Arseneault *et al.*, 2017). De esta manera, perder el cromosoma Y provoca grandes cambios en la expresión de genes, y generalmente, son genes que se asocian a la expansión clonal.

1.2. Implicaciones del cromosoma Y en el funcionamiento orgánico

1.2.1. Origen y evolución del cromosoma Y en mamíferos

El cromosoma Y se caracteriza por ser uno de los cromosomas más dinámicos de nuestros genomas, ya que está sujeto a fuerzas evolutivas específicas como son una alta selección purificadora y eventos específicos de deriva génica y la selección de fondo. Se ha originado de forma independiente en varias ocasiones durante la evolución de los vertebrados (Bachtrog *et al.*, 2011). De este modo, se ha identificado que el cromosoma Y deriva de un cromosoma autosomal ordinario, conocido como proto-Y, que adquirió una región de determinación de sexo (SDR) mediante rearrreglos e inversiones cromosomales en la región la cual se localiza el gen regulador maestro y de esta manera, esta región quedó aislada de la recombinación meiótica con su homólogo el cromosoma X (Wright *et al.*, 2016; Olito y Abbott, 2020) (Fig. 10). En particular, los terios (mamíferos placentarios y marsupiales) adquirieron el gen maestro *SRY* que se originó a partir del gen *SOX3*, todavía localizado en el cromosoma X (Berta, 1990; Waters *et al.*, 2007) y siguiendo el mismo patrón, los monotremas adquirieron el gen *AMHY* (Cortez *et al.*, 2014), y de esta manera dio comienzo el proceso de degeneración y heterocromatización del proto-Y.

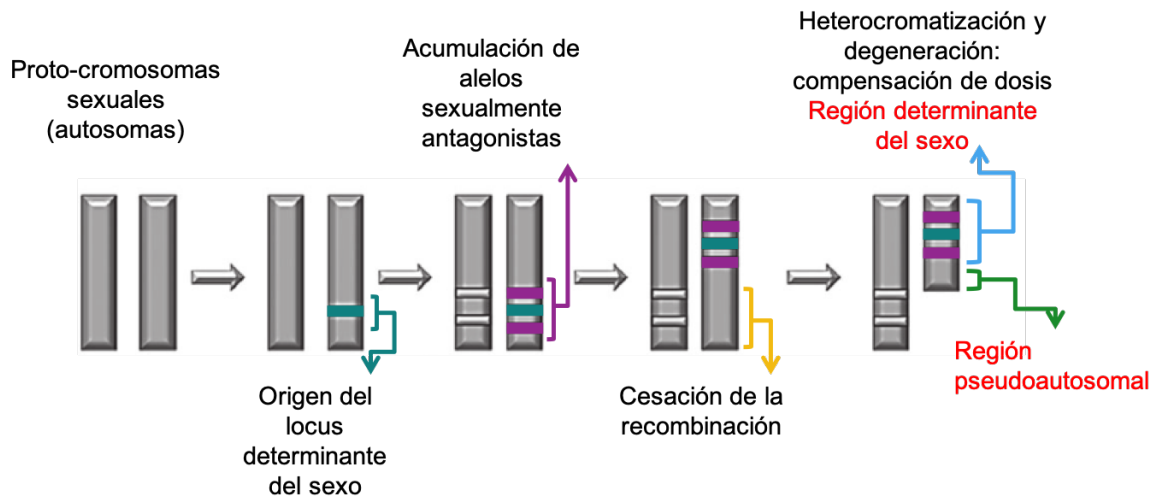


Figura 10. Origen de los cromosomas sexuales a partir de cromosomas autosómicos. El proto-cromosoma Y gana un locus de determinación de sexo desencadenando el cesamiento de recombinación con su homólogo y la acumulación de alelos secundarios provocando la degeneración del cromosoma Y, formando dos regiones cromosomales. Editado de Bachtrog *et al.* (2013).

El origen independiente de los cromosomas sexuales coincide con lo observado por Cortez *et al.* (2014), donde se mostró que, en los mamíferos los cromosomas sexuales se originaron en dos ocasiones diferentes durante su historia evolutiva. La primera, después de la divergencia entre los monotremas y los terios hace ~180 millones de años y la segunda durante la evolución de los monotremas, hace ~175 millones de años. Por lo tanto, la formación independiente de los cromosomas sexuales ha dado como resultado que compartan distintas ortologías, por ejemplo, los diez cromosomas sexuales de los monotremas comparten ortología con los cromosomas Z de las aves. El cromosoma 6 del ornitorrinco es ortólogo al cromosoma X de los terios (Veyrunes *et al.*, 2008). Mientras que el cromosoma Z de los pájaros es ortólogo al cromosoma 9 y 5 del humano, el cromosoma Z de las serpientes es ortólogo al cromosoma 2 y 27 de la gallina, el cromosoma X de la lagartija verde es ortólogo al cromosoma 15 de la gallina y el de los coritofánidos es ortólogo al cromosoma 17 de la gallina (Matsubara *et al.*, 2006; Marin *et al.*, 2017; Acosta *et al.*, 2019). Esto indica que distintas cromosomas han dado origen a las varias formas de cromosomas sexuales que se conocen.

Una característica única de los cromosomas sexuales es que presentan alelos secundarios que son ventajosos para los machos (sistema XY) y que están físicamente ligados al locus de determinación de sexo lo que conduce a la divergencia cromosómica y favorece la expansión de la región no recombinante. Estos loci adoptan funciones específicas en los machos como son el desarrollo de los testículos, la espermatogénesis y los caracteres sexuales que aumenten la adecuación de los machos (Bachtrog *et al.*, 2011; Cortez *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2017b). En el humano, los genes ligados a *SRY*, como son *RBMX*, *HSMY* y *TSPY*, adquirieron funciones indispensables en la espermatogénesis. Asimismo, gran parte de los loci acumulados en esta región son secuencias amplicónicas y palíndromas de genes que han sido ganados mediante transposición y amplificación, exhibiendo una expresión específica y sesgada en los testículos con funcionamiento en la gemetogénesis (Rozen *et al.*, 2003; Brashear *et al.*, 2018). Esta región de secuencias amplicónicas es altamente enriquecida con duplicaciones segmentarias grandes y de alta identidad que son propensas a arreglos estructurales complejos (Skaletsky *et al.*, 2003), no obstante, estos genes amplicónicos contribuyen a la diversidad génica inter e intra especie y a la estabilidad cromosómica a través de la mitigación de la erosión génica (Brashear *et al.*, 2019).

La supresión de la recombinación se ha observado como un fenómeno general de los cromosomas sexuales (Fig. 10). Por ejemplo, Liu *et al.* (2004) describen que en el cromosoma Y de reciente origen en *Carica papaya*, el 10% de su secuencia ya no presenta recombinación homóloga y ha acumulado secuencias repetitivas (microsatélites) de la misma manera que lo han hecho los cromosomas Y de mamíferos. La supresión de la recombinación homóloga permite mantener al gen maestro de determinación de sexo y a los genes sexuales secundarios en la región de determinación de sexo (SDR) y de esta manera evitar su pérdida por conversión génica (Akagi *et al.*, 2014). Asimismo, se ha observado que la acumulación de estos loci secundarios acelera el proceso de la supresión de la recombinación (Wright *et al.*, 2017b). Sin embargo, la falta de recombinación de los cromosomas heteromórficos ha causado la degeneración de estos mediante la inactivación y pérdida masiva de genes, a través de largas deleciones, inserciones y amplificaciones de elementos transponibles, únicamente quedando una pequeña región en el que recombinan el cromosoma Y con su homólogo X llamada región pseudoautosomal (PAR) (Ezaz *et al.*, 2016; Ponnikas *et al.*, 2018) (Fig. 10).

1.2.2. Degeneración del cromosoma Y

En el sistema XY de los mamíferos, el cromosoma X es largo, rico en genes y altamente conservado. En el caso del humano, el cromosoma X contiene alrededor de 1,669 genes que comprende ~155 Mb; representando el 5% del genoma haploide. Del mismo modo, el cromosoma X del tlacuache (*Monodelphis domestica*) contiene una alta densidad de genes, al menos 442 genes (~80 Mb); representando sólo el 3% del genoma haploide (Livernois *et al.*, 2012). Por el contrario, el cromosoma Y es pequeño, pobre en genes y con altas cantidades de secuencias repetidas y heterocromatina; solamente se ha conservado el 2% de sus genes originales.

El cromosoma Y del humano contiene en la eucromatina un total de 178 transcritos, correspondiendo la mayoría a pseudogenes o copias amplificadas, mientras que sólo 45 codifican proteínas. Igualmente, el cromosoma Y de los marsupiales ha perdido la mayoría de sus genes, por ejemplo, en el Ualabí de Tammar (*Macropus eugenii*) sólo contiene 10 genes. Asimismo, otro ejemplo de un cromosoma Y degenerado es el de las lagartijas del género *Anolis*, que sólo presenta siete genes y varios pseudogenes (Graves, 2006; Waters, 2007; Cortez *et al.*,

2014; Marin *et al.*, 2017) (Fig. 11). De esta manera, el cromosoma Y se caracteriza de ser un cromosoma pobre en densidad génica y que es una consecuencia inevitable de su evolución.

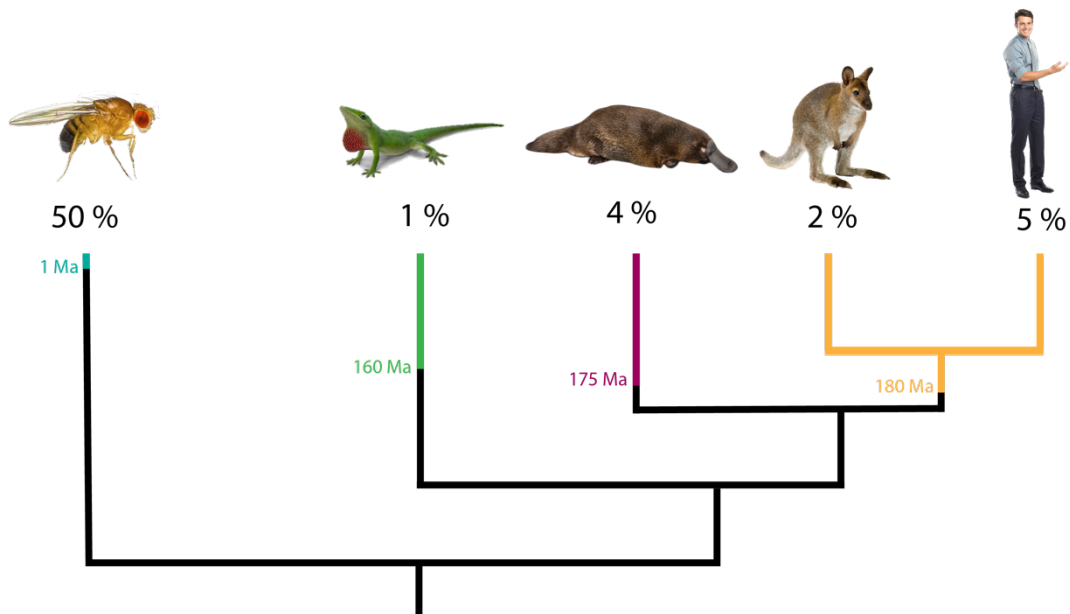


Figura 11. Porcentaje de genes ancestrales que son retenidos en el cromosoma Y por consecuencia del proceso de decaimiento génico a partir de su aparición en diferentes linajes de animales.

En un estudio realizado por Hughes *et al.* (2012) en el humano, chimpancé y el macaco Rhesus, se observó que el decaimiento de los genes ancestrales del cromosoma Y sucedió de manera rápida después de la supresión de la recombinación; con una vida media de 5 millones de años por cada gen. Sin embargo, en los últimos 40 millones de años la pérdida de genes ha disminuido, manteniéndose estable el número de genes en el cromosoma Y, debido a que tienen funciones muy importantes. De esta manera, los genes que se han conservado en el cromosoma Y a lo largo de la evolución se caracterizan por tener funciones de regulación y ser altamente haploinsuficientes (Bellott *et al.*, 2014). En el ratón, por ejemplo, la mayoría de los genes contenidos en el cromosoma Y son específicos para el desarrollo de los testículos y sus homólogos en el cromosoma X están sujetos a la inactivación (Graves, 2006).

Por otro lado, se ha observado que el cromosoma Y tiende a acumular mutaciones deletéreas e incorporar una menor cantidad de mutaciones benéficas a causa del bajo nivel de efectividad de la selección natural en regiones no recombinantes (Wright *et al.*, 2016). Sin embargo, aún no se tiene claro cómo se desarrolla el proceso de decaimiento del cromosoma Y.

Se piensa que la deriva génica es la principal fuerza evolutiva que actúa en regiones no recombinantes. Se han postulado varias hipótesis para explicar cómo la deriva genética y la selección de fondo conduce a la degeneración de los cromosomas no recombinantes, las cuales explican la fijación de mutaciones deletéreas en regiones ligadas a sitios, y por medio del mecanismo conocido como “el rubí en la basura” (*ruby in the rubbish*), en el que se eliminan tanto las mutaciones deletéreas como las benéficas (Sreinemann y Steinemann, 2005; Bachtrog *et al.*, 2011; Bachtrog, 2013) (Fig. 3).

La pérdida masiva de genes en el cromosoma Y ha provocado una reducción de la dosis génica en los organismos con sexo heterogamético (XY). Caso contrario, el sexo homogamético presenta una doble dosis de cada gen ligado al cromosoma X; mientras en el sexo heterogamético sólo presenta una dosis para cada gen generando un desbalance entre la dosis génica de los cromosomas sexuales (Mank, 2013). Por consiguiente, han surgido diversas estrategias para restablecer el desajuste de dosis entre ambos sexos. En el caso de los mamíferos, la compensación de dosis se da a través de la inactivación aleatoria del cromosoma X en hembras. La inactivación está mediada por el RNA largo no codificante X_{ist} que se expresa en el cromosoma X que se inactivará. Este RNA largo no codificante recluta la maquinaria de metilación, entre otras, para silenciar la expresión génica (Chen *et al.*, 2016). En consecuencia, la degeneración del cromosoma Y ha provocado la creación de mecanismos para restaurar de alguna forma su dosis ancestral.

1.2.3. Funcionamiento regulatorio del cromosoma Y

Durante los últimos 60 años, el cromosoma Y ha pasado desapercibido en estudios de asociaciones genómicas y regulación génica debido a la creencia de ser un “desierto genético” y de solo presentar genes involucrados en la determinación del sexo y la espermatogénesis (Skaletsky *et al.*, 2003). Asimismo, por la dificultad que presenta poder secuenciarlo, a causa de su baja cantidad de genes y de sus altos niveles de secuencias repetidas y de heterocromatina (Steinemann y Steinemann, 2005). Sin embargo, en los recientes años esta hipótesis de “desierto genético” ha ido cambiando gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación y de análisis bioinformáticos que nos ha permitido entender de mejor manera sus funciones regulatorias (Maan *et al.*, 2017).

Unas de las primeras evidencias se demostraron en el trabajo de Bellot *et al.* (2014), en donde se observó en diversos linajes de mamíferos que varios genes ligados al cromosoma Y se encuentran altamente expresados en distintos tejidos. De esta manera, se identificó que 12 pares de genes que junto con su parálogo en el cromosoma X son cruciales para la supervivencia. Esto quiere decir, que estos 12 pares de genes son haploinsuficientes, por lo tanto, necesitan que ambos genes estén activos para funcionar correctamente. Además, en el caso de las hembras en donde se inactiva un cromosoma X; se identificó que estos 12 genes escapan de la inactivación para cumplir la dosis génica adecuada. Finalmente, estos pares de genes cumplen diversas funciones regulatorias de la expresión génica, incluida la modificación, el empalme y la traducción de la cromatina, en consecuencia, influyen en rasgos fisiológicos y de susceptibilidad a enfermedades (Maan *et al.*, 2017) (Fig. 12).

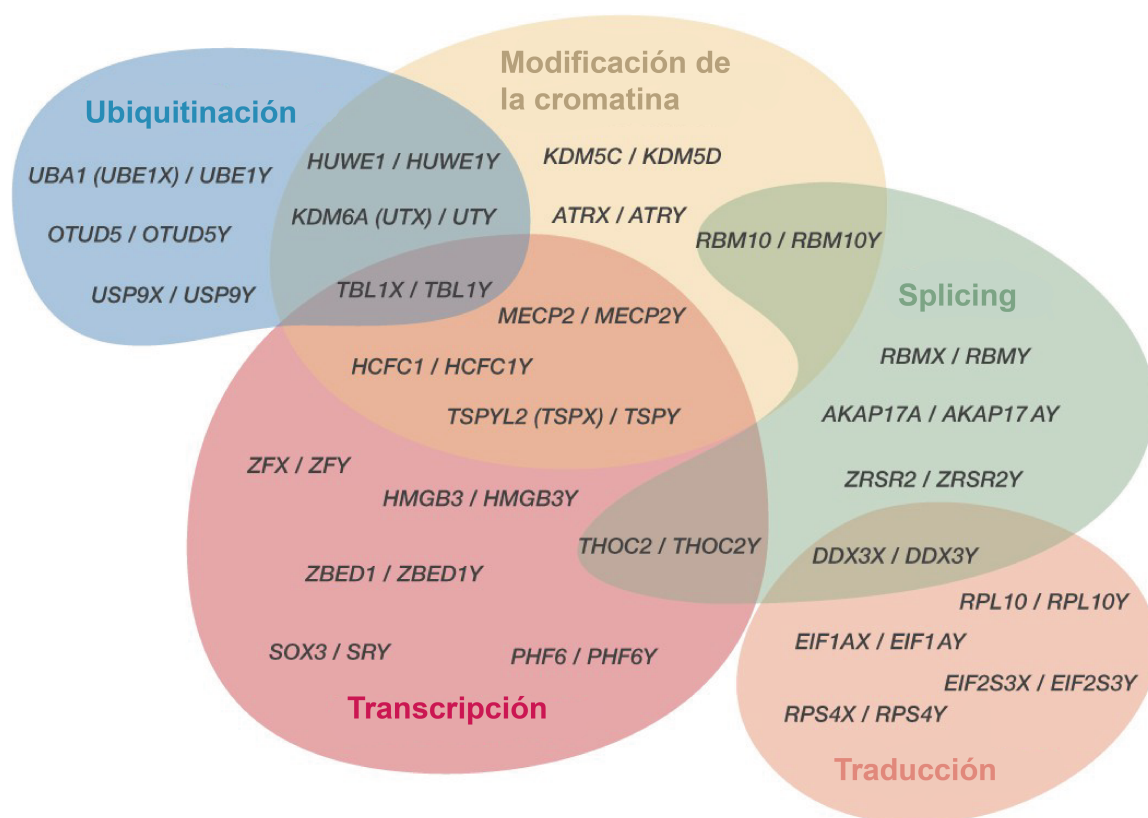


Figura 12. Diagrama de Venn que representa las funciones regulatoras predichas para genes de pares X-Y seleccionados sobre la base de anotaciones UniProt del homólogo X humano. Editado de Bellot *et al.* (2014).

Un claro ejemplo de la importancia del cromosoma Y en regulación celular es el papel que juega el gen *KDM5D/JARID1C* en el inicio de la replicación de DNA en células somáticas de mamíferos; siendo requerido para un adecuado inicio en eventos tempranos. *JARID1C* pronuncia el ensamblaje del complejo de pre-iniciación mediante la unión de las proteínas de pre-iniciación (CDC45 y PCNA) a la cromatina por medio de la desmetilación las marcas H3K4me3 en las histonas (Rondinelli *et al.*, 2015). Asimismo, la delección de este gen promueve la disminución de la síntesis del DNA, debido que la falta de desmetilación impide la correcta activación de la replicación. De esta manera, los genes en el cromosoma Y también pueden cumplir funciones importantes en los procesos celulares, y no solo en la espermatogénesis (Rengaraj *et al.*, 2015).

A su vez, se ha implicado al cromosoma Y en la regulación de las diferencias sexuales, tanto en un nivel fisiológico como de desarrollo (Meyfour *et al.*, 2017a; Naqvi *et al.*, 2019). Por ejemplo, a través de estudios de herramientas ómicas se han identificado una gran variedad de genes ligados al cromosoma Y involucrados en el desarrollo embrionario (Meyfour *et al.*, 2017a). Un claro ejemplo sería el gen *SRY*, el cual es un gen maestro que interrumpe el desarrollo de ovarios (el sexo predeterminado) y desencadena la cascada génica para el desarrollo de testículos (Kashimada y Koopman, 2010). Este gen codifica para una proteína de unión al DNA que pertenece al grupo de proteínas con un dominio de alta movilidad (HMG-box), sin embargo, se ha demostrado que también está involucrado en la pluripotencialidad a través de la regulación de la vía de señalización WNT, importante para el desarrollo embrionario (Taleahmad *et al.*, 2019). Asimismo, puede generar diferencias específicas por sexo en el crecimiento y la diferenciación de las células madre pluripotentes en el estado embrionario mediante reprogramación de los genes autosomales (Ronen y Benvenisty, 2014).

Por otro lado, se ha observado que el cromosoma Y también está involucrado en la diferenciación cardíaca (Meyfour *et al.*, 2017a). Por medio de cultivos celulares se identificó que durante la cardiogénesis en células masculinas varios genes del cromosoma Y se encuentran sobre regulados, principalmente, el gen *TBL1Y* mostró un patrón de sobreexpresión a diferencia de su parálogo en el cromosoma X. De igual manera, a realizar un knockdown de este gen se ve afectada la funcionalidad, el tamaño y un mayor incremento en los niveles de apoptosis de los cardiomiocitos, y, además, afecta la vía de señalización Notch (Meyfour *et al.*, 2017b) (Fig. 13);

permitiendo que su correpresor se una afectando la diferenciación cardíaca (Tung *et al.*, 2014). De igual modo, el gen *KDM5D* codifica para una lisina específico 5D desmetilasa; importante para el inicio de transcripción al causar la desocupación del complejo de remodelación de la cromatina, sin embargo, al momento de realizar un knockdown durante la cardiogénesis interrumpe la diferenciación cardíaca, así como, desaparece el batido cardíaco (Meyfour *et al.*, 2019).

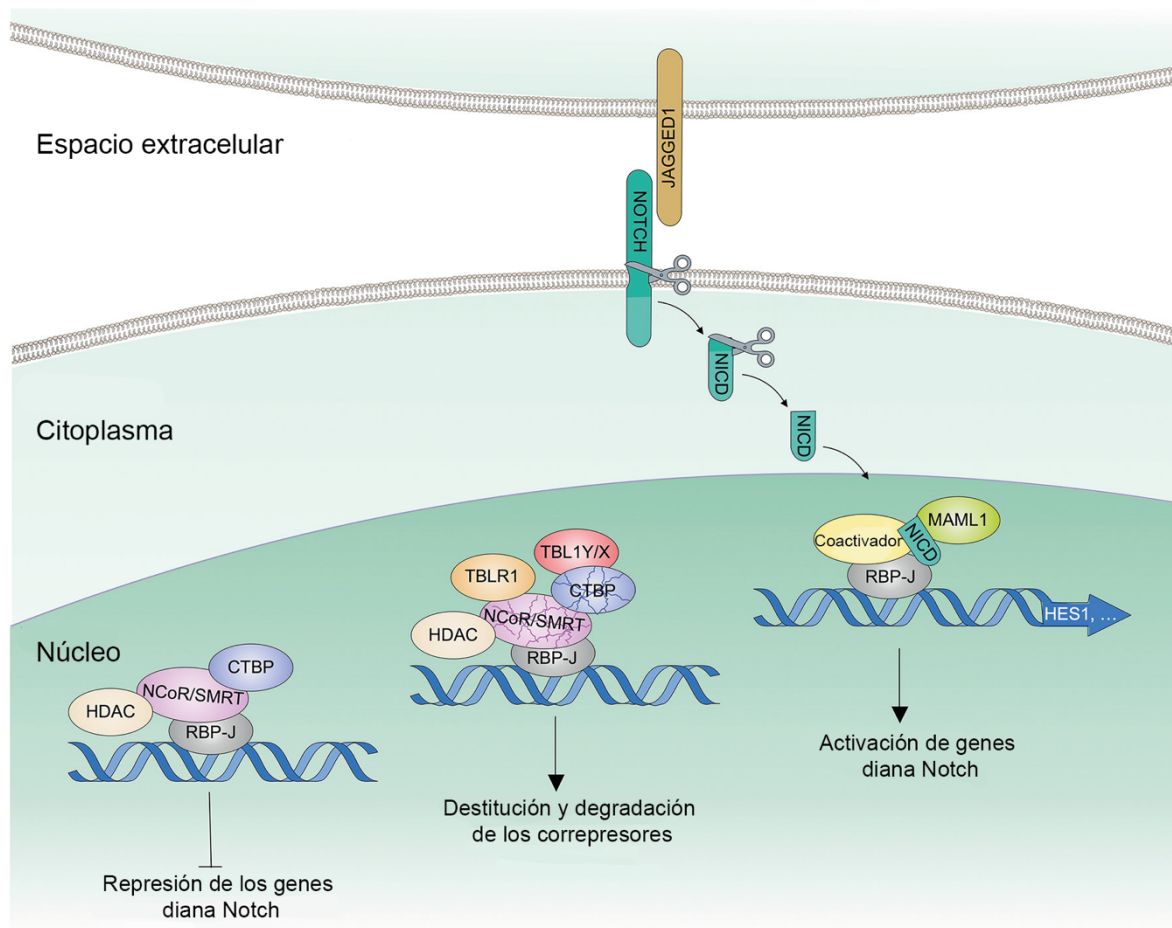


Figura 13. *TBL1Y* puede desempeñar un papel en el desarrollo cardíaco mediante la activación de la señalización Notch. Los contactos de célula a célula y la interacción posterior del receptor NOTCH y su ligando, JAGGED 1, dan como resultado la activación de la señalización Notch. La activación de esta señalización requiere la liberación de una represión dual causada por distintos complejos co-represores, CtBP y NCoR/SMRT/HDAC. TBL1X/TBL1Y y TBLR1 son factores que contienen F box/WD40 que funcionan como intercambiadores en la liberación de represión dual mediante la eliminación de CtBP y NCoR/SMART del complejo co-represor, lo que da como resultado la activación transcripcional de genes diana Notch como HES1. MAML estabiliza la unión de RBP-J/NICD al DNA durante la activación de genes diana. Editado de Meyfour *et al.* (2017b).

No obstante, también se ha descrito que el cromosoma Y participa en el desarrollo de otros órganos como el cerebro (Meyfour *et al.*, 2017a), en donde se observó que 12 genes ligados a Y se encuentran altamente expresados durante diferenciación neural, y principalmente, el gen *DDX3Y* (una helicasa de RNA de la familia DEAD-box) se reconoció que cumple funciones involucrados en el ciclo celular y en la diferenciación neuronal, y al momento de hacer un knockdown a este gen incrementa los niveles de apoptosis, por consiguiente, la diferenciación se ve interrumpida (Vakilian *et al.*, 2015). A su vez, se ha determinado que diferentes genes del cromosoma Y se encuentran sobreexpresados en el cerebro en determinados intervalos de desarrollo, por ejemplo, el gen *RPS4Y1* es expresado durante el periodo prenatal y de infancia, por otro lado, el gen *CD24P4* se expresa en el estado embrionario y prenatal, e igualmente, el gen *PCDH11Y* solo se expresa en infantes (Kang *et al.*, 2011). Por lo tanto, se cree que estos genes que solo se expresan en periodos específicos de desarrollo juegan un papel importante en la diferencia sexual del cerebro (Meyfour *et al.*, 2017a).

De igual modo, se ha mostrado evidencia que el cromosoma Y también está involucrado en el desarrollo del riñón. Este órgano se encarga de diferentes funciones como la filtración de los desechos de fluidos corporales, regulación los electrolitos de la sangre y de la presión arterial por medio del sistema renina-angiotensina (un sistema hormonal) (Meyfour *et al.*, 2017a). En este ultimo caso, se determinó que el gen *SRY* regula la producción de renina en hombres junto con su parálogo *SOX3*, por lo tanto, controlan la presión arterial en hombre (Aurajo *et al.*, 2015). Ítem, la sobreexpresión de sistema renina-angiotensina durante el desarrollo del riñón es fundamental, en consecuencia, *SRY* es quizás este involucrado en este proceso (Meyfour *et al.*, 2017a). Por otro lado, se ha sugerido *PRKY* esta involucrado en la morfogénesis de los glomérulos, en la migración celular y en la formación tubular epitelial del riñón (Li *et al.*, 2002; Meyfour *et al.*, 2017a). Mas aún, la expresión génica de glomérulos y túbulos sanos mostró dimorfismo sexual enriquecidos por genes localizados en los cromosomas sexuales, de este modo, el cromosoma Y media las diferencias sexuales en este órgano (Si *et al.*, 2009).

Por último, la susceptibilidad a algunas enfermedades en los hombres se ha visto que esta mediada por el cromosoma Y. Un claro ejemplo es en enfermedades autoinmunes como encefalomiелitis alérgica experimental y miocarditis experimental, en donde el número de copias de los genes *Sly* y *Rbmy* esta involucrado en la progresión de la enfermedad, así también, en la

respuesta inmune (Case *et al.*, 2013). Asimismo, el tipo de polimorfismo existente en el cromosoma Y en las distintas poblaciones humanas puede mediar la receptividad a ciertas enfermedades. Se ha identificado que el haplogrupo I presenta una mayor incidencia y una rápida afectación de enfermedades como arteria coronaria, SIDA y autoinmunes (Maan *et al.*, 2017). Igualmente, utilizando un modelo murino de un linaje consómico se observó que el cromosoma Y regula la susceptibilidad al virus de Influenza A y a la esclerosis múltiple (Lemos *et al.*, 2010; Krementsov *et al.*, 2017). Se debe de agregar que las células del sistema inmune que pierden el cromosoma Y presentan una afección en su actividad mediante la desregulación de genes autosomales asociados a la actividad inmune; incrementando el riesgo al Alzheimer y cáncer de próstata (Dumanski *et al.*, 2020), y recientemente, a enfermedades emergentes como el coronavirus (COVID-19) (Pérez-Jurado *et al.*, 2020). Además, el cromosoma Y presenta posibles genes que son posiblemente supresores tumorales como el gen *TMSB4Y* es un posiblemente evita el cáncer de mama masculino (Yuen-Wong *et al.*, 2015), el gen *UTY* podría prevenir la leucemia (Gozdecka *et al.*, 2018), el gen *KDM5D* probablemente protege contra el cáncer de próstata (Jangravi *et al.*, 2015), el gen *TPSY* disminuye la prevalencia de carcinoma hepatocelular (Kido y Lau, 2019) y el gen *PLCXDI* prevé el melanoma (Mithani *et al.*, 2011).

En resumen, en los últimos años gracias a las nuevas tecnologías y metodologías en las ómicas, biología molecular y celular se ha demostrado que tanto las proteínas y RNA largos no codificantes que son transcritos por genes ligados al cromosoma Y cumplen varias funciones en el desarrollo orgánico y en el riesgo a presentar diversas enfermedades (Meyforu *et al.*, 2017a; Molina *et al.*, 2017; Johansson *et al.*, 2019). De este modo, el cromosoma Y está involucrado en distintos procesos celulares que posiblemente medie las diferencias sexuales en los diferentes tejidos, así como en diversas especies.

1.2.4. El cromosoma Y es una trampa tóxica en los machos

En las diferentes especies de mamíferos se ha descrito una gran variedad de diferencias sexuales entre los machos y las hembras, desde el comportamiento hasta en el funcionamiento del sistema inmune (Mauvais-Jarvis *et al.*, 2020). Por ejemplo, en el caso de los machos se ha demostrado que generalmente son más agresivos, están menos involucrados en el cuidado de las crías y en algunos casos pueden llegar a matarlas (Archer, 1971; Lukas y Huchard, 2014; West y Capenilli,

2016). Mientras tanto en las hembras, se ha identificado que presentan una mejor actividad inmune tanto a nivel innato como adaptativo y poseen una menor prevalencia en la adquisición de patógenos (Klein y Flanagan, 2016; Tidière *et al.*, 2020). Se ha propuesto que estas diferencias sexuales están mediadas principal por la disparidad hormonal entre los sexos, debido que las hembras presentan el tipo hormonal llamado progesterona y los machos testosterona (Hartman *et al.*, 2020). A pesar de que las hormonas pueden explicar la gran parte de las diferencias sexuales, como sería la efectividad del sistema inmune; en donde poseer testosterona afecta negativamente a este (Klein y Flanagan, 2016), estas diferencias están controladas genéticamente. Dicho lo anterior supone que los cromosomas sexuales jueguen un papel fundamental en la mediación de estas diferencias sexuales (Snell y Turner, 2018), un claro ejemplo sería demostrado por Meester *et al.* (2020), quienes observaron que el cromosoma Y presenta alta densidad genes relacionados al sistema inmune. Asimismo, se ha empezado a denotar que la impronta diferencial de genes ligados al cromosoma X entre los sexos, está involucrada en algunas disimilitudes en el funcionamiento neuronal, y, además, puede ser un mecanismo genómico importante que controlen las diferencias sexuales (Davies *et al.*, 2005; Snell y Turner, 2018). Por ultimo, recientemente se demostró que el cromosoma Y puede controlar los niveles de heterocromatina en todo el genoma, a través, de una disminución de las regiones metiladas a causa del acaparamiento de la maquinaria de metilación provocando un sesgo sexual en la expresión de ciertos genes y, de manera indirecta, promueve diferencias entre machos y hembras (Brown *et al.*, 2020a).

En particular, unas de las diferencias sexuales más destacada entre los sexos es el de la longevidad. Esta característica hace referencia a duración promedio de vida de determinada especie, sin embargo, es influenciada por diversos factores como los sociales (Tung *et al.*, 2016; Blumstein *et al.*, 2018; Snyder-Mackler *et al.*, 2020; Strauss *et al.*, 2020), evolutivos (Bonduriansky *et al.*, 2008; Chen y Maklakov, 2014), el ambiente (Bókony *et al.*, 2017; Stark *et al.*, 2020), las historias de vida (Ricklefs, 2010; Shattuck y Williams, 2010) y los genéticos (Charruau *et al.*, 2016; Whittemore *et al.*, 2019b). Un claro ejemplo bien documentado es que el acortamiento de los telómeros impacta directamente en la esperanza de vida de las especies (Tricola *et al.*, 2018).

En el caso de los humanos, la balanza de longevidad se inclina hacia las mujeres. Esto quiere decir que las mujeres viven más que los hombres en la mayoría de los países; siendo en promedio, cuatro años de diferencia, además, generalmente los individuos centenarios son mujeres (Maklakov y Lummaa, 2013; Marais *et al.*, 2018). Asimismo, se ha documentado que el hombre de edad avanzada es más susceptible a muchas más enfermedades que las mujeres, principalmente a diferentes tipos de cáncer (Kim *et al.*, 2018). Lo anterior tiene mucho que ver con la inactivación del cromosoma X en mujeres ya que muchos genes escapan de este proceso epigenético, de los cuales la mayoría se piensa son supresores de tumores (Dunford *et al.*, 2016), y, además, alrededor de 60 genes mantienen cierto nivel de expresión, aunque su expresión es baja, contribuyen a mejorar la salud de las hembras (Tukiainen *et al.*, 2017). No obstante, este patrón sexual en la longevidad no es única de los humanos, sino, también es observado a lo largo de toda la clase *Mammalia*. En otras palabras, la mayoría de las especies de mamíferos las hembras viven más que los machos (Lemaître *et al.*, 2020).

Esta diferencia en la esperanza de vida entre las hembras y los machos está mediada por diferentes factores como las condiciones ambientales locales y los costos de la selección sexual (Lemaître *et al.*, 2020). A pesar de ello, recién se ha demostrado que los cromosomas sexuales influyen directamente en esta característica. La primera prueba de esta relación se evidenció en el estudio realizado por Pipoly *et al.* (2015), donde se determinó que el tipo de sistema genético para la determinación sexual se relaciona con las proporciones sexuales adultas en mamíferos y aves (Fig. 2). Es decir, en las poblaciones adultas de las diferentes especies de mamíferos donde el macho es heterogamético (XY) existen más hembras (XX). Caso contrario sucede en la mayoría de las especies de aves; donde la población adulta está sesgada hacia machos (ZZ) mientras que las hembras son heterogaméticas (ZW). Sin embargo, la proporción adulta es una medida indirecta de la esperanza de vida, para ello Xirocosta *et al.* (2020) compararon la longevidad máxima y media de hembras y machos de diferentes especies de animales y encontraron que el sexo heterogamético vive menos que el sexo homogamético. En el caso de los mamíferos se observó que en promedio las hembras (sexo homogamético) vive 17% más que los machos (sexo heterogamético) (Fig. 14). Por lo tanto, los cromosomas sexuales modulan la esperanza de vida específica del sexo en tetrápodos.

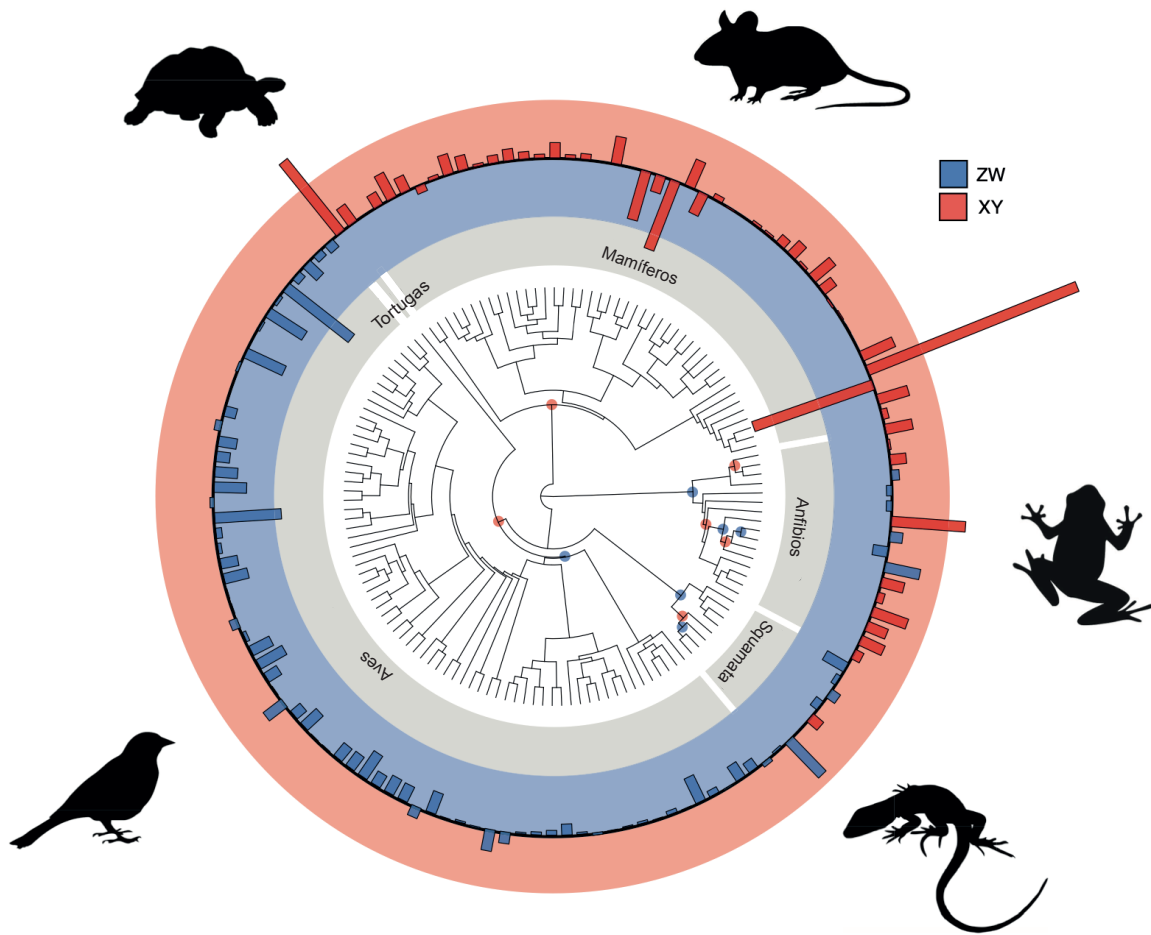


Figura 14. Diferencias de sexo en la vida útil de 138 especies de aves, mamíferos, reptiles y anfibios. Para cada especie se representa un tamaño del efecto estadístico de la relación entre la esperanza de vida de hembras y machos ($\ln R$). Las barras sobre la línea negra (el anillo rojo) indican que las hembras viven más que los machos, mientras que las barras debajo de la línea negra (el anillo azul) indican que los machos viven más que las hembras. Los sistemas ZW están coloreados en azul y los sistemas XY están coloreados en rojo. Los puntos azules en la filogenia muestran los 6 orígenes independientes de los sistemas ZW y los círculos rojos muestran los 6 sistemas independientes de XY en nuestra muestra de especies. Editado de Sultanova *et al.* (2020).

Dicho lo anterior, presentar un cromosoma sexual en proceso de degeneración posiblemente sea una de las causas de esta discordancia. Por ejemplo, en relación al cromosoma Y se determinó que su tamaño está directamente asociado con la supervivencia de los machos. De este modo, los machos de las distintas especies de mamíferos que poseen un cromosoma Y pequeño tienen una tasa de supervivencia anual mayor que las especies con cromosoma Y largos (Sultanova *et al.*, 2020). Una posible explicación sea debido a la acumulación de material

genético repetido y de elementos transponibles (Steinemann y Steinemann, 2005; Sliwinska *et al.*, 2016). En particular, en *Drosophila* se ha identificado que el grado de degeneración del cromosoma Y influye en la efectividad del silenciamiento de los elementos transponibles (Wei *et al.*, 2020). Es decir, en cromosomas Y largos y no tan degenerados presentan una alta transcripción de sus elementos transponibles debido su ineficaz silenciamiento durante el desarrollo, provocando que los TEs se inserten en distintas regiones del genoma y, por lo tanto, aumente la carga mutagénica y disminuya la adecuación de los machos. Asimismo, también se ha observado la pérdida de heterocromatina en el cromosoma Y durante el envejecimiento en distintas especies de *Drosophila* causando inestabilidad genómica y un efecto tóxico en el organismo por el incremento de expresión de TEs y DNA satélite (Brown *et al.*, 2020b; Nguyen *et al.*, 2020).

Por otro lado, se ha realizado modificaciones citológicas en los cromosomas sexuales tanto en la mosca de la fruta como en el ratón para determinar su efecto en la longevidad; en donde a las hembras se le añade un cromosoma Y (XXY o XY) y a los machos se elimina (X0) o se le adiciona un cromosoma Y extra (XYY) (Davis *et al.*, 2018; Brown *et al.*, 2020b) (Fig. 15). De esta manera, se demostró que presentar cromosoma Y disminuye la esperanza de vida, por ejemplo, las hembras con cromosoma Y (XXY o XY) morían antes que las hembras con cariotipo normal (XX), y, del mismo modo, los machos con doble cromosoma Y (XYY) morían mucho antes que el cariotipo normal (XY) y estos a su vez, morían antes que los machos sin cromosoma Y (X0). Asimismo, se ha observado que organismos que presentan cromosomas sexuales tienen una esperanza de vida menor que los organismos con determinación sexual ligada al ambiente (Sabath *et al.*, 2016; Cornejo-Páramo *et al.*, 2020). Por lo tanto, esto da hincapié a poder determinar si los patrones de pérdida mosaica del cromosoma Y observados en el humano también suceden en otros mamíferos (Marais *et al.*, 2018), ya que se ha demostrado que los mismos fenómenos genéticos y evolutivos del cromosoma Y suceden en los diferentes linajes de mamíferos, y probablemente medié las diferencias de longevidad entre machos y hembras (Cortez *et al.*, 2014; Forsberg *et al.*, 2017). En virtud de ello, el cromosoma Y es una trampa tóxica en el envejecimiento de los machos debido a las consecuencias adjuntas a este como son la alta expresión de TEs, la inactivación de regiones génicas fundamentales, así como su propia pérdida que favorece el riesgo de mortalidad temprana (Forsberg *et al.*, 2014; Lund *et al.*, 2019; Brown *et al.*, 2020b).

Finalmente, la menor esperanza de vida de los machos en los mamíferos produce un sesgo en la proporción de sexos, habiendo más hembras que machos (Pipoly *et al.*, 2015). Este desequilibrio en las proporciones de ambos sexos conlleva una gran variedad de consecuencias a nivel poblacional, ecológico, genético y conductual. Los principales efectos de este desequilibrio es la reducción en la diversidad genética debido a un decremento en el tamaño poblacional finito, existe mayor competencia para poder aparearse, se generan cambios conductuales como el abandono en el cuidado parental, la tasa de infidelidad aumenta, y la dinámica poblacional se ve afectada negativamente; volviendo a las poblaciones más susceptibles a la extinción (Eberhart-Phillips *et al.*, 2017; Eberhart-Phillips *et al.*, 2018). De esta manera, es importante comprender qué mecanismos genéticos y cómo los cromosomas sexuales influyen en la longevidad de los machos en mamíferos.

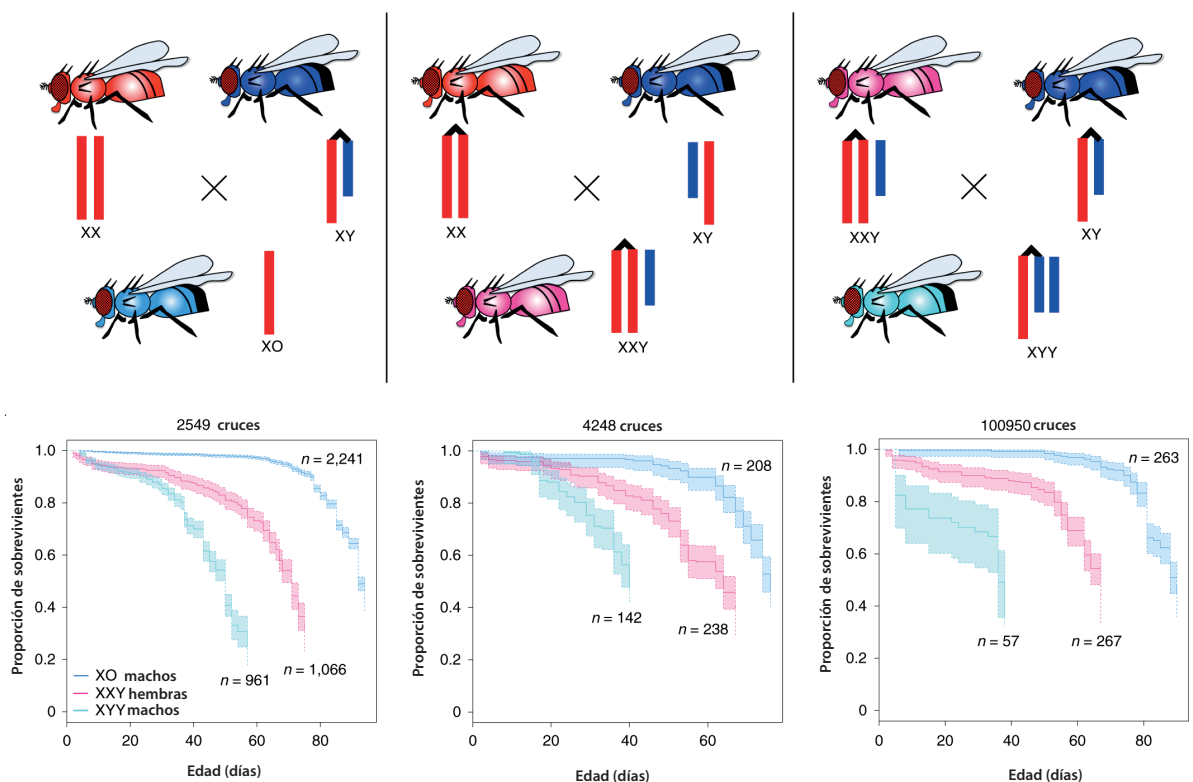


Figura 15. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para moscas con cariotipo de cromosoma sexual aberrante. Los cruces utilizados para obtener las moscas XO, XXY y XYY se muestran en la parte superior. Las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza superior e inferior del 95% calculados a partir de las curvas de Kaplan-Meier. Editado de Brown *et al.* (2020b).

2. Justificación

Este proyecto de investigación representa el primer estudio para conocer el fenómeno del mosaicismo en el cromosoma Y en un mamífero diferente al humano. Se eligió la especie *R. norvegicus* debido a que es una especie modelo de investigación con una esperanza de vida corta, y para el cual se conoce su genoma y biología, lo cual permitirán interpretar de manera más fácil los resultados. Se buscará conocer cómo se da la pérdida mosaica del cromosoma Y al envejecer y su incidencia en diferentes tejidos con diferente longevidad celular, ya que se ha demostrado en humano que la tasa de recambio celular está directamente relacionada con la magnitud de pérdida del cromosoma Y; sin embargo, sólo se ha realizado esta comparación con dos tipos de tejidos a través del uso de técnicas celulares como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH). Por lo tanto, nuestro estudio abarca 11 diferentes tipos tejidos que nos permitirán comprobar si existe la misma tendencia observada en las dos diferentes líneas celulares del humano utilizando técnicas de secuenciación masiva y herramientas bioinformáticas. Esto permitirá entender de mejor manera el proceso de pérdida cromosomal que ha sido estudiado en el humano y se ha relacionado con una gran cantidad de enfermedades que afecta la esperanza de vida del hombre como diferentes tipos de cáncer, el Alzheimer, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad y suicidio. Asimismo, nos ayudará a comprobar si las especies con el mismo sistema de cromosomas sexuales degenerados sufren de los mismos efectos genéticos y evolutivo que anteriormente se ha visto que están relacionado con la longevidad y cantidad de machos y hembras en las poblaciones adultas de tetrápodos.

3. Hipótesis

H₁: Las ratas pierden mosaicamente sus cromosomas Y al envejecer. Esta pérdida sigue una tendencia lineal.

H₂: La pérdida mosaica del cromosoma Y se correlaciona con la tasa de multiplicación de los diferentes tejidos; a una alta tasa de recambio celular una mayor magnitud de pérdida del cromosoma Y.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Determinar la tasa de la pérdida mosaica del cromosoma Y en diferentes tejidos de *R. norvegicus* durante el envejecimiento.

4.2. Objetivos específicos

- 1) Determinar si la pérdida mosaica del cromosoma Y se incrementa con la edad en la rata.
- 2) Cuantificar la frecuencia de la pérdida mosaica del cromosoma Y en las células de 11 diferentes tejidos durante el envejecimiento.
- 3) Analizar si la magnitud de la pérdida mosaica del cromosoma Y se correlaciona con la tasa de división celular de los 11 diferentes tejidos.
- 4) Esclarecer si la pérdida del cromosoma Y en los tejidos más afectados influye en la susceptibilidad de pérdida del cromosoma X.
- 5) Identificar los patrones de susceptibilidad multitisular de la pérdida del cromosoma Y de manera individual.

5. Materiales y Métodos

5.1. Modelo de estudio: *R. norvegicus*

Rodentia es el orden más diverso de los mamíferos con alrededor de 2,277 especies repartidas en 481 géneros dentro de 33 familias. Se caracterizan por ser mamíferos de tamaño pequeño, cosmopolitas (con excepción de la Antártida) y mayoritariamente herbívoros (Álvarez-Romero y Medellín, 2005).

Varias especies de roedores son importantes como modelo de estudio en la investigación científica. Una de las especies más utilizada como modelo de investigación es *Rattus norvegicus*. Originaria del norte de China, actualmente se distribuye por todo el mundo; principalmente en zonas urbanas. Pertenece a la familia Muridae, fue descrita por Berkenhout en 1769 (Wilson y Redeer, 1983) y presenta una distancia filogenética con el humano de 90 MA. Se caracteriza por poseer un pelaje áspero y grueso de color café o gris oscuro y la cola desnuda. Es una especie omnívora, come desde material vegetal hasta algunos animales de tamaño pequeño. Tiene una longitud total de 80 a 480 mm y una longitud de la cola al rededor de 187 mm. Su longevidad promedio es de 2 años, aunque pueden llegar a vivir hasta 3 años (Álvarez-Romero y Medellín, 2005).

Las hembras de *R. norvegicus* son capaces de tener de 1 a 12 camadas al año a partir de que llegan a la madurez sexual a los 2 o 3 meses de edad. Generalmente, el tamaño por camada es de 9 crías, la cuales nacen después de un periodo de gestación de 21 a 26 días. El apareamiento puede darse durante cualquier temporada del año (Wilson y Redeer, 1983).

Finalmente, el estudio de esta especie modelo ha permitido una gran cantidad de contribuciones a diferentes áreas del conocimiento como son la genética, la fisiología, la inmunología, la patología; excelente modelo para enfermedades humanas de importancia biomédica como la susceptibilidad al cáncer, la hipertensión, la obesidad, la diabetes y las enfermedades autoinmunes (Álvarez-Romero y Medellín, 2005).

5.2. Toma de muestra

Se mantuvieron 23 machos de rata bajo seguimiento y cuidado a lo largo de 23 meses de vida en jaulas de un metro de largo por un metro de ancho y un metro de altura en el bioterio de Instituto de Biotecnología de la UNAM. Las ratas estuvieron en parejas o grupos de tres con

comida y agua a voluntad, y una fotoluminiscencia de 12 horas automatizada cumpliendo las condiciones y especificaciones técnicas señaladas por la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Se tomaron muestras de sangre cada 4 meses durante los 23 meses de seguimiento o hasta la muerte de algún individuo. Cada individuo se tranquilizó previamente mediante un masaje y cubriendo su rostro para evitar algún problema o daño físico. Posteriormente, se realizó un corte en la punta de la cola de 1 a 2 mm de longitud; de esta manera se evitó cortar alguna terminación nerviosa. En seguida, se ejecutó un masaje de calor en la cola comenzando de la parte superior hasta bajar a punta de manera continua para ayudar a la circulación de sangre y obteniendo una muestra de alrededor de 1.5 ml. Inmediatamente, se congeló las muestras en hielo seco para su posterior procesamiento. Por último, se revisó el estado de salud de los individuos y se les puso un cicatrizante para evitar alguna infección y su rápida recuperación.

Las ratas se sacrificaron al cumplir los 23 meses de vida o si el individuo se encontraba en mal estado de salud usando una guillotina; se le cortó la cabeza con las especificaciones de salubridad mencionadas en la norma mexicana anterior. Una vez muertas las ratas, se prosiguió a la extracción de órganos mediante el uso del kit de disección cortando la piel y abriendo el cuerpo. Se extrajo los testículos, el corazón, los pulmones, el hígado, los riñones, el cerebelo, el páncreas, el bazo, músculo y la piel que presentan distinta tasa de recambio celular (Tabla 1, Anexo) e inmediatamente se congeló en hielo seco para su traslado al laboratorio dónde se mantuvieron a una temperatura de -80°C hasta su posterior procesamiento.

Además, con la colaboración de la Dra. Susana Castro del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM se obtuvieron muestras de sangre y órganos (corazón, testículos, hígado, riñón y pulmón) de ratas de 4 meses, 12 meses, 24 meses y 25 meses que se congelaron a una temperatura de -80 °C hasta su procesamiento.

5.3. Extracción de DNA

Se extrajo el DNA de aproximadamente 600 muestras de 11 diferentes tejidos (Tabla 1, Anexo). En el caso de los órganos, se utilizó 25 mg de tejido de cada órgano usando el kit QIAamp Fast DNA Tissue de QIAGEN, siguiendo las indicaciones del fabricante. Por otro lado, se tomó 150

µl de sangre fresca de las 23 ratas del bioterio del IBT para extraer el DNA siguiendo el procedimiento del kit Blood DNA Isolation Mini de NORGEN BIOTEK CORP.

Para las muestras de sangre de las ratas del Instituto de Fisiología Celular, UNAM, se utilizó una modificación del protocolo de Nasiri *et al.*, 2005, ya que la sangre se encontraba más coagulada y la extracción con el kit era ineficiente. Por lo tanto, una muestra de aproximadamente 150 µl de sangre que se centrifugó a 20,000 g (14,000 rpm) por 10 minutos a 4°C. Posteriormente, se retiró el sobrenadante y se añadió 300 µl del buffer STE (Cloruro de sodio-Tris-EDTA, solución 1X, pH 8.0) y 100 µl de Proteinasa K, agitando con un vortex para homogenizar con el pellet. Se dejó a incubar durante toda la noche a 55°C a 500 rpm.

Al día siguiente, se recuperó el sobrenadante y se añadió SDS al 10% para dejar incubar sobre hielo durante 5 minutos. Después se añadió 1000 µl de NaCl saturado y de nuevo se dejó incubar en hielo durante 10 minutos. Finalmente, se agregó 1,000 µl de etanol al 100% y se mezcló suavemente por inversión para dejar incubar durante toda la noche a -20°C.

Después de la incubación a -20°C, se centrifugó a 20,000 g a 4°C durante 30 minutos. Posteriormente, se retiró el sobrenadante con cuidado de mantener intacto el pellet. Después, el pellet de DNA genómico se lavó con 500 µl de etanol al 70% a -20°C con vortex violento para volver a centrifugar a 20,000 g a 4°C durante 15 minutos. Una vez limpio el pellet de NaCl, el sobrenadante se pasó a una columna para extracción de DNA y se centrifugó a 20,000 g. Finalmente, se añadió 50 µl de buffer TE (Tris-EDTA, Solución 1X, pH 7.4) para dejarse incubar por un minuto a temperatura ambiente y se centrifugó por un minuto a 20,000 g a temperatura ambiente. Se comprobó la integridad del DNA genómico extraído de todas las muestras de los diferentes tejidos a través de geles de electroforesis de agarosa al 1% y se cuantificó la concentración espectrofotométricamente en el NanoDrop 1,000 Thermo Fisher Scientific; esperando tener una proporción superior de 1.80 y menor a 2.0 en las frecuencias de onda de 260/280.

5.4. Diseño y verificación de oligonucleótidos

Se diseñaron tres pares de oligonucleótidos de entre 20 – 25 pb con ayuda del programa AmplifX para amplificar regiones de 500 – 600 pb de copia única del cromosoma 10, cromosoma X y

cromosoma Y, con base en el genoma de referencia de *R. norvegicus* que se tiene disponible en el sitio del ENSEMBL v. 98 (Rnor_6.01) (Tabla 1). Para el caso de la región de cromosoma 10, se escogió el gen *Coll1A1* que codifica para la proteína de colágeno tipo 1. Para los cromosomas X y Y se utilizó el gene *Eif2s3X/Y*, que codifica para un factor de transcripción involucrado principalmente en la espermatogénesis, sin embargo, se ha observado que altamente transcrito en diferentes células somáticas del humano, ratón y rata (Bellot *et al.*, 2014; Cortez *et al.*, 2014; Shirleen-Soh *et al.*, 2014), sufre de muy pocas microdeleciones y posiblemente cumple funciones en la regulación celular. (Bellot *et al.*, 2014). Además, se demostró que en la rata el gen *Eif2s3Y* no ha sido transpuesto en otro cromosoma autosomal a diferencia de otros mamíferos como el humano, marmota, chimpancé y macaco, por lo tanto, sólo presenta una copia única en el genoma de la rata (Hughes *et al.*, 2015).

Posteriormente, los oligonucleótidos se sintetizaron en la Unidad de Síntesis del Instituto de Biotecnología de la UNAM, y se probaron vía PCR con muestras de sangre de ratas hembras para comprobar la amplificación del oligonucleótido del cromosoma X y de machos para la amplificación del oligonucleótido del cromosoma Y. En cada reacción se incluyó un control negativo (agua), siguiendo el protocolo de la polimerasa Phusion Flash High Fidelity de Thermo Fisher Scientific con un ciclo a 98°C por diez segundos (desnaturalización), seguido de 30 ciclos a 98°C por dos segundos, 66°C por cinco segundos (alineación) y 72°C por diez segundos (elongación de la cadena), y finalmente, un ciclo a 72°C por 30 segundos (elongación final). Finalmente, se realizaron geles de agarosa al 1% para electroforesis teñidos con bromuro de etidio para confirmar la amplificación por PCR de las regiones sobre las regiones que se diseñaron cada par de oligonucleótidos.

Región génica	Secuencia de oligonucleótidos
<i>Coll1A1</i>	F: ACTGTCAGAGTCCAAGCTTCCA R: TGC GAAAGGTGAACCTGGTGAT
<i>Eif2s3X</i>	F: GGCAGCCGAGCATTTCCTTTT R: AGTCATAGCAAGCCCTCAAGTG
<i>Eif2s3Y</i>	F: GCAGTCAAGGCAGATTTGGGTA R: AGCACTCCCAAAGCAATCATAAGG

Tabla 1. Secuencias de los tres pares de oligonucleótidos diseñados

Se verificó la eficiencia de los oligonucleótidos vía PCR en tiempo real (qPCR) Thermo Fisher Scientific, para lo cual previamente las concentraciones de DNA de diferentes tejidos e individuos machos se estandarizaron a 20 ng/μl. Posteriormente, se preparó una curva de calibración (DNA) con estándares a diferentes concentraciones. Se emplearon cuatro concentraciones diferentes: al 100%, 10%, 1% y 0% con el DNA estandarizado (20 ng/μl) por triplicado y utilizando agua como control negativo. Se utilizó un volumen total de 20 μl por muestra, y, asimismo, se empleó una T_m promedio para los oligonucleótidos de 61°C a una concentración de 10 pM por cada uno (reverse y forward) en un volumen de 1.5 μl y SYBR Green. Para la reacción de PCR en tiempo real se siguió el siguiente protocolo: un ciclo a 50°C por dos minutos, seguido de un ciclo de 95°C por 10 minutos, contiguamente 40 ciclos a 95°C por 15 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos, y finalmente, un ciclo a 95°C por 15 segundos y 60°C por 30 segundos. Finalmente, se midió la eficiencia de la amplificación para tener una cuantificación confiable mediante el uso de la curva proveniente de la amplificación de las diluciones seriales en el que se mostró el valor correspondiente de C_T de una copia para el amplicón del cromosoma Y y X, y el valor de dos copias para el cromosoma 10. Se utilizó una adaptación del método comparativo C_T (umbral de ciclo) ($2^{-\Delta C_T}$) donde ΔC_T del cromosoma sexual (Y) igual al valor C_T del autosoma menos el valor C_T del cromosoma sexual (Y) (ΔC_T cromosoma Y = C_T cromosoma Y - C_T autosoma). Calculamos la desviación estándar de los datos y aplicamos una prueba t pareada para determinar la significancia estadística (p < 0.05) de la diferencia de dosis génica entre cromosomas.

5.5. Preparación y secuenciación de librerías

Se añadió una secuencia de nucleótidos como adaptadores a los tres pares de oligonucleótidos funcionales que sirvió para la construcción de las librerías para la plataforma de secuenciación de Illumina. Los adaptadores fueron los siguientes:

- Forward overhang: 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-[locus- specific sequence]
- Reverse overhang: 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-[locus- specific sequence]

Posteriormente, todas las muestras se estandarizaron a 10 ng/ μ l, las cuales se emplearon para la realización de una PCR utilizando la polimerasa Phusion Flash High Fidelity de Thermo Fisher Scientific en donde se utilizaron los tres pares oligonucleótidos con adaptadores para amplificación de las tres regiones cromosomales (cromosoma 10, X y Y) al mismo tiempo y en la misma reacción. Se siguió el protocolo de Phusion Flash High Fidelity de Thermo Fisher Scientific con un ciclo a 98°C por diez segundos (desnaturalización), seguido de 30 ciclos a 98°C por dos segundos, 58°C por cinco segundos (alineación) y 72°C por diez segundos (elongación de la cadena), y finalmente, un ciclo a 72°C por 30 segundos (elongación final).

Para confirmar la amplificación de las tres regiones génicas en una misma reacción, se realizó una electroforesis de una muestra amplificada por PCR en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Una vez realizado la electroforesis, se extrajo el amplicón del gel de agarosa utilizando el kit de QIAquick Gel Extraction Kit Protocol de QIAGEN. En seguida, se cuantificó el DNA utilizando el NanoDrop 1,000 de Thermo Fisher Scientific y se realizó una PCR con la enzima Phusion Flash High Fidelity de Thermo Fisher Scientific con los tres pares de oligonucleótidos sin adaptadores por separado; esperando obtener el amplicón de los tres cromosomas, y, asimismo, confirmando la correcta amplificación en la metodología anteriormente mencionada. Una vez confirmado el correcto funcionamiento de la PCR se procesó las 600 muestras de diferentes tejidos de la rata y se verificó su correcta amplificación a través de geles de electroforesis.

El producto amplificado de PCR de ~500 pb se purificó, debido a que la reacción de PCR con la enzima Phusion High Fidelity es susceptible de formar secuencias de menor tamaño. Por lo tanto, se eliminaron todos los amplificados menores a 500 pb, usando perlas magnéticas Agencourt AMPure XP. Se utilizó 22.5 μ l de la solución con perlas magnéticas por cada muestra, y en seguida, se mezcló vigorosamente. Las muestras con el producto de PCR se colocaron dentro de un imán y se dejó reposar durante seis minutos hasta que la solución se tornó transparente. Posteriormente, se añadieron 200 μ l de etanol 80% manteniendo dentro del imán y se dejó reposar durante 30 segundos para después retirarlo; evitando tocar al cúmulo de perlas magnéticas. Una vez retirado el etanol, se dejó secar durante tres minutos con la tapa abierta, y finalmente, cuando las perlas estuvieron secas se resuspendió con un buffer de elusión

para, posteriormente, se retiró las perlas magnéticas de la muestra con ayuda de un imán y traspasó el DNA purificado en un nuevo tubo de microcentrífuga.

Las muestras purificadas de la reacción de PCR con los tres oligonucleótidos se cuantificaron utilizando el Qubit 1X dsDNA HS Assay Kits y dsDNA Br Assay Kit y se mandaron a la Unidad de Secuenciación Masiva del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Cada uno de los productos de DNA de la PCR donde se amplificaron juntos los tres genes correspondientes a los cromosomas A, X y Y, se etiquetó con un identificador único usando los adaptadores Nextera XT Index Kit v2 (Illumina, CA, EE. UU.) y uniéndolos con una DNA polimerasa de alta fidelidad Phusion Thermo Scientific. Después de eso, las bibliotecas de DNA se purificaron con perlas magnéticas y se cuantificaron mediante Qubit, como ya se describió, y se secuenciaron en un sistema NextSeq 500 Illumina utilizando el NextSeq 500/500 High Output Kit v2 (150 ciclos) y en un High Output v2.5 celda de flujo, ambos del mismo proveedor, con una profundidad de 100,000x.

5.6. Alineación de amplicones y análisis de cobertura

La calidad de las secuencias de cada lectura obtenida del genoma por individuo se evaluó con FastQC y se recortaron los adaptadores restantes y regiones de mala calidad de las secuencias de 75 pb con el programa Trimmomatic.

Las lecturas genómicas de todos los individuos se alinearon contra el genoma de referencia de la rata utilizando el programa bowtie2. Se escogió el programa bowtie2 porque es el mejor programa para alineaciones de lecturas cortas (75-150 pb) y junto con las herramientas SAMtools (Li *et al.*, 2009) nos permitieron ordenar las lecturas en los tres loci secuenciados (10, X y Y).

La cobertura del cromosoma 10 se estimó a través del promedio de las lecturas alineadas a la posición correspondiente del gen *Coll1A1* (locus 82,757,368). Se realizó el mismo procedimiento para los genes *Eif2s3X* (locus 63,290,592) y *Eif2s3Y* (locus 930,587). Posteriormente, se calculó el promedio de las coberturas del gen *Coll1A1* de todas las muestras para después normalizar todas las muestras usando la diferencia entre las medianas. Finalmente, los valores del cromosoma X y el cromosoma Y se corrigieron tomando en cuenta los valores

normalizados para *CollAI*. Finalmente, se calculó la tasa de pérdida de los cromosomas X y Y a través del tiempo haciendo la comparación de coberturas entre las muestras de tejidos de individuos de edades cortas (4 meses) contra individuos de edades avanzadas (12-24 meses).

5.7. Categorización tisular y obtención del nivel de mosaicismo

Los 11 tejidos fueron clasificados en cuatro categorías de acuerdo su respectiva tasa de recambio celular (Anexo, Tabla 2). De este modo, los tejidos como el bazo, músculo, páncreas, pulmón, piel y sangre, cuyo recambio celular sucede en menos de 30 días, fueron clasificados como tejidos con tasa de recambio celular rápida. La siguiente categoría agrupa a los tejidos con una tasa de recambio celular continua, como el riñón y testículo. La tercera categoría se constituyó por el hígado que presenta una tasa de recambio celular media, siendo el único tejido cuyo recambio celular ocurre en un lapso superior de años. Finalmente, la última categoría se formó por el corazón y el cerebelo, ya que son los tejidos que la mayor parte de sus células no se divide, o sea, su tasa de recambio celular es nula.

Por otro lado, para evaluar el nivel de pérdida se decidió obtener el valor del nivel de mosaicismo específico para cada tejido. Este valor se obtuvo mediante la resta del \log_{10} de la cobertura del tejido viejo menos el \log_{10} de la mediana de la cobertura del tejido juvenil. De este modo, valores negativos significan posibles eventos de pérdida, mientras que los valores positivos representan posibles eventos de ganancia. Por consiguiente, se compararon los niveles de mosaicismo de las muestras adultas acordes con las categorías de recambio celular.

5.8. Análisis estadísticos

Se realizaron regresiones lineal simples y se estimó el coeficiente de correlación para analizar la existencia de una relación entre la tasa de pérdida mosaica de los cromosomas X y Y en todos los tejidos y su dependencia con la edad (variable explicativa) utilizando los valores en logaritmo base 10 de la cobertura. Los análisis se realizaron en la plataforma de R Studio del software R Project versión 3.6.0.

6. Resultados

6.1. Amplificación de regiones génicas y verificación de librerías

Se amplificaron tres regiones únicas del genoma de la rata en el cromosoma 10, el cromosoma X y el cromosoma Y de 550 pb. Para el cromosoma 10 se diseñaron dos pares de oligonucleótidos para la amplificación del gen *Coll1A1* y de igual manera para amplificación del gen *Eif2s3X* y su gametólogo *Eif2s3Y* en el cromosoma X y el cromosoma Y respectivamente. Se verificó su amplificación a través PCR con la Polimerasa Phusion Flash High Fidelity de Thermo Fisher Scientific usando utilizando un control negativo (agua), sangre de rata hembra y sangre de rata macho y se realizó un gel de electroforesis (Fig. 16).

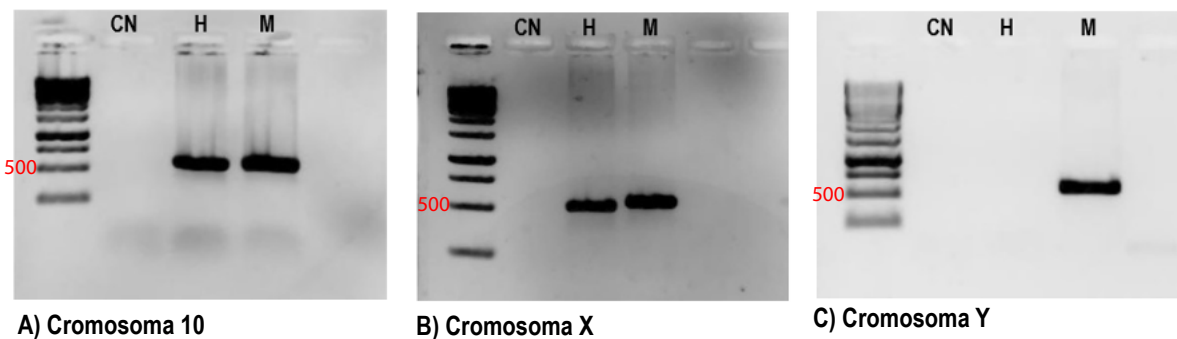


Figura 16. Geles de electroforesis de los diferentes amplicones. A) Amplicón en el cromosoma 10 del gen *Coll1A1*, B) Amplicón del cromosoma X del gen *Eif2s3X* y C) Amplicón del cromosoma Y del gen *Eif2s3Y*. CN: Control negativo, H: Hembra y M: Macho.

Una vez amplificadas las tres regiones génicas, se evaluó el número de copias del gen ligado al Y mediante qPCR, tomando como referencia las dos copias esperadas del gen *Coll1A1* (Fig. 17A). De esta manera se corroboró, utilizando DNA de bazo de rata de 4 meses, que el gen *Eif2s3Y* sólo presenta una copia génica y que su dosis génica corresponde a la mitad del valor autosomal. Aunado a esto, se confirmó la amplificación de las regiones génicas en una misma reacción de PCR con los oligonucleótidos diseñados con los adaptadores (Fig. 17B). Posteriormente, se extrajo el DNA del amplicón del gel de electroforesis para la comprobación individual de las tres regiones génicas (*Coll1A1*, *Eif2s3X* y *Eif2s3Y*) mediante PCR utilizando oligonucleótidos sin adaptadores (Fig. 17C). Una vez verificada la correcta amplificación de las tres regiones génicas, se elaboraron las librerías utilizando la Polimerasa Phusion Flash High

Fidelity de Thermo Fisher Scientific. Los productos de PCR purificados (Fig. 17B) se enviaron a un servicio de secuenciación en una plataforma de Illumina NexSeq.

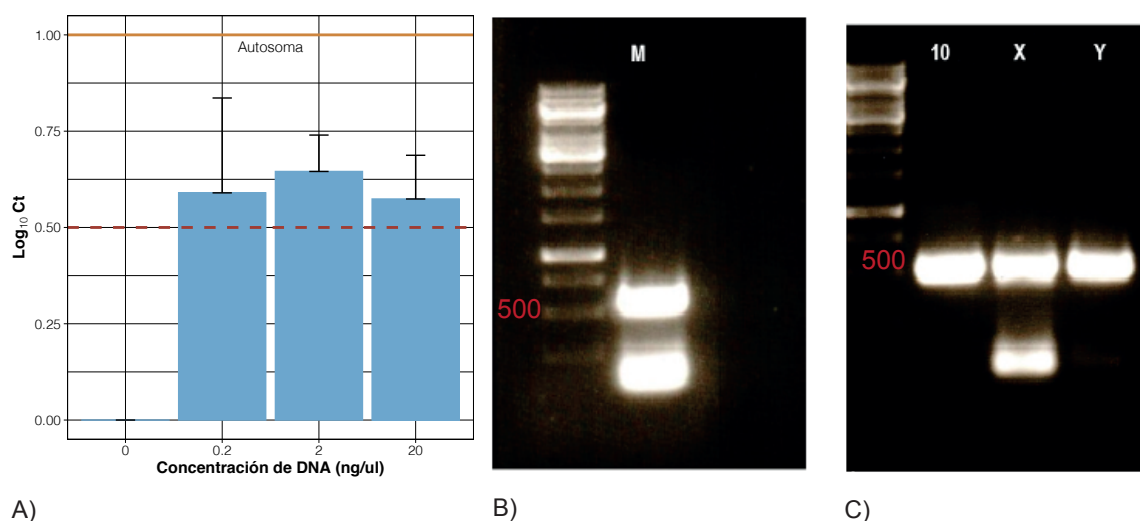


Figura 17. Verificación de dosis génica y librerías. A) Los valores de Ct del gen ligado a Y en cada una de las concentraciones muestran un patrón de expresión correspondiente a lo observado para otras especies (línea roja) con respecto al valor autosomal (línea amarilla). Por lo tanto, el gen *Eif2s3Y* está presente en una sola copia única dentro del genoma y el cromosoma Y de la rata. B) Gel de electroforesis de la amplificación de las tres regiones génicas en una misma reacción de PCR. C) Gel de electroforesis de la amplificación de las tres regiones génicas individualmente. M: Mix de regiones génicas, 10: Cromosoma 10 (*Coll1A1*), X: Cromosoma X (*Eif2s3X*) y Y: Cromosoma Y (*Eif2s3Y*).

6.2. Filtración y clasificación de los datos de cobertura

Se cuantificó la disminución de cobertura del cromosoma Y de 382 muestras de 11 diferentes tejidos de rata, y se resecuenciaron 65 muestras de seis tejidos. Se descartaron 55 muestras para el análisis de mosaicismos a causa del bajo porcentaje de secuencias alineadas al genoma de la rata (20 – 60%), evidenciando principalmente un sesgo hacia un cromosoma (Fig. 18). De este modo se obtuvo un total final de 332 muestras con la calidad mínima para el análisis de pérdida del cromosoma Y. Estas muestras provenían 26 del bazo, 40 del cerebro, 35 del corazón, 55 del hígado, 14 del músculo, 27 del páncreas, 14 de la piel, 35 del pulmón, 38 del riñón, 31 de sangre y 97 de testículo de seis edades diferentes (4, 12, 18, 23, 24, 25 meses de edad) (Anexo, Tabla 3); siendo mayormente las muestras de edades de 4 o 23 meses.

Para evitar tener altos niveles de variabilidad en los patrones de cobertura a causa de la cantidad variable de muestras por edad, se clasificaron las seis edades en tres etapas de

desarrollo: juvenil (correspondiente a edades de 0 a 10 meses), adulto (correspondiente a edades de 11 a 20 meses) y viejo (correspondiente a edades mayores de 21 meses). De esta manera, dividiendo las edades en estas tres etapas se pudo obtener un patrón más definido de mosaicismo. Asimismo, se observó que hubo varias secuencias de diversas muestras que alinearon contra 19 diferentes sitios del genoma de la rata. Principalmente, la mayor parte de los loci en donde se alinearon las secuencias corresponden al cromosoma 4 y seguido del cromosoma 8 y 12. Estas lecturas provienen seguramente de amplificaciones inespecíficas durante la etapa de PCR. Los tejidos que presentaron mayor número de muestras con alineación en otros loci fue el cerebelo, corazón y páncreas. Por otro lado, el tejido que presentó mayor número de muestras con un alto porcentaje (> 80%) de alineación al genoma de la rata fue el bazo y pulmón, siendo el cerebelo el tejido con mayor número de muestras con menor porcentaje de alineación al genoma de referencia.

Finalmente, los valores de cobertura del cromosoma X y Y fueron normalizados tomando como referencia el valor normalizado del cromosoma autosomal (cromosoma 10) que fue de 270,657 (5.432 en logaritmo base 10). Se eligió un cromosoma autosomal porque estos cromosomas no sufren de mosaicismo asociado a la edad.

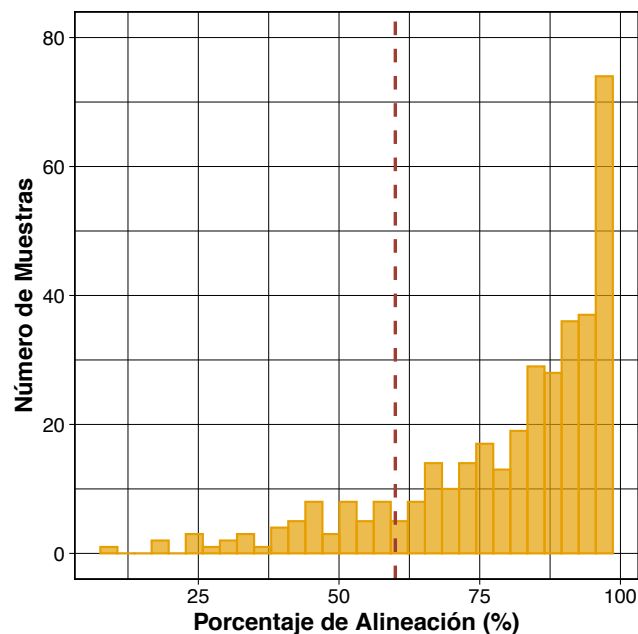


Figura 18. Histograma de la distribución de las 382 muestras secuenciadas tomando como referencia el porcentaje de alineación al genoma de referencia. El 14.4% de las muestras se descartaron por presentar un valor menor al 60% de alineación (línea roja).

6.3. La rata pierde el cromosoma Y durante el envejecimiento

Analizando los 11 tejidos de la rata juntos, se observó una disminución en la cobertura del cromosoma Y conforme avanzan las etapas de desarrollo (Fig. 19). De este modo, el nivel de cobertura del cromosoma Y en el estado juvenil presentó un patrón particular en donde se advirtieron algunas muestras con baja cobertura provenientes principalmente de sangre y testículo. Sin embargo, la mayoría mostraron un patrón normal de cobertura. Asimismo, en la etapa “viejo” es donde apreciamos que la cobertura del cromosoma Y disminuyó de forma más drástica, indicando una posible pérdida del cromosoma Y. A pesar de que se observó que varias muestras en esta última etapa exhiben una reducción de la cobertura del cromosoma Y, ésta no es significativa ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test). Además, se observó una variabilidad de la pérdida del cromosoma Y por tejido (ver más abajo). En el caso del cromosoma X, se divisó que la cobertura se mantiene estable en las tres etapas del desarrollo, aunque algunas muestras exhibieron una mínima disminución de cobertura, ésta no fue significativa ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test).

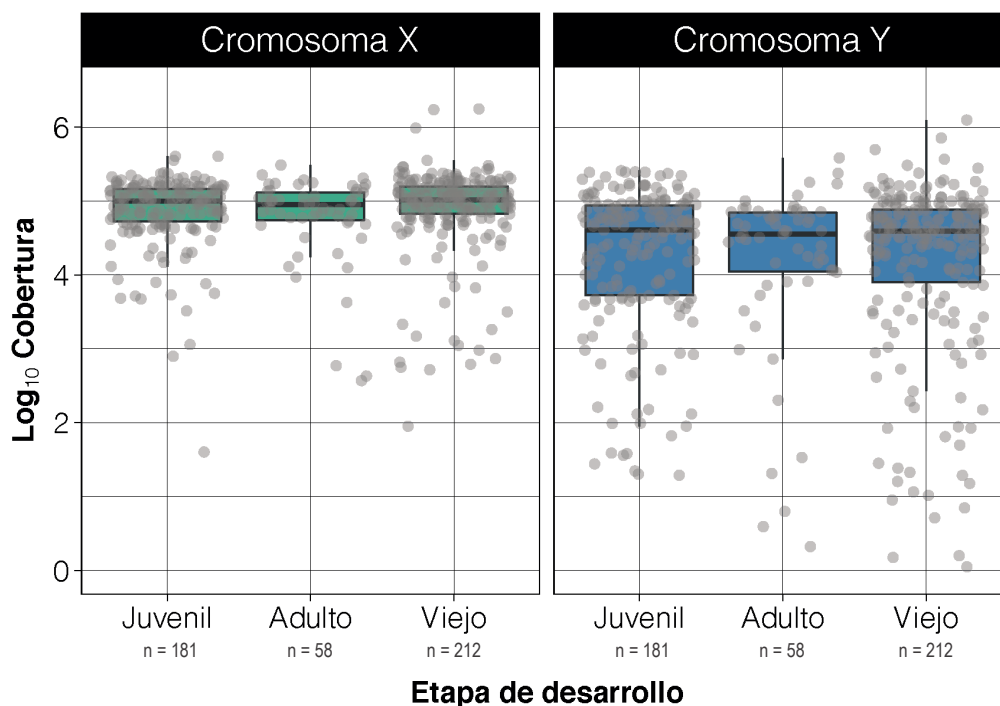


Figura 19. Gráfico de cajas que muestra el valor de la cobertura del cromosoma X (verde) y cromosoma Y (azul) de las 332 muestras de los 11 tejidos en las tres etapas de desarrollo. Los puntos grises representan cada una de las muestras. Se observa un aumento en la cantidad de muestras con disminución de la cobertura del cromosoma Y durante el envejecimiento, y, para el caso del cromosoma X, el mantenimiento de la cobertura durante las tres etapas de desarrollo.

Posteriormente, se realizó una regresión lineal simple para valorar la existencia de una relación directa entre la disminución de cobertura del cromosoma Y durante el envejecimiento utilizando el modelo de $lm(\text{cobertura_X/Y} \sim \text{edad})$. Para este caso se usó la información de las edades de todas las muestras sin categorizarlas. El valor de la pendiente (m) para el cromosoma Y fue de -0.001 ($P = 0.785$) y del cromosoma X fue de 0.001 ($P = 0.555$) (Fig. 20). Sin embargo, de acuerdo con la densidad de los datos, los valores de cobertura del cromosoma Y se encuentran más dispersos y aunque no exista una disminución conspicua, hay una probable pérdida. A diferencia de los valores del cromosoma X, los cuales se encuentran mayormente agrupados. Finalmente, el coeficiente de correlación mostró la ausencia de algún tipo de relación entre el envejecimiento y la disminución de la cobertura del cromosoma Y ($R = 0.009$, $P = 0.833$, Correlación de Spearman), probablemente debido a que existe mucha variabilidad entre los tejidos.

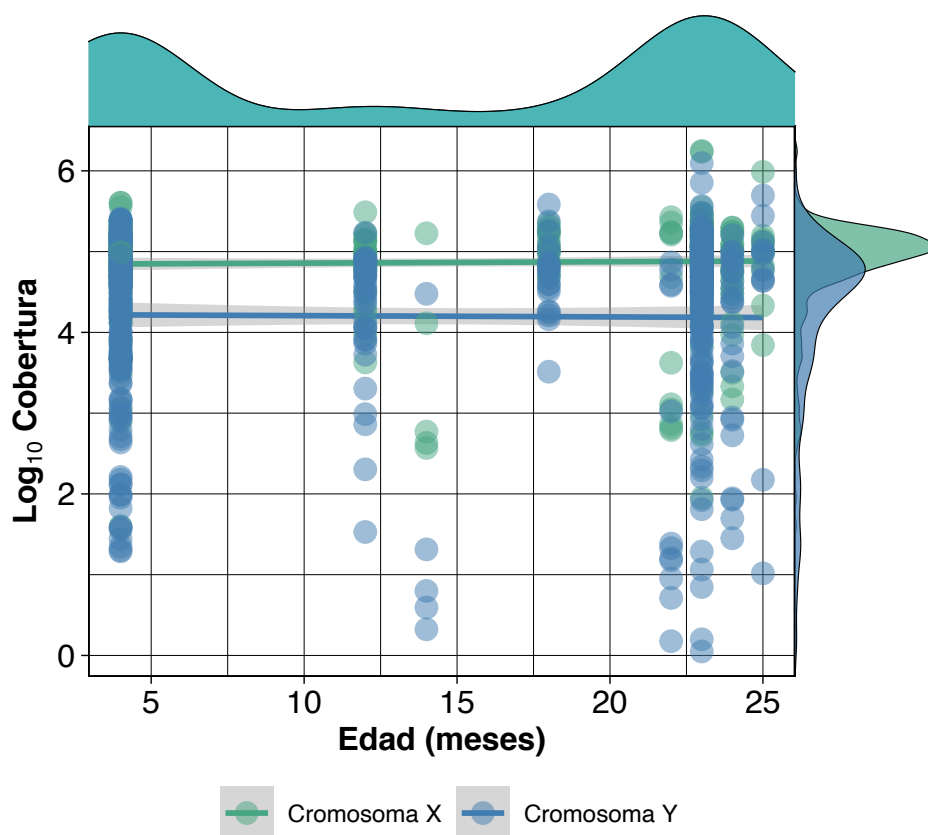


Figura 20. Regresión lineal de las 332 muestras de los 11 tejidos. La línea y puntos verdes representa el cromosoma X y la línea y puntos azules el cromosoma Y. El cromosoma X no presenta pérdida a lo largo del tiempo y tiene un valor de pendiente de 0.001 ($P = 0.555$). El cromosoma Y presentan una pérdida mínima a lo largo de tiempo y tiene una pendiente -0.001 ($P = 0.785$). Los gráficos de densidad correspondiente al valor de cobertura (vertical) muestran que valores del cromosoma Y se encuentran más esparcidos (azul) a diferencia de los del cromosoma X (verde). Esta disminución de cobertura del cromosoma Y se observa mayormente en muestras > 20 meses de edad.

No obstante, una posibilidad de que no se haya encontrado una asociación significativa entre la edad y la pérdida de cobertura como se mostró anteriormente se deba a los tipos de análisis estadísticos usados. Por lo tanto, se calculó el valor de *odds ratio* (OR), permitiendo valorar de mejor manera esta asociación ya que este tipo de análisis es más adecuado para estudios de factores de riesgo. Dicho lo anterior, se tomó como un caso positivo de pérdida cuando el valor de la cobertura fue < 3.5 , y de esta manera, se demostró que los tejidos somáticos de individuos viejos tienen un mayor riesgo de presentar una menor cobertura del cromosoma Y, es decir, que la pérdida mosaica del cromosoma Y en la rata depende de la edad (*odds ratio* (OR) = 2.14, intervalo de confianza 95% (IC) = 1.045-4.412; $P = 0.047$, Fisher's Exact Test).

6.4. Paisaje tisular de la pérdida mosaica del cromosoma Y

Para entender de mejor manera la pérdida mosaica del cromosoma Y se analizó la cobertura de los cromosomas sexuales de solo 10 tejidos, descartando la piel porque tuvieron poco porcentaje de alineación. Del mismo modo que en el análisis general, las edades de las muestras se clasificaron en tres etapas de desarrollo. Los tejidos analizados se pueden catalogar en tres categorías, sin pérdida, con poca pérdida y pérdida fuerte del cromosoma Y (Fig. 21 y 22) (Apéndice, Tabla 1). Tejidos sin pérdida significativa son el bazo, el páncreas, el pulmón ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test). Estos resultados dan entender que las células que forman estos órganos sufren de muy poca o nula pérdida del cromosoma Y durante el envejecimiento.

Por otro lado, en el caso de los tejidos que presentaron una poca disminución significativa fueron el cerebelo ($P = 0.049$, Mann-Whitney U-test) y corazón ($P = 0.042$, Mann-Whitney U-test). Lo que da a entender que sólo un bajo porcentaje de las células que forman estos dos tejidos pierden el cromosoma Y. Uno de los tejidos con una disminución más conspicua de cobertura fue el hígado, dando a entender que la pérdida del cromosoma Y es un evento más común en las células que conforman este tejido ($P = 0.003$, Mann-Whitney U-test). Finalmente, el riñón fue el tejido que presentó una disminución más importante de la cobertura del cromosoma Y durante el envejecimiento ($P = 0.006$, Mann-Whitney U-test). Se puede decir, que las células renales presentaron altos niveles de pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento y que fue un evento común en las distintas células que conforman el riñón. Cabe señalar, que tanto en la sangre y en el músculo se observó una disminución evidente en la

cobertura del cromosoma Y, sin embargo, esta no fue significativa ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test) a causa de poca cantidad de muestras en etapa juvenil.

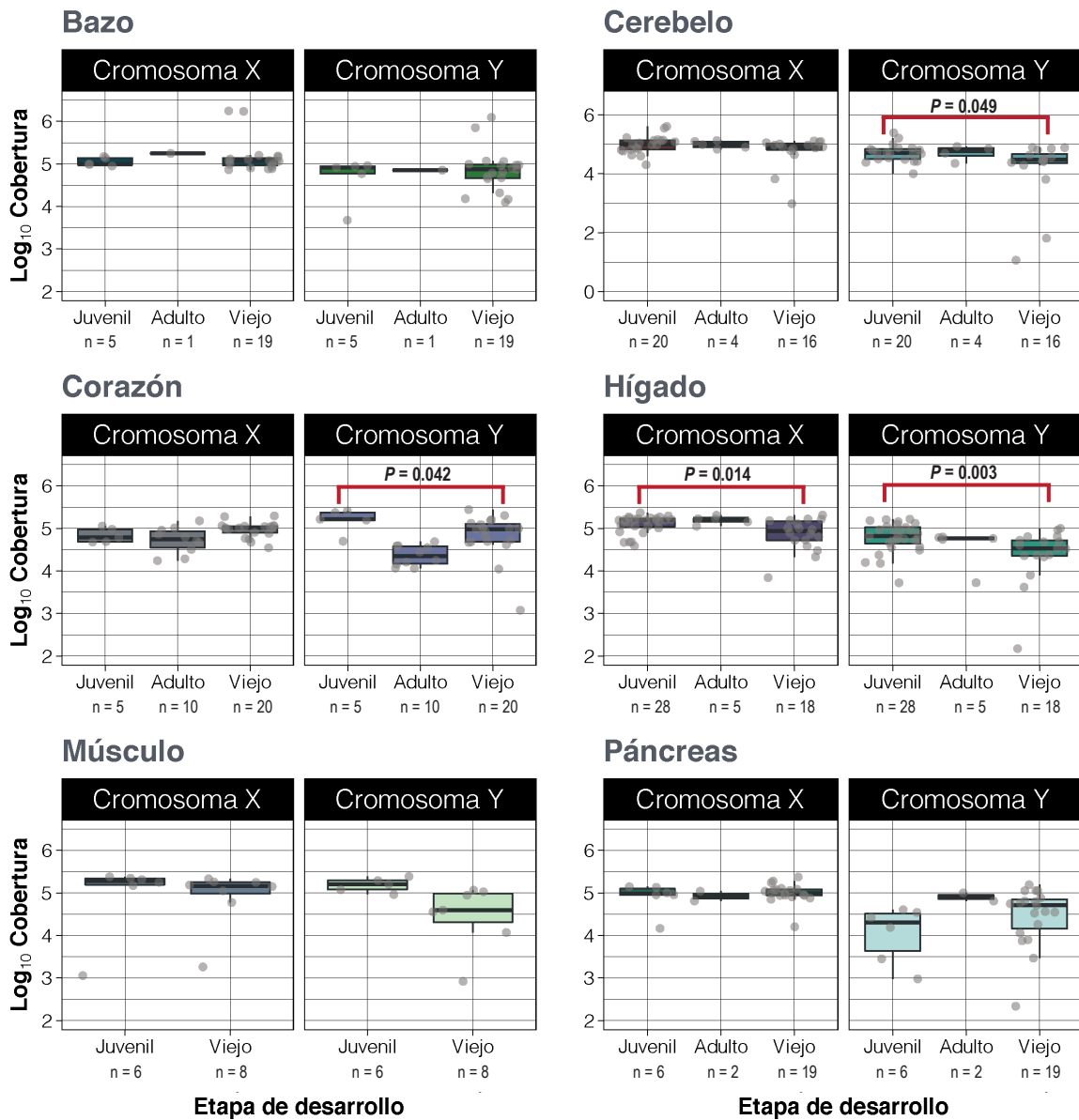


Figura 21. Gráficos de cajas por tejido que muestran el valor cobertura del cromosoma X y del cromosoma Y clasificado en tres etapas de desarrollo. Los puntos de grises representan cada una de las muestras analizadas dentro de cada categoría de etapa de desarrollo. El bazo, músculo y páncreas no presentaron disminución significativa del cromosoma Y y X durante el envejecimiento ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test). Mientras, el cerebelo, corazón e hígado presentaron una disminución significativa de la cobertura del cromosoma Y a lo largo del desarrollo ($P < 0.05$, Mann-Whitney U-test) y únicamente el hígado presentó una disminución en la cobertura del cromosoma X ($P < 0.05$, Mann-Whitney U-test).

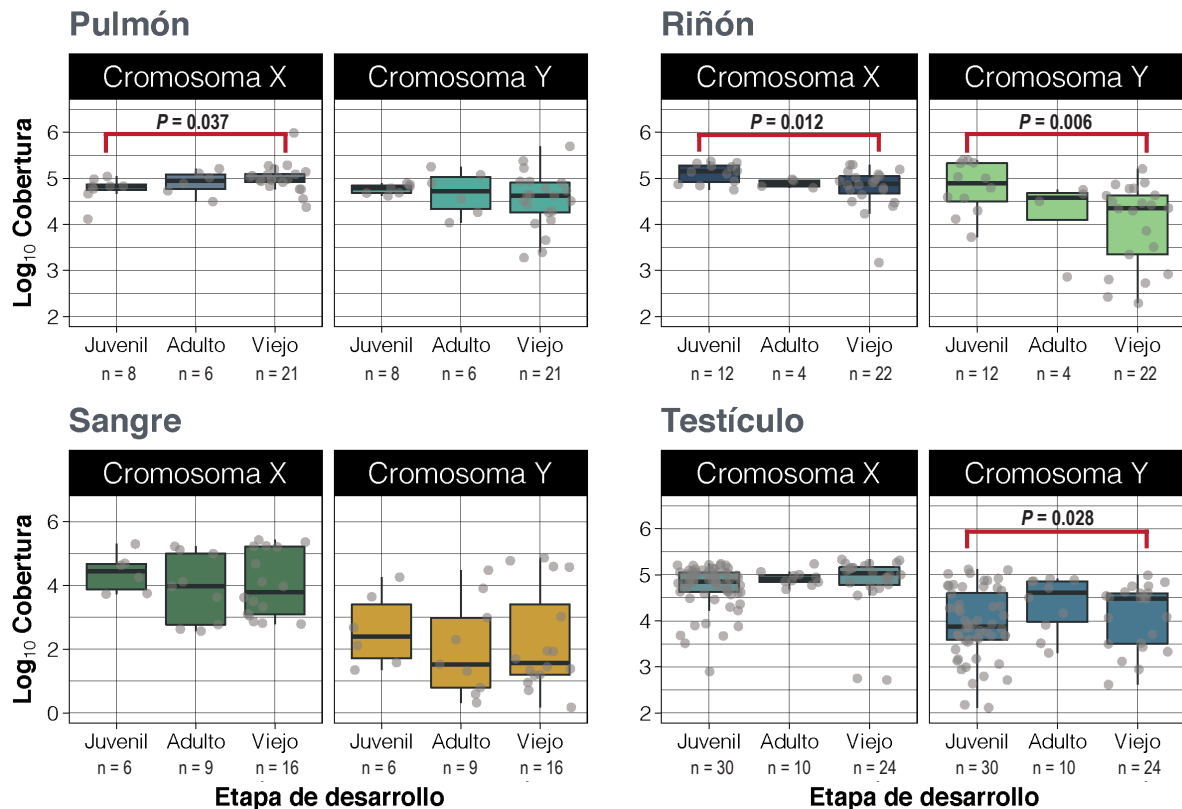


Figura 22. Gráficos de cajas por tejido que muestran el valor cobertura del cromosoma X y del cromosoma Y clasificado en tres etapas de desarrollo. Los puntos de grises representan cada una de las muestras analizadas dentro de cada categoría de etapa de desarrollo. El pulmón y sangre no presentaron disminución significativa del cromosoma Y y X durante el envejecimiento ($P > 0.05$, Mann-Whitney U-test). Por otro lado, el riñón presentó una disminución significativa de la cobertura del cromosoma Y y X a lo largo del desarrollo ($P < 0.05$, Mann-Whitney U-test). Por último, en el testículo se identificó un aumento en la cobertura del cromosoma Y, y del mismo modo, un aumento en la cobertura del cromosoma X en el pulmón ($P < 0.05$, Mann-Whitney U-test).

Con respecto al cromosoma X, no se identificó una disminución en la cobertura en los tejidos analizados con excepción del hígado ($P = 0.014$, Mann-Whitney U-test) y riñón ($P = 0.0012$, Mann-Whitney U-test), los cuales fueron los únicos tejidos en donde se observó una disminución importante en los valores de cobertura del cromosoma X durante el envejecimiento, por lo que puede existir una probable pérdida del cromosoma X en sus células (Apéndice, Tabla 1). Es importante señalar, que se identificó el aumento significativo de cobertura en la etapa de viejo en dos tejidos tanto en cromosoma Y como en el X. En el caso del cromosoma Y fue el testículo ($P = 0.028$, Mann-Whitney U-test) y para el cromosoma X fue el pulmón ($P = 0.037$, Mann-Whitney U-test). Esto puede deberse al ruido de la técnica, por lo que se requieren réplicas técnicas para aclarar el patrón.

De igual manera que en el análisis general, se realizaron regresiones lineales simples por tejido para entender de mejor manera su dinámica durante el envejecimiento (Fig. 23) (Apéndice, Tabla 2). Se observaron tres tendencias importantes, la primera en donde la pendiente (m) tuvo un valor cercano a 0, siendo el pulmón y bazo los representantes. El siguiente grupo de tejidos fueron los que presentaron una pendiente (m) con valor negativo, como el cerebelo, corazón, músculo, hígado, riñón y sangre. Finalmente, el tercer grupo fueron el páncreas y testículo que presentaron una pendiente con valor positiva. Para el caso del cromosoma X, la mayoría de los tejidos tuvieron valores cercanos a 0 y sólo se observó que el hígado, riñón y sangre tuvieron una pendiente negativa, y del mismo modo, sólo el pulmón tuvo una pendiente positiva (Apéndice, Figura 1). Sin embargo, es importante señalar que estos valores fueron menores que los del cromosoma Y (Apéndice, Tabla 2).

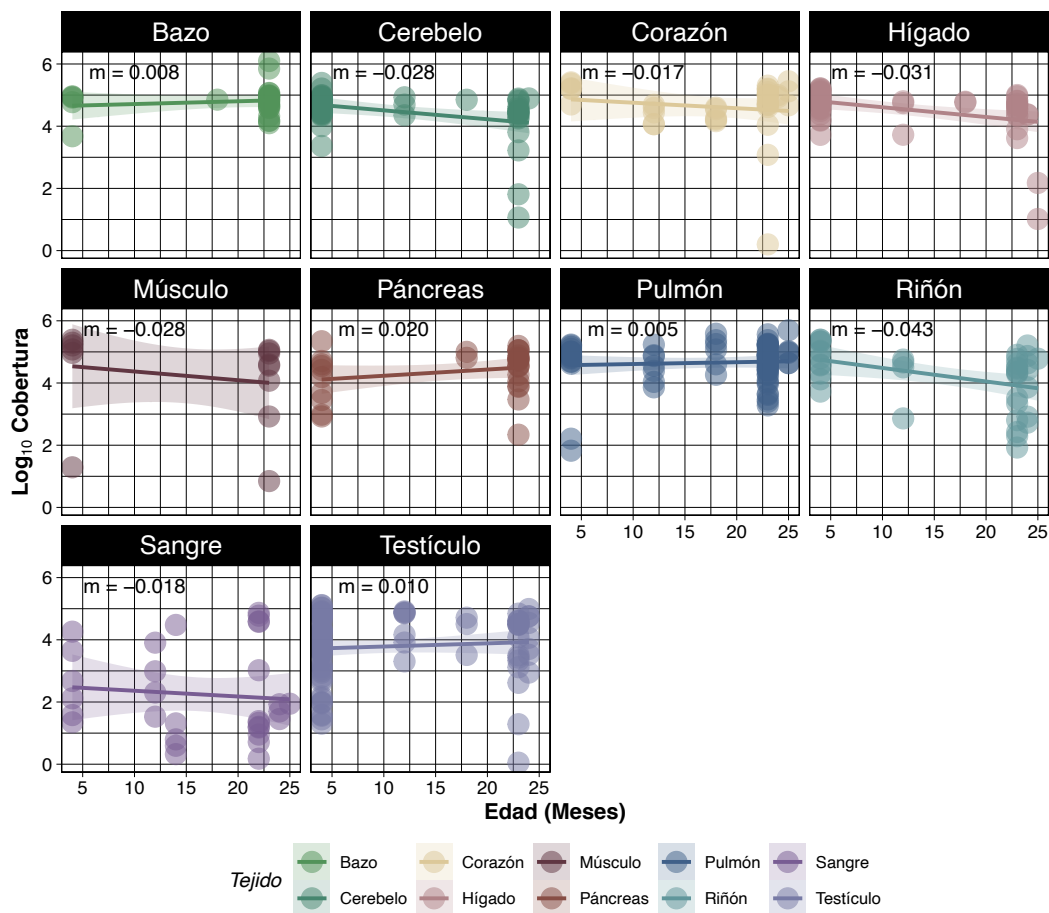


Figura 23. Gráfico de las regresiones lineales simples de la cobertura del cromosoma Y a lo largo del envejecimiento por tejido. Los puntos representan las muestras analizadas por cada tejido. El bazo y pulmón presentan valores de pendientes casi de 0 correspondiendo a su nula pérdida del cromosoma Y a diferencia del cerebelo, corazón, músculo, hígado, riñón y sangre que presentaron un valor de pendiente negativo correspondiente a la pérdida del cromosoma Y durante el envejecimiento. Sin embargo, únicamente fue significativa para el cerebelo, hígado y riñón ($P < 0.005$). Para el páncreas y testículo se obtuvo una pendiente positiva ($P > 0.05$).

Una vez que se observó que existe una gran variabilidad de tendencias en la disminución de cobertura durante el envejecimiento se realizó un análisis de correlación para determinar qué tanta dependencia existe entre el envejecimiento y la posible pérdida del cromosoma Y. De este modo, se determinó que los tejidos que presentan una correlación negativa significativa fueron el cerebelo, hígado, músculo y riñón ($P < 0.05$, Correlación de Spearman) (Tabla 2). Esto quiere decir que en estas las células existe una fuerte asociación entre la pérdida de su cromosoma Y y el envejecimiento, siendo el músculo y el hígado los tejidos donde esta relación es mayor.

Tejido	Rho (R)	P
Bazo	0.035	0.860
Cerebelo	-0.313	0.025
Corazón	0.104	0.551
Hígado	-0.448	0.001
Músculo	-0.537	0.047
Páncreas	-0.021	0.857
Pulmón	0.249	0.175
Riñón	-0.323	0.047
Sangre	-0.120	0.518
Testículo	0.131	0.200

Tabla 2. Valores de R del coeficiente de correlación de Spearman en relación de la cobertura del cromosoma Y y la edad.

Por último, para determinar y descartar falsos positivos tanto a nivel de disminución o aumento en la cobertura debido a algún tipo de error técnico, se utilizó la desviación estándar de la cobertura del cromosoma Y en etapa juvenil. Posteriormente, tomando como referencia la mediana de cobertura Y en etapa juvenil se estableció el rango normal de variabilidad mediante la adición de la suma y la resta de la desviación estándar a la mediana. Esto se realizó con los datos específicos para cada tejido. Por lo tanto, todos los valores de las muestras viejas que estuvieron dentro de rango se pueden considerar como un valor estándar de cobertura. De esta manera, se observó que varias de las muestras que presentaron un aumento en la cobertura entraron dentro del rango normal de variabilidad y de esta manera se descartó posibles eventos de ganancia de copias, siendo el bazo y testículo los únicos tejidos en presentar posibles

ganancias cromosomales (Fig. 24). Asimismo, se confirmó que dentro de todos tejidos existen muestras con disminución de cobertura. Para el caso de la piel, se modeló el rango de variabilidad usando la desviación estándar y mediana de todas muestras jóvenes, y de este modo, se denotó que en varias muestras disminuyó la cobertura del cromosoma Y, por lo que probablemente también las células epiteliales pierden este cromosoma.

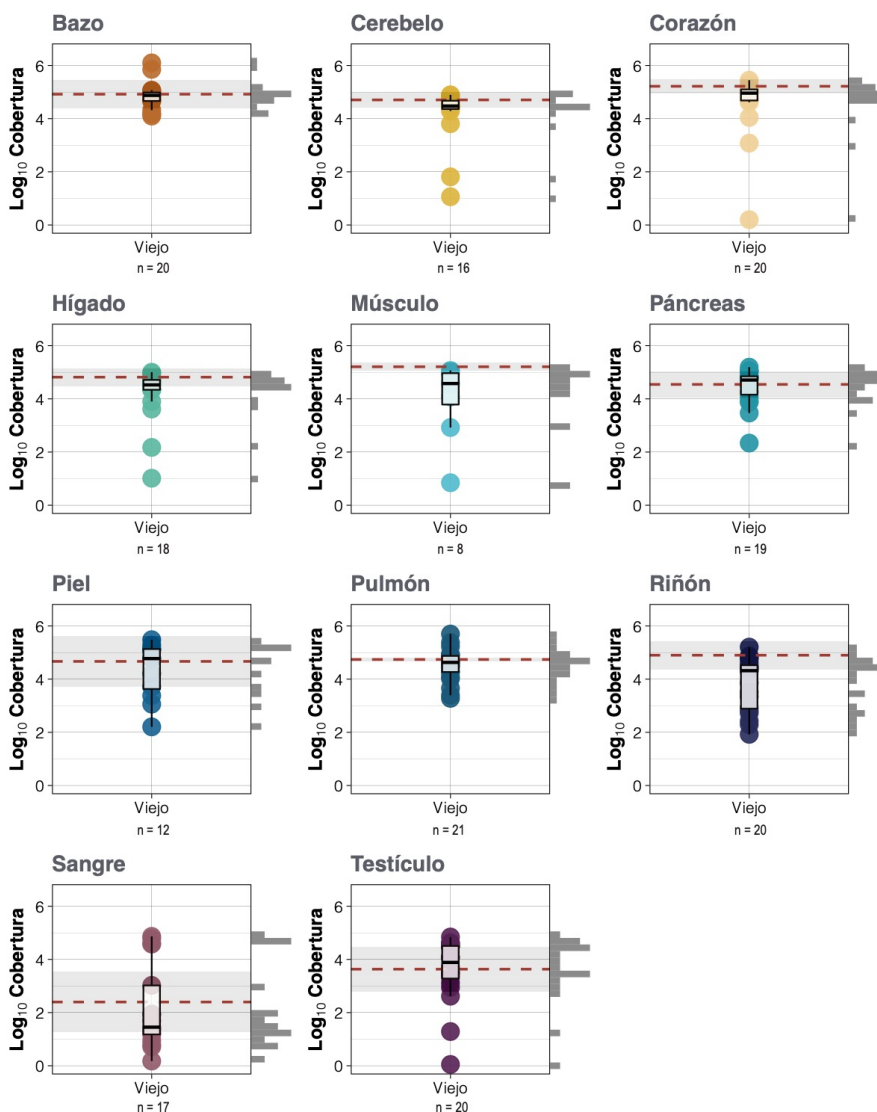


Figura 24. Gráfico de puntos en donde se observa la distribución de la cobertura del cromosoma Y de individuos viejos clasificados por tejido. El gráfico de caja representa la distribución del primer y tercer cuartil asimismo la mediana por tejido viejo. La línea roja punteada representa la mediana de la cobertura de muestras juveniles propios de cada tejido. La sombra gris representa el rango de variabilidad normal de los datos juveniles de cada tejido obtenido de la suma y resta de la desviación estándar a la mediana. El histograma de distribución se muestra en la parte derecha de cada gráfico. De esta manera, se determinó que todas muestras que entre en la sombra gris presentan un valor normal de cobertura y todas muestras que estén fuera del rango se puede considerar como posibles eventos de pérdida (por debajo de la sombra) y de ganancia (por arriba de la sombra).

Cabe destacar que para poder tener un mejor rango de variabilidad se debe tener una alta cantidad de muestras juveniles del tejido. Por está razón los tejidos como el músculo, páncreas, pulmón y sangre presentaron un rango menor que no denota una alta confiabilidad. A causa de lo anterior, se modeló el rango de variabilidad en estos cuatro tejidos de igual manera que en la piel, lo que permitió esclarecer de mejor manera los patrones de disminución de cobertura. Por ejemplo, en el caso de la sangre se observó que la mayor parte de las muestras de individuos viejos pierden su cromosoma Y, y del mismo modo, en el pulmón y páncreas se observó que la mayor parte de las muestras se distribuyen dentro del rango de variabilidad (Fig. 25).

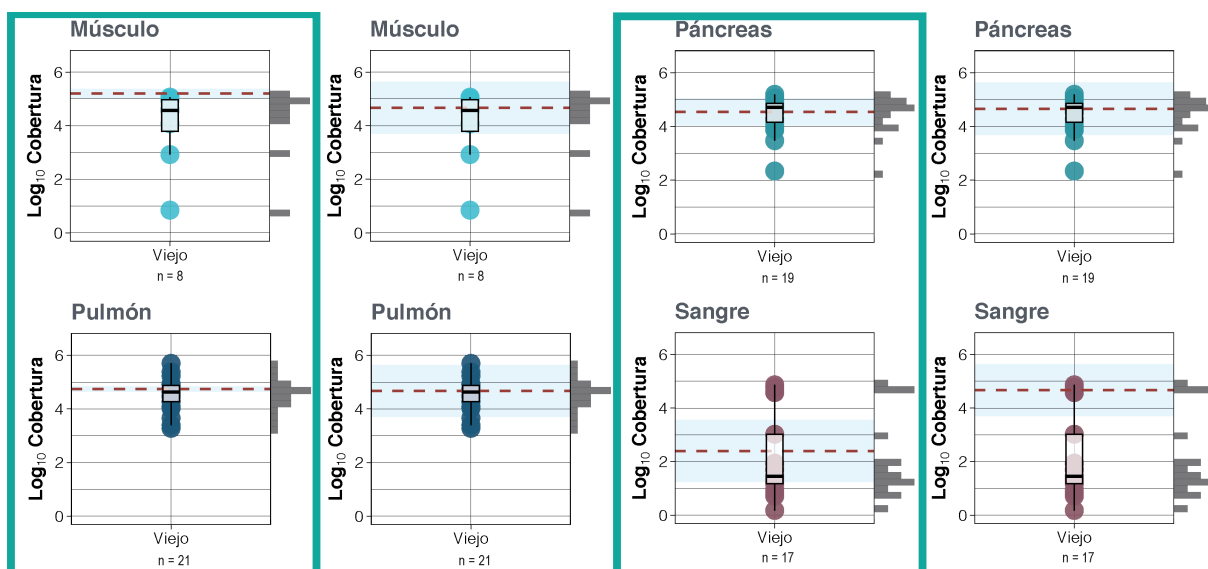


Figura 24. Gráfico de puntos en donde se observa la distribución de la cobertura del cromosoma Y de individuos viejos clasificados por tejido. El gráfico de caja representa la distribución del primer y tercer cuartil asimismo la mediana por tejido viejo. La línea roja punteada representa la mediana de la cobertura de muestras juveniles propios de cada tejido. La sombra gris representa el rango de variabilidad normal de los datos juveniles de cada tejido obtenido de la suma y resta de la desviación estándar a la mediana. El histograma de distribución se muestra en la parte derecha de cada gráfico. De esta manera, se determinó que todas muestras que entre en la sombra gris presentan un valor normal de cobertura y todas muestras que estén fuera del rango se puede considerar como posibles eventos de pérdida (por debajo de la sombra) y de ganancia (por arriba de la sombra).

6.5. La división celular favorece la pérdida del cromosoma Y

A fin de determinar la existencia de una relación entre la tasa de recambio celular y los niveles de pérdida del cromosoma Y, se comparó el nivel de mosaicismo de las muestras viejas de acuerdo a las cuatro categorías establecidas en la metodología. Sin embargo, es importante mencionar que para el caso de la piel y la sangre se modeló el nivel de mosaicismo tomado como referencia la mediana de todas las muestras de juveniles a causa de la ausencia de muestras juveniles para ambos tejidos. De esta forma, mediante la categorización de los tejidos no se

observaron diferencias significativas del nivel de mosaicismo con respecto a las cuatro categorías ($P = 0.637$, Kruskal-Wallis test) (Fig. 26). Esto quiere decir que el nivel de pérdida del cromosoma Y no depende directamente de la tasa de recambio celular. No obstante, a pesar de que no se observaron diferencias significativas para la tasa de recambio celular, sí se identificó que los tejidos con una tasa de recambio celular rápida presentan un mayor nivel de pérdida del cromosoma Y. Asimismo, es importante mencionar que todos los tejidos son propensos a perder el cromosoma Y a pesar de no presentar células en división (o replicativas).

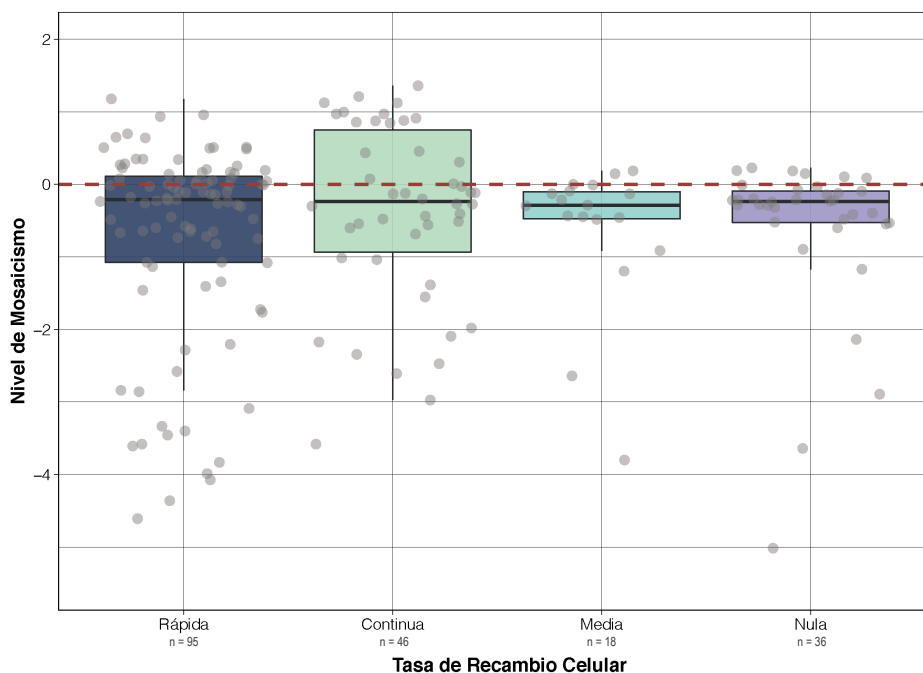


Figura 26. Gráfico de cajas que muestra el nivel de mosaicismo del cromosoma Y de acuerdo a las cuatro categorías de tasa de recambio celular. Los puntos grises representan cada una de las muestras en estado de viejo de los 11 tejidos analizados. La línea roja punteada significa un valor nulo de mosaicismo. Los valores negativos representan eventos de pérdida del cromosoma Y y valores positivos eventos de ganancia. No se observó diferencias significativas en nivel de mosaicismo con respecto a la tasa de recambio celular ($P = 0.637$, Kruskal-Wallis test).

Para dilucidar de manera más precisa se evaluó de manera cuantitativa la relación entre el nivel de mosaicismo y la tasa de división celular utilizando el modelo de $\text{lm}(\text{nivel_mosaicismo_Y} \sim \text{longevidad/número_divisiones})$. En el caso de longevidad, se utilizó los datos de longevidad de las distintas células formadoras de los 11 tejidos. Sin embargo, en algunos casos un mismo tejido presentaba diversas células con longevidad celular distintas por lo que se decidió añadir todos los datos de longevidad celular encontrados. Asimismo, para el

corazón y el cerebelo se modeló su posible longevidad celular extrapolando el porcentaje de longevidad de los datos del humano a la rata, utilizando la esperanza de vida promedio de ambos organismos. Por otro lado, para el evaluar el número de divisiones celulares a lo largo de la vida, se dividió la longevidad celular entre la esperanza de vida promedio de la rata.

De acuerdo al modelo establecido de regresión lineal con respecto a la longevidad celular se obtuvo una pendiente de 0.259 ($P = 0.275$) y para el caso de el número de divisiones a lo largo de la vida es valor de la pendiente fue -0.009 ($P = 0.037$). En ambos modelos se observó que las células con una longevidad corta y en consecuencia presentan un alto número de divisiones celulares sufren de altos niveles de pérdida del cromosoma Y. Sin embargo, no se encontró una correlación fuerte entre el nivel de mosaicismo y el número de divisiones celulares ($R = -0.135$, $P = 0.592$, Correlación de Spearman).

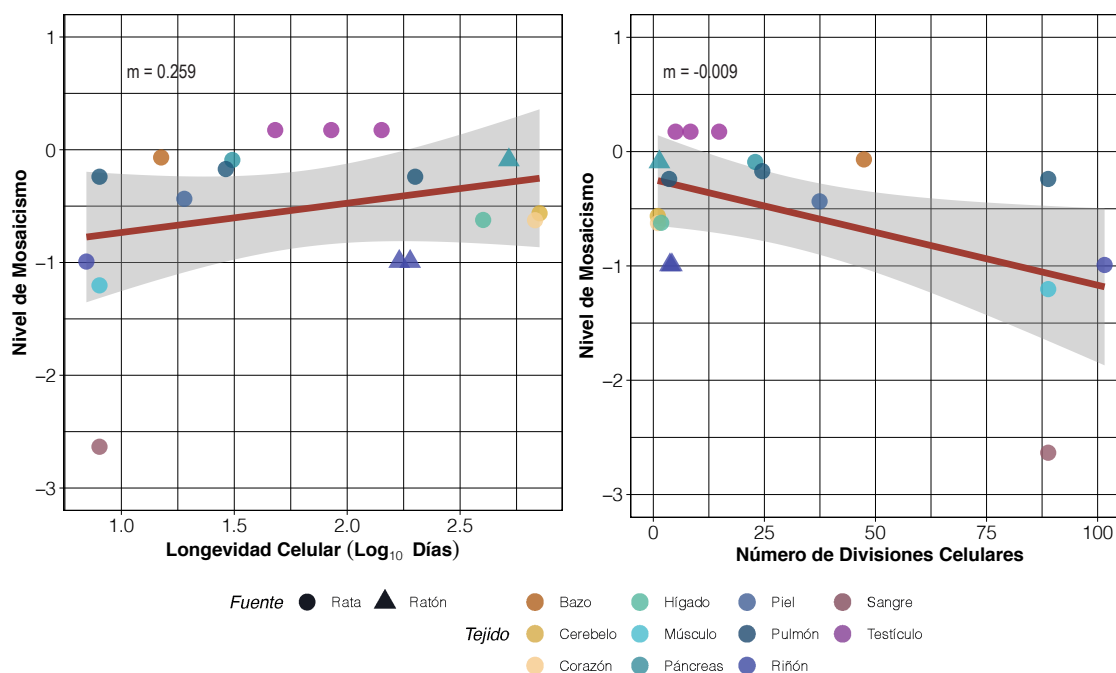


Figura 27. Gráfico de las regresiones lineales simples del nivel de mosaicismo del cromosoma Y en relación a la longevidad celular y número de divisiones celulares de las células formadoras de los 11 distintos tejidos. Para la longevidad celular se obtuvo una pendiente de 0.259 ($P = 0.275$) y en el caso del número de divisiones celulares un valor de -0.009 ($P = 0.037$). En ambos casos, se observó que las células con mayor divisiones y longevidad celular corta presentan altos niveles de pérdida del cromosoma Y.

La variabilidad celular dentro de un mismo tejido no permitió encontrar una asociación fuerte. Por lo que se evaluó la presencia de una relación entre el origen embrionario del tejido y el nivel de mosaicismo. No obstante, no se encontró una diferencia significativa entre las capas

embrionarias ($P = 0.164$, Kruskal-Wallis test) (Fig. 28A), y del mismo modo, evaluando las subcapas del mesodermo no se identificaron diferencias ($P = 0.164$, Kruskal-Wallis test) (Fig. 28B). Es decir, que no existe una predisposición embrionaria dentro de los tejidos analizados con respecto al nivel de pérdida del cromosoma Y.

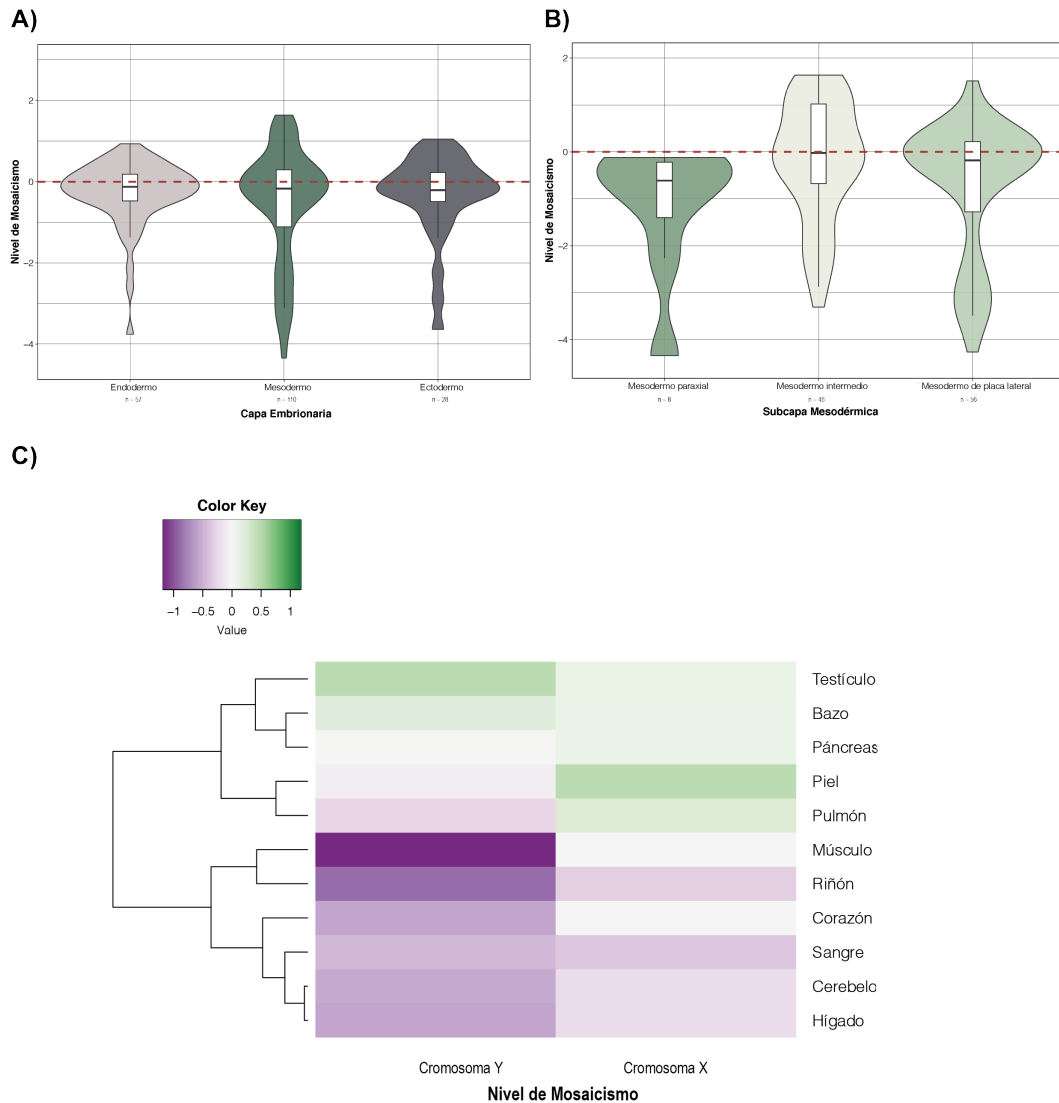


Figura 28. Dilucidando el nivel de mosaicismo del cromosoma Y. A) Gráfico de violín del nivel de mosaicismo del cromosoma Y de los 11 tejidos categorizados de acuerdo a su capa embrionaria de origen. No se observó diferencias significativas entre capa ($P = 0.164$, Kruskal-Wallis test). B) Gráfico de violín del nivel de mosaicismo del cromosoma Y con respecto a las tres subcapas del mesodermo. No se observó diferencias significativas entre subcapa ($P = 0.164$, Kruskal-Wallis test). C) Heatmap del nivel mosaicismo de ambos cromosomas sexuales de los 11 tejidos. Se identificó dos grupos principales, uno formado por los tejidos con alto nivel de pérdida (morado) de los cromosomas sexuales y otro formado por los tejidos con eventos de ganancia (verde).

Finalmente, tomando como referencia los niveles de mosaicismo tanto del cromosoma X como del Y, se identificó dos grupos principales (Fig. 28C). El primero formado por el bazo, páncreas, piel, pulmón y testículo, los cuales sufren de bajos niveles pérdida del cromosoma Y.

El segundo grupo conformado por cerebelo, corazón, hígado, músculo, riñón y sangre son tejidos que sufre niveles superiores de pérdida del cromosoma Y y también posibles pérdidas del cromosoma X.

6.6. La pérdida del cromosoma Y influye en el cromosoma X

En el caso de los tejidos en donde se observaron altos niveles de pérdida del cromosoma Y, como el cerebelo, hígado y riñón, se analizó si la pérdida de este cromosoma influye en el cromosoma X mediante la comparación de los niveles de mosaicismo de ambos cromosomas por individuo (Apéndice, Figura 2). De esta manera se identificó que en las muestras en donde existe alta pérdida del cromosoma Y también se pierde el cromosoma X (Fig. 29). Para evaluar la significancia de esta posible relación se realizó un análisis de correlación. Para el caso del cerebelo y riñón se encontró una correlación positiva > 0.70 entre los niveles de pérdida de los cromosomas sexuales ($P = < 0.05$, Correlación de Spearman). Asimismo, en el hígado también se identificó una correlación significativa, pero de menor valor ($R = 0.59$, $P = 0.017$, Correlación de Spearman). Esto quiere decir que para estos tres tejidos la pérdida del cromosoma Y intervine directamente en la susceptibilidad del cromosoma X: entre más alto sea el nivel de pérdida del cromosoma Y, mayor será la pérdida del cromosoma X. Por lo que parece existir una dependencia directa entre los niveles de mosaicismo de los dos cromosomas sexuales.

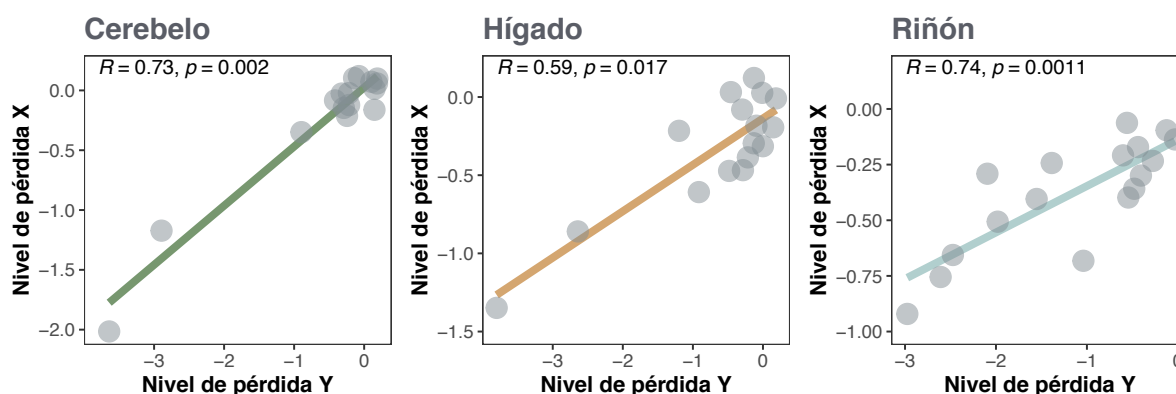


Figura 29. Gráfico de las regresiones lineales simples del nivel de mosaicismo del cromosoma Y en relación al nivel de mosaicismo del cromosoma X. Se identificó una correlación positiva altamente significativa entre el nivel de pérdida del cromosoma Y con respecto a la pérdida del cromosoma X en el cerebelo, hígado y riñón ($P = < 0.05$, Correlación de Spearman).

6.7. Pérdida multitisular del cromosoma Y a nivel de individuos

Se evaluó si dentro de un mismo individuo existe la posibilidad de perder el cromosoma Y en distintos tejidos mediante la comparación de los valores de referencia de la mediana de la cobertura juvenil por tejido con respecto a la cobertura de los tejidos perteneciente a la misma rata vieja. Lo anterior permitió identificar individuos en donde la pérdida del cromosoma Y sucede en más de un tejido como fueron las ratas 22, 23, 24, 25, 28, 30, 32, 38. Asimismo, también se identificaron ratas que no presentaron pérdida del cromosoma Y, como la rata 27, 31, 36 y 37. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas al comparar las coberturas de los tejidos y el nivel de mosaicismo en ratas viejas ($P > 0.05$, Friedman test) (Apéndice, Figura 4). No obstante, en algunos individuos sólo se secuenció cuatro o cinco tejidos por lo que existe alto grado de incertidumbre en los resultados obtenidos por la gran cantidad de datos ausentes.

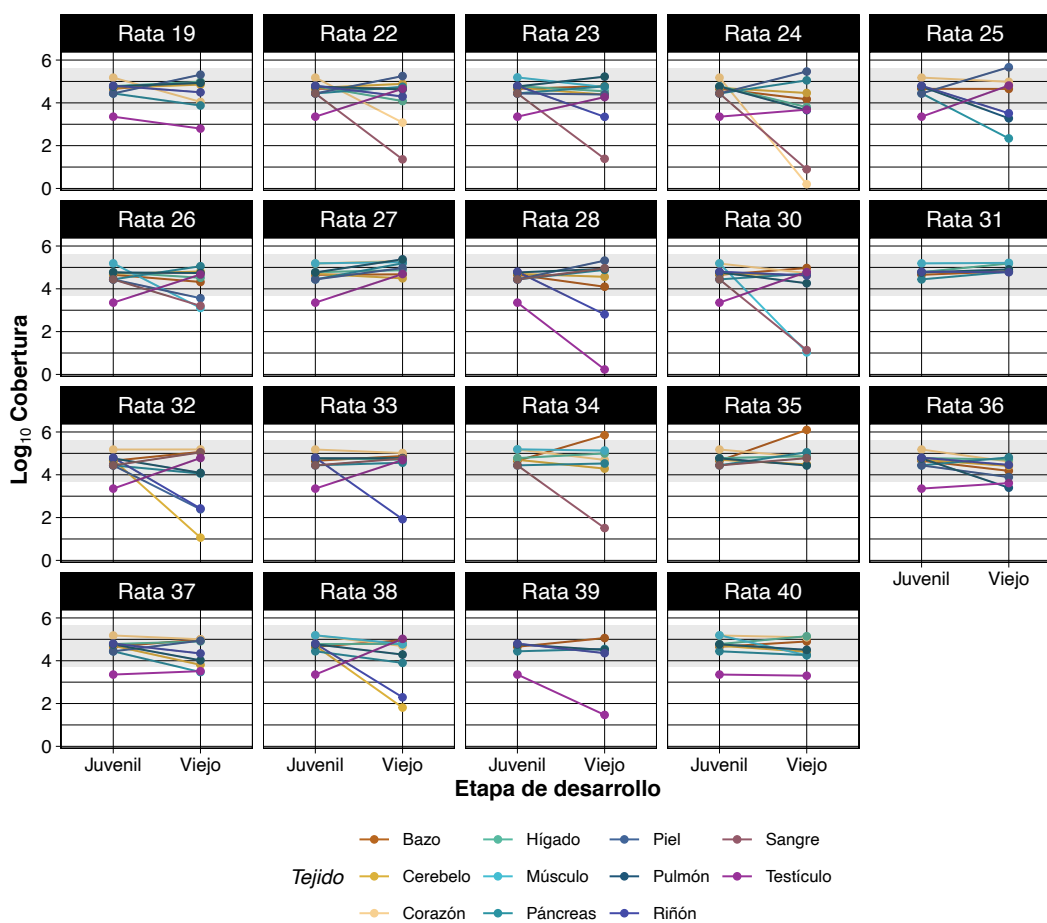


Figura 30. Esquema del análisis de cobertura multitisular durante el envejecimiento al nivel individual tomando como referencia la mediana de la cobertura en estado juvenil por tejido. La sombra gris representa el rango normal de variabilidad de la cobertura de todos los tejidos juveniles. Los valores por debajo del rango de variabilidad representan posibles eventos de pérdida del cromosoma Y.

7. Discusión

7.1. Pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento en rata

La pérdida mosaica del cromosoma Y es un fenómeno ampliamente corroborado en humanos desde hace décadas (Jacobs *et al.*, 1964). No obstante, el humano es una especie con una longevidad extendida, lo que podría ser un factor que propicie la acumulación de aberraciones cromosómicas con el paso del tiempo (Rozhok y DeGregori, 2016). De modo que, en el trabajo que aquí se presenta, se estableció que la pérdida del cromosoma Y sucede también en un mamífero de vida corta como lo es la rata. Por lo tanto, la pérdida del cromosoma Y es una aberración genómica que se ha mantenido alrededor de 96 MA en la evolución de los mamíferos, que es la edad del último ancestro común entre los roedores y primates (Nei *et al.*, 2001). Esto puede ser una consecuencia de que el cromosoma Y en todos los terios presente el mismo origen y comparta múltiples características (Cortez *et al.*, 2014), por ejemplo, todos los cromosomas Y de los mamíferos han sufrido un proceso de degeneración provocando su heterocromatización y la pérdida masiva de genes (Bachtrog *et al.*, 2011; Ponnikas *et al.*, 2018). Esto nos permite inferir que las especies de mamíferos que poseen el mismo sistema de cromosomas sexuales degenerados pueden presentar las mismas aberraciones genómicas.

La pérdida mosaica del cromosoma Y en la rata está influenciado directamente por el envejecimiento, como lo visto en las células nucleadas de la sangre periférica y de la mucosa bucal del humano (Pierre & Hoagland, 1972; Forsberg *et al.*, 2014; Dumanski *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016; Loftfiel *et al.*, 2018; Looftfiel *et al.*, 2019; Thompson *et al.*, 2019). En el caso de la rata, que es un organismo que puede vivir máximo entre 2.5 – 3 años, se observa una pérdida del cromosoma Y en algunas células a partir de una etapa juvenil y conforme aumenta la edad esta pérdida incrementa de forma lineal del mismo modo que Wright *et al.* (2017a) observó en humano. Wright mostró que los hombres empiezan a perder el cromosoma Y en un estado de adultez mayor (50 años) y esta pérdida sigue una tendencia lineal durante el envejecimiento. No obstante, recientemente se ha demostrado que la tendencia que adopta la pérdida del cromosoma Y depende directamente del número de individuos analizados (Looftfiel *et al.*, 2019; Thompson *et al.*, 2019). Dicho lo anterior, posiblemente se pueda dilucidar un patrón distinto a lo obtenido en este trabajo al aumentar el número de muestras de rata.

Por otro lado, el inicio prematuro de la probable pérdida del cromosoma Y observados en ratas de 4 meses se pueden deber a que la acumulación de mutaciones en organismos con esperanzas de vida corta es más rápida y de mayor magnitud (Crowley y Curtis, 1963). Esto se ha identificado en diversas especies de peces anuales, los cuales presentaron una alta carga mutacional deletérea a causa de una selección purificadora relajada que impacta la longevidad y el envejecimiento (Cui *et al.*, 2019). Asimismo, es importante mencionar que a pesar de que ambos cromosomas Y, el de la rata y el del humano, tienen el mismo origen, estos difieren en varios aspectos. Los roedores, por ejemplo, presentan un cromosoma Y largo, rico en genes y en eucromatina (Morgan y Pardo-Manuel, 2017), a diferencia del cromosoma del humano el cual es pequeño y altamente heterocromatizado (Charlesworth, 2003). No obstante, a pesar de que el cromosoma Y de los roedores es denso en genes; la mayoría son copias amplicónicas involucradas en la espermatogénesis y han retenido menos gametólogos ancestrales implicados en procesos regulatorios comparado con los primates (Bellot *et al.*, 2014; Cortez *et al.*, 2014). Lo mencionado antes es relevante, debido a que estos genes multicopias son una fuente principal de recombinación intra-cromosomal, que a su vez facilita el surgimiento de aberraciones estructurales que hacen más susceptible al cromosoma Y de perderse a nivel somático (Guo *et al.*, 2020). Esto podría ser una de las razones principales por las que la rata es más susceptible a perder este cromosoma.

Además, otro aspecto relevante es que el humano presenta dos regiones pseudoautosomales flanqueando a su cromosoma Y (Skaletsky *et al.*, 2003), mientras que los roedores sólo poseen una región pseudoautosomal pequeña (Soh *et al.*, 2014) que media la pérdida del cromosoma Y a nivel meiótico. Asimismo, esta región de los cromosomas sexuales juega un papel importante en la estabilización del genoma (Acquiva *et al.*, 2020). Por lo cual, posiblemente, la región pseudoautosomal pueda cumplir un rol a nivel mitótico (Blackmon y Demuth, 2015).

Las bastas diferencias entre linajes mamíferos posiblemente expliquen la temprana y severa pérdida del cromosoma Y en la rata. Más aún, recientemente se ha determinado que los cromosomas Y largos presentan efectos más adversos en la longevidad de las especies (Sultanova *et al.*, 2020). Sin embargo, en la rata este patrón aún no se ha validado ya que el cromosoma Y todavía no ha sido secuenciado por completo (Prokop *et al.*, 2013).

7.2. La medición de la cobertura como nuevo método

El método establecido en este trabajo para evaluar el mosaicismo del cromosoma Y permite obtener los valores de cobertura de este cromosoma utilizando un marcador específico y, además, emplea valores de cobertura de un cromosoma autosomal para normalizar los valores de los cromosomas sexuales para evitar algún tipo de sesgo, puesto que se ha observado que los cromosomas autosomales presentan un número de copias más estable a lo largo de tiempo (Machiela *et al.*, 2017a). De esta forma, comparando el porcentaje de cobertura a lo largo de tiempo y midiendo su disminución pude detectar el nivel de mosaicismo en diferentes tipos celulares. A diferencia de otros métodos utilizados para cuantificar los niveles de mosaicismo en humanos, como son los arreglos de SNPs y WGS (Laurie *et al.*, 2012; Forsberg *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016; Wright *et al.*, 2017; Zink *et al.*, 2017; Loftfield *et al.*, 2018; Terao *et al.*, 2019), la medición de amplicones no permite cuantificar el número de células afectadas por esta aberración genómica debido a que los oligonucleótidos pueden tener tasas de afinidad ligeramente distintas. A su vez, Knouse *et al.* (2014) y McConnell *et al.* (2017) señalan que para evaluar mutaciones clonales y aberraciones cromosómicas en diferentes tejidos los métodos que utilizan las tecnologías de secuenciación masiva presentan un menor grado de subestimación y de error a comparación de las técnicas celulares, como es el caso de la hibridación fluorescente in situ (FISH). Por consiguiente, el método utilizado presenta una mayor ventaja en comparación con las técnicas clásicas celulares, con un menor grado de error y de falsos positivos.

A pesar de que la secuenciación masiva permite tener una mejor medida de estas mutaciones clonales, McConnel *et al.* (2017) y Danielsson *et al.* (2019) indican que para poder detectarlas es necesario tener una cobertura alta ($\geq 30X$) debido a la baja frecuencia de estas aberraciones clonales en las células afectadas. En consecuencia, se utilizó una cobertura promedio superior a los 100,000X para los tres loci y de esta manera, se obtuvieron valores de pérdida de los cromosomas muy sensibles.

Otro punto importante es la elección del gen ligado al cromosoma Y como marcador, en este caso se utilizó el gen *Eif2s3X/Y*; el cual es un factor de iniciación de la traducción. Este gen es muy importante para el desarrollo masculino, ya que es un factor primordial en la espermatogénesis de los roedores (Mayzerat *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2019); pudiendo remplazar la función sexual del cromosoma Y en conjunto con *Sry* (Yamauchi *et al.*, 2016). No obstante, se ha demostrado que también juega un papel importante en el mantenimiento de la

pluripotencialidad y en el control de la proliferación de células madre embrionarias (Li *et al.*, 2016). Asimismo, tanto su transcrito como su proteína son expresados en niveles elevados en tejidos somáticos ya que desempeña un papel fundamental en la regulación de la iniciación de la traducción de múltiples RNA mensajeros (Soh *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2020). Además, como indican Hughes *et al.* (2015), Martínez-Pacheco *et al.* (2020) y este trabajo, *Eif2s3Y* presenta solo una copia génica y no exhibe retrocopias en otra región del genoma. De este modo, se puede intuir que este gen es relevante para el funcionamiento celular al nivel somático y gamético por lo que debe de sufrir pocas o nulas microdeleciones. En consecuencia, los valores obtenidos de cobertura del gen *Eif2s3Y* son una buena aproximación del número de copias del cromosoma Y.

Sin embargo, los resultados obtenidos pueden deberse a tres posibles escenarios. En el primero, la pérdida cuantificada puede deberse a disminución en la variación en el número de copias del gen *Eif2s3Y*. Este fenómeno se ha descrito ampliamente en el humano, siendo el envejecimiento un factor modulador primordial (Bruder *et al.*, 2008; Kuningas *et al.*, 2011). Empero, se desconoce como afecta esta variación a los genes ligados al cromosoma Y, únicamente se ha descrito para el gen *TSPY* en el toro. En este caso, se determinó que el 64% de los individuos no presentan cambios significativos en el número de copias y sólo el 20% sufre de un decremento durante el envejecimiento (Oluwole *et al.*, 2017). Cabe señalar, que el gen *TSPY* es muy variable y presentan varias copias amplicónicas por lo que es muy difícil de dilucidar un patrón general (Halmiton *et al.*, 2009). El segundo posible escenario sería la pérdida de un fragmento de gran tamaño del cromosoma Y, en dónde se localice *Eif2s3Y* y que esta pérdida sea común a muchos individuos. En el humano se ha observado que este patrón es frecuente, ya que es más común perder fragmentos que un cromosoma entero durante el envejecimiento, sin embargo, esto se ha descrito principalmente en autosomas que son mucho más grandes que el cromosoma Y (Machiela *et al.*, 2015). Finalmente, el tercer escenario sería la pérdida total del cromosoma Y, el cual ha sido observado ampliamente (Forsberg *et al.*, 2014; Dumanski *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016; Loftfiel *et al.*, 2018; Looftfiel *et al.*, 2019). De este modo, nuestros resultados apuntan a que la rata sufre de pérdida mosaica del cromosoma Y durante el envejecimiento.

7.3. Entendiendo la pérdida mosaica del cromosoma Y en diferentes tejidos

La pérdida del mosaico del cromosoma Y es un fenómeno que ocurre en distintas células de diversos tejidos en humano, por ejemplo, en sangre periférica (Jacobs *et al.*, 1964; Forsberg *et al.*, 2014; Dumanski *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2016; Wright *et al.*, 2017a; Loftfiel *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2018; Dannielson *et al.*, 2019; Dumanski *et al.*, 2019; Looftfiel *et al.*, 2019; Terao *et al.*, 2019; Thompson *et al.*, 2019), médula ósea (Pierre & Hoagland, 1972), corteza neofrontal (Kimura *et al.*, 2018; Graham *et al.*, 2019), cerebelo (Graham *et al.*, 2019), mucosa bucal (Zhou *et al.*, 2016; Machiela *et al.*, 2017b; Forsberg *et al.*, 2019), piel (Tang *et al.*, 2020) y así mismo, es una aberración muy común en distintas células cancerosas (Wallrapp *et al.*, 2001; Minner *et al.*, 2010; Arseneult *et al.*, 2017; Hollow *et al.*, 2018; Sarungbam *et al.*, 2019). Sin embargo, los niveles de mosaicismo cambian drásticamente entre las diferentes células. De esta manera, las células madre hematopoyéticas presentan una tasa mayor de pérdida del cromosoma Y con respecto a las de cerebelo (Graham *et al.*, 2019). Una posible explicación que se ha dado a esta rotunda diferencia es que la tasa de división celular influye directamente en la pérdida del cromosoma Y (Pierre & Hoagland, 1972; Machiela y Chanock, 2017). Asimismo, diversos autores han establecido que existe una mayor acumulación de mutaciones somáticas en tejidos con una mayor tasa de recambio celular (Martincorena y Campbell, 2015; Martincorena *et al.*, 2018; Martincorena, 2019; Yizhak *et al.*, 2019). No obstante, este patrón anteriormente mencionado de acumulación ha sido observado principalmente en la sustitución de nucleótidos (Tomasetti y Volgestein, 2017; Blokzijl *et al.*, 2016; Tomasetti *et al.*, 2017; Lodato *et al.*, 2018; García-Nieto *et al.*, 2019; Yizhak *et al.*, 2019), y en caso de aneuploidías, se identificó un patrón contrario. Sin embargo, estos eventos de aneuploidías fueron principalmente ganancias y afectaron a los cromosomas autosomales (Baker *et al.*, 2013; Pfau *et al.*, 2016).

De este modo, los resultados de este trabajo mostraron que los tejidos con una tasa de recambio celular alto están mayormente enriquecidos por eventos de pérdida del cromosoma Y, siguiendo un patrón similar a lo observado en mutaciones neutrales de nucleótidos (Baker *et al.*, 2013; Pfau *et al.*, 2016; Martincorena *et al.*, 2018; Yizhak *et al.*, 2019). Sin embargo, el corazón y el cerebelo órganos con una disminución de cobertura estadísticamente significativa, dando a entender que tejidos con una nula tasa de recambio celular sufren de niveles de mosaicismo detectables a diferencia de órganos como el bazo y el páncreas; los cuales presentan tasas altas de recambio celular y nulos eventos de pérdida del cromosoma Y. Por lo cual, la influencia de

la tasa de división celular a la pérdida del cromosoma Y no es tan alta como se había pensado en el humano, resultados basados en la comparación de dos líneas celulares con tasas de división celular muy distintas (células sanguíneas y neuronas), creando así un sesgo en el patrón de pérdida (Pierre y Hoagland, 1972; Graham *et al.*, 2019). En nuestro caso, al comparar 11 órganos se obtiene una visión más completa. Esto permite validar lo mencionado por Guo *et al.* (2020) donde se explica que la pérdida del cromosoma Y debe de considerarse como un evento mutacional único ya que sigue un patrón tejido-específico diferente a lo ya identificado en autosomas y en los distintos tipos de mutaciones somáticas durante el envejecimiento.

A pesar de que no se encontró un efecto estadístico asociado a la tasa de recambio celular, probablemente este resultado pueda deberse al método utilizado. En el humano se ha demostrado que dentro de un mismo tejido existen células con distintas longevidades. Un claro ejemplo es el pulmón; en el cual el músculo pulmonar tiene una longevidad celular de 200 días mientras los alveolocitos de 8 días (Seim *et al.*, 2016; Castillo-Morales *et al.*, 2019). Esta gran diferencia mencionada puede generar mucho ruido estadístico y no mostrar un patrón específico, puesto que en este trabajo se utilizó DNA del tejido completo (bulk DNA). Tal vez una alternativa para confirmar los resultados sería mediante la secuenciación de células únicas (Enge *et al.*, 2017; Lobato *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019). Recientemente se ha demostrado mediante esta técnica que no todas las células de un tejido sufren de pérdida del cromosoma Y. Por ejemplo, los linfocitos T y las células Natural Killer presentan niveles muy bajos de pérdida del cromosoma Y, mientras que los granulocitos, monocitos y los linfocitos B sufren de altos niveles de mosaicismo Y (Dumanski *et al.*, 2020). Aunado a esto, en el ratón se ha encontrado que durante el envejecimiento ciertas mutaciones se expanden por todo el órgano como en poblaciones celulares específicas (Schaum *et al.*, 2020). Por ende, se necesita de un estudio más preciso para poder caracterizar la pérdida del cromosoma Y en distintos tipos celulares.

Al respecto de los órganos de músculo, piel y sangre los altos niveles de mosaicismo, posiblemente sean consecuencia de las elevadas tasas de división celular que facilitan la expansión clonal de las células sin cromosoma Y (Machiela y Chanock, 2017; Forsberg *et al.*, 2017). Para este caso, se piensa que las células aberrantes presentan una mayor adecuación, la cual les da esta ventaja proliferativa en comparación con las células normales (Jaisal y Elbert, 2019; Martincorena, 2019); una mayor competencia espacio-temporal sobre la células vecinas (Baker, 2020; Colom *et al.*, 2020). En el caso específico del cromosoma Y en humano, el gen

autosomal *TCL1A*, que aumenta su expresión cuando el cromosoma Y se pierde, puede proveerles esta ventaja a las células (Thompson *et al.*, 2019). Sin embargo, el mecanismo mencionado anteriormente solo podría cumplirse en tejidos con células madres adultas o con otros mecanismos de división celular como sucede en el páncreas. En el cerebelo y el corazón la pérdida del cromosoma Y observada debe surgir de forma diferente debido a su nula capacidad replicativa. De este modo, se ha identificado que las roturas de doble hebra de DNA son puntos de origen que propician eventos mosaicos (Machiela *et al.*, 2017b) y aunado a esto, se ha demostrado que las células neuronales y cardíacas sufren de altos niveles de rupturas (Madabhushi *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2016; Higo *et al.*, 2017). De este modo, existe una alta posibilidad de que las roturas de doble hebra del DNA medien la pérdida del cromosoma Y en células longevas a causa de la alta fragilidad de este cromosoma por su naturaleza heterocromática y degenerada (Ly *et al.*, 2016; Ly *et al.*, 2019).

Al mismo tiempo, la relación entre la división celular y los telómeros seguramente juega un rol en la pérdida del cromosoma Y (Guo *et al.*, 2020), debido a que se ha establecido en humano que la longitud de esta región en tándem varía de acuerdo al tejido. Por ejemplo, las células sanguíneas, estomacales y del hipocampo poseen una longitud relativa corta a comparación del testículo y músculo (Demanelis *et al.*, 2020). Asimismo, también se ha determinado que el acortamiento de los telómeros durante el envejecimiento sucede en todos los tejidos y afecta mayormente a los hombres (Dianali *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2020c; Demanelis *et al.*, 2020). Así pues, mediante el uso de datos de humano se pudo encontrar una asociación alta entre la longitud relativa de los telómeros por tejido y el nivel de mosaicismo (Anexo, Tabla 4; Apéndice, Figura 4). No obstante, es necesario medir el acortamiento específico del cromosoma Y y los valores relativos a los distintos tejidos de la rata para poder confirmar una posible asociación.

No obstante, durante el envejecimiento de los roedores se ha observado una acumulación de células sanguíneas mediante la filtración en ciertos órganos a causa de un estado inflamatorio crónico asociado al declive del sistema inmune (Sanada *et al.*, 2018; Almanzar *et al.*, 2020; Schaum *et al.*, 2020). En el caso específico de la rata, el riñón y el hígado son los órganos con mayor acumulación de células sanguíneas, principalmente de linfocitos B (Ma *et al.*, 2020). De modo que existe la posibilidad que los altos valores de pérdida del cromosoma Y obtenidos en

el cerebelo, hígado y riñón sean el reflejo de esta acumulación de células sanguíneas y de la deficiencia del sistema inmune que permite la expansión clonal.

Finalmente, se mostró que la pérdida del cromosoma Y en la rata no se debe a una predisposición embrionaria (Piotrowski *et al.*, 2008). En consecuencia, la pérdida del cromosoma Y en los distintos tejidos provoca cambios fenotípicos favoreciendo el decaimiento funcional del órgano a causa de una alteración en las densidades celulares como se ha visto en la sangre de individuos mosaicos en humanos (Sho-Hong *et al.*, 2020) y a una extrema baja regulación del cromosoma Y que favorece el surgimiento de cáncer u otras enfermedades (Cáceres *et al.*, 2020a; Cáceres *et al.*, 2020b).

7.4. Paisaje genómico de la pérdida del cromosoma Y

La pérdida del cromosoma Y se ha asociado con distintas enfermedades en el humano, por lo que los altos niveles de pérdida observados en la rata tengan efectos pleiotrópicos, como los vistos en mutaciones somáticas (Munro *et al.*, 2014), favoreciendo el ruido transcripcional (Vijg y Dong, 2020) y de esta manera afectando las redes de regulación (Grassmann *et al.*, 2020), así como la funcionalidad de las células inmunes (Thompson *et al.*, 2019). Por lo tanto, esta aberración cromosómica posiblemente presente distintas causas-consecuencias de acuerdo al tejido.

En el caso específico del cerebelo, los niveles de aneuploidías del cromosoma Y concuerdan con lo visto en cerebelo de origen humano y de ratón (Faggioli *et al.*, 2012; Graham *et al.*, 2019). Pero a diferencia de lo visto en humano, en donde los niveles de pérdida se mantienen estables desde las primeras etapas de desarrollo a la adultez, los resultados en la rata muestran un aumento significativo en la disminución en el número de copias del cromosoma Y en edades adultas de la rata. Una posibilidad es que en el cerebelo de la rata quizás exista una diversidad de células distintas al humano ya que recientemente se ha descubierto que una baja densidad de células gliales es capaz de renovarse y por ende podrían influir en los niveles de mosaicismo (McConnell *et al.*, 2017; Graham *et al.*, 2019), o simplemente los otros tipos de neuronas en el cerebelo tienen una mayor incidencia de esta pérdida durante el envejecimiento en la rata en comparación con el humano. Aunado a esto, se sabe muy poco sobre las afectaciones que tiene la pérdida del cromosoma Y en las neuronas (Kimura *et al.*, 2018). Sin embargo, Graham *et al.* (2019) observaron que la pérdida mosaica del cromosoma Y en la

corteza neofrontal influyen en la manifestación clínica de la enfermedad de Alzheimer y en la neurodegeneración. De esta manera, encontraron que las aneuploidías en las neuronas están involucradas en diferentes neuropatologías y en decaimiento neurológico (Chen *et al.*, 2012; McConnell *et al.*, 2017).

Con respecto al corazón, los niveles de mosaicismo del cromosoma Y puede ser influenciados por la muy baja tasa de renovación celular (Bergmann *et al.*, 2019). Debido a que se ha descubierto en humanos y ratones adultos que el corazón puede renovar <1% de los cardiomiocitos, pero esta renovación celular es muy baja para poder explicar los niveles significativos de mosaicismo obtenidos (Walsh *et al.*, 2010; Bergmann *et al.*, 2015). Sin embargo, es importante mencionar que existe una gran variabilidad y heterogeneidad de los tipos celulares entre las distintas regiones del corazón (Litviňuková *et al.*, 2020) y se ha demostrado también que las mutaciones somáticas en este tejido influyen en enfermedades cardiovasculares. Aunado a esto, se ha identificado en el humano que ciertos genes ligados al cromosoma Y se expresan diferencialmente tanto a nivel transcripcional como traduccional mediando posiblemente las diferencias sexuales en este tejido (Godfrey *et al.*, 2020). De este modo, la pérdida del cromosoma Y en el corazón de ratas machos probablemente esté asociado con un declive funcional y a una mayor susceptibilidad a enfermedades cardiovasculares.

Por otro lado, en el hígado se ha demostrado que los hepatocitos diferenciados presentan mayor nivel de cambios de nucleótidos que sus células madre adultas (Brazhnik *et al.*, 2020). Cabe la posibilidad que este patrón, contrario a lo observado en la sangre, se deba a que las células madre adultas del hígado se dividen muy lentamente o solo cuando presentan algún tipo de daño celular (Jaiswal y Elbert, 2019). En consecuencia, probablemente los hepatocitos sean las células más afectadas por la pérdida del cromosoma Y. Además, como se ha observado en los otros tejidos, este aumento de células mosaicas durante el envejecimiento conlleva a una mayor susceptibilidad a enfermedades. En humanos se ha demostrado que está asociado con la cirrosis (Brunner *et al.*, 2020).

Para el músculo, es importante mencionar que, a diferencia del humano, en la rata este tejido presenta un recambio celular más acelerado (Schmalbruch y Lewis, 2000) y, en consecuencia, muestra un declive funcional durante el envejecimiento, como se ha demostrado en sus células madre en ratón (Tierney *et al.*, 2018; Kimmel *et al.*, 2020). Por lo tanto, la pérdida del cromosoma Y en este tejido puede deberse a este declive que sufren sus células madre por

el constante recambio celular. No obstante, en estos tres tejidos mencionados anteriormente (corazón, hígado y músculo) una gran cantidad de sus células son poliploides o binucleadas y esta poliploidización se ha visto que aumenta durante el envejecimiento (Bergmann *et al.*, 2015; Gan *et al.*, 2019) y, aunado a esto, se ha visto que este fenómeno de poliploidización favorece a las células amortiguando los efectos de las mutaciones somáticas (Zhan *et al.*, 2018). De este modo, cabe la posibilidad que en estos tejidos la pérdida del cromosoma Y presente afectaciones menores haciéndolas más tolerables a esta aberración cromosomal.

En relación al riñón, la rata presentó niveles elevados de pérdida del cromosoma Y y en el caso del humano únicamente se había identificado eventos mosaicos en células cancerosas renales (Dagher *et al.*, 2013; Sarungbam *et al.*, 2019). Sorprendentemente, el riñón en la rata presenta una tasa de división celular no muy alta y además los podocitos, que son las células formadoras de los glomérulos que su función principal es la filtración, poseen una renovación celular baja (Liao *et al.*, 2020). Sin embargo, son de las células que sufren mayor tasa de daño al DNA y de mutaciones en este órgano durante el envejecimiento del humano (Humphreys, 2013; Thomasova y Anders, 2015; Rowlan *et al.*, 2019). No obstante, también existen dentro del riñón cierta cantidad células con altos niveles de división celular como las células endoteliales capilares glomerulares y peritubulares (Nadasdi *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1996), pero como sucede en otros tejidos, la densidad de estas células divisoras es muy baja y probablemente no influyan fuertemente en los altos niveles de pérdida del cromosoma Y en el riñón. No obstante, se ha observado que las células dendríticas β renales son renovadas cada siete días en el riñón de la rata (Leszczynski *et al.*, 1985) por la que posiblemente estas células del sistema inmune que protege a los podocitos de patógenos influyan en los niveles de pérdida del cromosoma Y (John y Nelson, 2007; Rogers *et al.*, 2014).

Por lo que se refiere a la importancia del cromosoma Y en el riñón es poco conocido debido a que ha sido ignorado en estudios de asociación genómica a enfermedades relacionadas al riñón (McArthur *et al.*, 2017; Aderson *et al.*, 2019; Laskar *et al.*, 2019). A pesar de ello, se ha observado que muchas enfermedades presentan un dimorfismo sexual y puede que los cromosomas sexuales jueguen un papel importante (Gilks *et al.*, 2017; Tukiainen *et al.*, 2017). En el caso de la enfermedad renal crónica existe un desarrollo rápido y una mortalidad temprana en hombres y se ha especulado que el cromosoma Y juega un papel importante (Aderson *et al.*,

2019). Del mismo modo, se ha observado que los hombres son los más afectados por carcinoma de células renales que las mujeres (Scelo *et al.*, 2017).

En el caso de la piel y la sangre, donde sus niveles de mosaicismo del cromosoma Y fueron obtenidos a partir de una modelación, nos da una visión de su posible estado. Para ambos tejidos, lo más probable es que los altos niveles de pérdida se deban a que sus tasas de recambio celular son muy rápidas, lo que propicia la expansión clonal (Terao *et al.*, 2019; Tang *et al.*, 2020). Sin embargo, en la piel se ha visto que los rayos UV favorecen a las mutaciones somáticas, pero para los resultados obtenidos se descartó esta posibilidad ya que los individuos no tuvieron contacto directo con el sol durante toda su vida. Lo más interesante es que de cierta manera se puede confirmar que los altos niveles de pérdida del cromosoma Y en la sangre sea un reflejo de un declive general en los demás tejidos. Un claro ejemplo es lo mencionado por Terao *et al.* (2019): la pérdida mosaica del cromosoma Y en sangre se correlacionaba con el aspartato transaminasa por lo que se pensó que el hígado también sufría de pérdida. Asimismo, la pérdida del cromosoma Y en las células sanguíneas afecta su funcionalidad y de este modo probablemente la inmunovigilancia se ve afectada dentro de los tejidos, permitiendo la sobrevivencia de células aberrantes y su expansión (Forsberg *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2020; Krausgruber *et al.*, 2020) ya que son las células del sistema inmune quienes eliminan primordialmente a las células con alteraciones cariotípicas (Santaguida *et al.*, 2017).

Finalmente, algo muy relevante que debe ser considerado es que dentro estos 11 tejidos el paisaje epigenómico varía enormemente debido a que este proceso mantiene la identidad celular (Goldberg *et al.*, 2007; Han y Yoon, 2012; Kimmel *et al.*, 2019; Kim-Hellmuth *et al.*, 2020). Por lo tanto, los cambios epigenéticos deben de influir fuertemente en las diferencias del nivel de pérdida del cromosoma Y entre los tejidos. Esto debido a que se ha demostrado que ciertos loci favorecen la expansión clonal y predisponen genéticamente a células a perder el cromosoma Y. Si estos loci se encuentran silenciados en una línea celular específica, el nivel de mosaicismo del cromosoma Y puede ser menor (Wright *et al.*, 2017; Terao *et al.*, 2019; Lund *et al.*, 2019; Thompson *et al.*, 2019).

7.5. Las células germinales no sufren de pérdida del cromosoma Y

El testículo es un órgano que está compuesto por las células germinales y sus progenitoras y generalmente posee altos niveles de división celular. Sin embargo, no presentan pérdida del

cromosoma Y. Esto probablemente se deba a que perder el cromosoma Y en las espermatidas y espermatozoides provoque una disminución en la adecuación masculina debido a que la mayor parte de los genes en este cromosoma cumplen funciones importantes en la espermatogénesis y en la determinación del sexo (Ma *et al.*, 2000; Mazeyat *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2019; Cawthon *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020), así como pudieran presentar alteraciones en su movilidad y son menos aptos para la competencia espermáticas (Rathje *et al.*, 2019). Además, posiblemente tengan efectos letales ya que muchos de los genes ligados al cromosoma Y cumplen diversas funciones en el desarrollo embrionario (Beach *et al.*, 2017; Meyfour *et al.*, 2017a; Meyfour *et al.*, 2017b; Meyfour *et al.*, 2019). De tal manera, posiblemente los espermatozoides que pierden el cromosoma Y son eliminados por mecanismos de protección de los tejidos (Xia *et al.*, 2020).

Por otro lado, el aumento de cobertura durante el envejecimiento se puede deber a un error metodológico al momento de la disección del tejido a causa de que los testículos presentan regiones en donde existen tanto células diploides como haploides (Lukassen *et al.*, 2018; Shami *et al.*, 2020), por lo que al momento de amplificar y secuenciar esta variación de ploidía se pudo ver reflejada.

7.6. La pérdida del cromosoma Y favorece a perder el cromosoma X

Como se observó en los tres tejidos más afectados (cerebelo, hígado y riñón) existe una correlación entre los niveles de mosaicismo del cromosoma Y y los del cromosoma X. Esto quiere decir que perder el cromosoma Y favorece la pérdida del cromosoma X (Machiela *et al.*, 2016). Lo anterior se podría explicar porque el cromosoma Y mantiene interacciones con el cromosoma X (Ezaz *et al.*, 2016). Una posibilidad es que, durante eventos de recombinación mitótica, al no presentar un homólogo con quien recombinar el X se pueda perder (Machiela *et al.*, 2017c). Otra posibilidad, es que durante la segregación de los cromosomas en la anafase, las células que no poseen el cromosoma Y puedan rezagarse y como consecuencia se pierde el cromosoma X (Kops *et al.*, 2004; Nakawaga y FitzHarris, 2017).

Por otra parte, los efectos de perder ambos cromosomas sexuales podrían ser muy negativos en los machos debido a la posible desregulación de los gametólogos, los cuales cumplen distintas funciones en la regulación y homeostasis celular. Además, estos gametólogos son haploinsuficientes, esto quiere decir que perder ambas copias causaría problemas celulares porque no se podrían llevar a cabo funciones importantes (Bellot *et al.*, 2014; Cortez *et al.*, 2014;

Bellot *et al.*, 2017; Bellot *et al.*, 2020). Más aún, se ha descubierto que los genes en los cromosomas sexuales juegan un papel importante en la mediación y regulación de las diferencias sexuales en las células somáticas (Naqvi *et al.*, 2019; Godfrey *et al.*, 2020; Oliva *et al.*, 2020). Finalmente, cabe la posibilidad que los tejidos con altos niveles de pérdida en ambos cromosomas sexuales sea el reflejo de un estado tumoral (Giam y Rancati, 2015; Campbell *et al.*, 2020; Watkins *et al.*, 2020); la pérdida de los dos cromosomas sexuales es común en tumores sólidos (Machiela, 2019). Por lo tanto, perder ambos cromosomas sexuales puede ser muy negativo para los machos y de cierta manera podrían explicar la mortalidad temprana observada de este sexo en los distintos grupos de mamíferos (Bellot *et al.*, 2014; Cortez *et al.*, 2014; Forsberg *et al.*, 2014; Pipoly *et al.*, 2015; Davies *et al.*, 2018; Lund *et al.*, 2019; Cáceres *et al.*, 2020, Sultanova *et al.*, 2020; Xirecosta *et al.*, 2020).

8. Conclusiones

La pérdida mosaica del cromosoma Y es un fenómeno que no es exclusivo del humano, sino que se presenta en otros mamíferos que comparten el mismo sistema de cromosomas sexuales degenerados. De la misma manera, la pérdida del cromosoma Y es dependiente de la edad y está influenciada por el envejecimiento del organismo.

Por otra parte, la pérdida mosaica del cromosoma Y sigue un patrón específico dentro de los tejidos durante el envejecimiento. Distintos factores pueden favorecer su expansión clonal en cada tejido como son, por ejemplo, la tasa de recambio celular, la predisposición genética, el grado de interacción con el sistema inmune, el ambiente que rodea a las células, los cambios epigenómicos y tal vez una predisposición embrionaria.

En consecuencia, todos los factores anteriormente mencionados, en conjunto con el envejecimiento, actúan de manera sinérgica para propiciar el origen y expansión de esta aberración cromosómica. Más aún, la incidencia de la pérdida mosaica del cromosoma Y en distintos tejidos puede alterar la homeostasis celular y, por lo tanto, la generación de distintas enfermedades específicas de los machos. En rata, por ejemplo, los machos probablemente presentarán problemas renales, hepáticos, neurodegenerativos y cardíacos más pronto que las hembras.

A su vez, el cromosoma X no presenta pérdida mosaica en la mayoría de los tejidos. Sin embargo, altos niveles de mosaicismo del cromosoma Y pueden afectar la estabilidad del cromosoma X debido a la asociación que existe entre ambos cromosomas sexuales durante la división celular. La pérdida de ambos cromosomas puede provocar efectos catastróficos en los machos por la desregulación celular del soma.

Finalmente, existe la posibilidad que la pérdida mosaica del cromosoma Y afecte a todos los machos de los mamíferos y probablemente influya en su mortalidad temprana. De esta manera, se puede establecer que perder el cromosoma Y es un signo importante del envejecimiento en los machos de mamíferos que sucede a nivel orgánico y que posiblemente esté asociado con su declive funcional.

9. Perspectivas

Sería interesante conocer qué características del cromosoma Y promueven su pérdida. Por ejemplo, es posible que la variación en el tamaño de la región pseudoautosomal juegue un papel importante, así como el grado de heterocromatización y degeneración pueden hacer más susceptible a un cromosoma Y. Por ello, sería importante estimar la pérdida mosaica del cromosoma Y en otros mamíferos para entender las causas evolutivas de este fenómeno genómico. Aunado a esto, identificar el grado de disminución de los telómeros del cromosoma Y en los distintos tejidos sería indispensable para valorar si realmente influyen en su pérdida.

La tasa de recambio celular influye en la pérdida del cromosoma Y, pero como se mencionó en este trabajo, existe una gran variabilidad de longevidad celular dentro de un mismo tejido. Por ende, analizar a lo tejidos mediante el método de secuenciación de una sola célula podría esclarecer que poblaciones de un tejido realmente pierden el cromosoma Y. Asimismo, caracterizar las alteraciones transcripcionales y de regulación génica en los tejidos con altos niveles de pérdida sería indispensable para conocer que consecuencias provoca esta aberración genómica y si realmente está implicada en el decaimiento funcional del organismo.

Finalmente, sería interesante examinar si otros linajes de vertebrados distintos a los mamíferos que presenten cromosomas sexuales degenerados sufren también de pérdida mosaica durante el envejecimiento y de esta manera poder explicar el patrón general de diferencias de longevidad entre sexos recientemente establecido. Esto debido a que el cromosoma W de las aves y algunas serpientes y el cromosoma Y de algunos lagartos cumplen funciones de regulación celular como en mamíferos, lo que hace probable que su pérdida tenga efectos negativos en el sexo que lo presenta. Esto podría confirmar que la pérdida mosaica de los cromosomas sexuales es una consecuencia de su proceso evolutivo. Es decir, que el proceso de degeneración por el cual pasan los cromosomas sexuales heteromórficos sea la causa principal de la susceptibilidad que tienen a perderse.

En general, aún queda mucho por investigar sobre la pérdida mosaica del cromosoma Y debido a que es un área de investigación muy joven que surgió apenas en el 2014. Por ende, este trabajo representa un gran aporte a la comprensión de este fenómeno. Quiero hacer hincapié que se trata de un fenómeno multivariable que abre las puertas a nuevas áreas de investigación y que por el momento deja más preguntas que respuestas.

ANEXO

Tablas Suplementarias

Tabla 1. Tasa de recambio celular y origen embrionario en diferentes tejidos del humano (Seim *et al.*, 2016; Castillo-Morales *et al.*, 2019).

Tejido/Tipo celular	Línea germinal	Longevidad celular (días)	Número de muestras
Alveolocitos (Pulmón)	Endodermo	8	38
Bazo	Mesodermo	7.8	27
Cardiomiocitos (Corazón)	Mesodermo	24,090	41
Espermatocitos (Testículo)	Endodermo	60	68
Hepatocitos (Hígado)	Endodermo	327	63
Islotes pancreáticos (Pancreas)	Endodermo	15,330	28
Monocitos (Sangre)	Mesodermo	2	178
Músculo	Mesodermo	5,475	26
Neurona (Cerebelo)	Ectodermo	25,221.5	60
Pulmón	Endodermo	200	38
Queratinocitos (Piel)	Ectodermo	64	25
Riñón	Mesodermo	270	46

Tabla 2. Longevidad celular de las células formadoras de diferentes tejidos en roedores.

Tejido	Tipo celular	Animal	Longevidad celular (días)	No. de divisiones	Referencia
Bazo	Esplenocitos	Rata	15	47.40	Cameron y Trasher, 1971
Cerebelo	Neuronas	Rata	711	1	
Corazón	Cardiomiocitos	Rata	679	1.04	
Hígado	Hepatocitos	Rata	400	1.77	Cameron y Trasher, 1971
Músculo	Células satélites	Rata	8	88.87	Schmalbruch <i>et al.</i> , 2000
Páncreas	Células beta	Rata	31	22.93	Bonner-Weir, 2001
	Células acinar	Ratón	520	1.36	Cameron y Trasher, 1971
Piel	Epidermis del abdomen	Rata	19	37.42	Cameron y Trasher, 1971
Pulmón	Bronquiolos	Rata	8	88.87	Cameron y Trasher, 1971
	Células alveolares	Rata	200	3.55	Cameron y Trasher, 1971
	Células no vacuoladas	Rata	29	24.51	Cameron y Trasher, 1971
Riñón	Células dendríticas renales	Rata	7	101.57	Leszczynski <i>et al.</i> , 1985
	Cresta glomerular	Ratón	170	4.18	Cameron y Trasher, 1971
	Túbulo proximal	Ratón	190	3.74	Cameron y Trasher, 1971
Sangre	Linfocitos	Rata	9	79	Belcher y Harriss, 1959
Testículo	Células de Leyding	Rata	48	14.81	Teerds <i>et al.</i> , 2009
	Células peritubulares	Rata	85	8.36	Teerds <i>et al.</i> , 2009
	Espermatogénesis	Rata	142	5.00	Cameron y Trasher, 1971

Tabla 3. Número de muestras utilizadas de cada tejido en las ocho edades diferentes.

Tejido	Total de muestras	4 meses	12 meses	14 meses	18 meses	22 meses	23 meses	24 meses	25 meses
Bazo	20	4	0	0	1	0	15	0	0
Cerebelo	51	29	3	0	1	0	17	1	0
Corazón	35	5	5	0	5	0	15	2	3
Hígado	51	28	3	0	2	0	14	2	2
Músculo	14	6	0	0	0	0	8	0	0
Páncreas	31	10	0	0	2	0	19	0	0
Piel	13	2	0	0	0	0	11	0	0
Pulmón	71	16	7	0	6	0	36	0	6
Riñón	38	12	4	0	0	0	14	7	1
Sangre	31	6	4	5	0	14	0	1	1
Testículo	97	63	7	0	3	0	16	8	0

Tabla 4. Valores de la longitud relativa de los telómeros de las distintas células del humano (Demanelis *et al.*, 2020).

Tejido	Longitud Relativa del Telómero (RTL)
Cerebelo	1.02
Músculo	1.36
Páncreas	1.06
Piel	1.14
Pulmón	0.95
Riñón	0.97
Sangre	0.81
Testículo	1.92

APÉNDICE

Tablas Suplementarias

Tabla 1. Resultados obtenidos de las pruebas de U Mann-Whitney de cada tejido comparando la cobertura de cada cromosoma sexual en la etapa juvenil con respecto a la etapa de viejo.

Tejido	<i>P</i> (U-test)	W	<i>P</i> (U-test)	W
Bazo	0.679	54	0.945	49
Cerebelo	0.049	98	0.304	127
Corazón	0.042	20	0.302	66
Hígado	0.003	123	0.014	144
Músculo	0.059	9	0.282	15
Pulmón	0.582	72	0.037	121
Páncreas	0.079	85	0.975	158
Riñón	0.006	58	0.012	63
Sangre	0.338	55	0.366	35
Testículo	0.028	486	0.065	466
	Cromosoma Y		Cromosoma X	

Tabla 2. Resultados obtenidos de las regresiones lineales y del análisis de correlación Spearman para cada cromosoma sexual a lo largo del envejecimiento por cada tejido.

Cromosoma	Tejido	Intercepto	Pendiente	<i>P</i>	R ²	Rho	<i>P</i>
Cromosoma Y	Bazo	4.622	0.008	0.489	0.019	0.035	0.860
	Cerebelo	4.793	-0.028	0.011	0.123	-0.313	0.025
	Corazón	4.931	-0.017	0.426	0.019	0.104	0.551
	Hígado	4.922	-0.031	0.003	0.158	-0.448	0.001
	Músculo	4.649	-0.028	0.529	0.033	-0.537	0.047
	Pulmón	4.551	0.005	0.569	0.004	-0.021	0.857
	Páncreas	4.031	0.020	0.184	0.060	0.249	0.175
	Riñón	4.918	-0.043	0.008	0.176	-0.323	0.047
	Sangre	2.546	-0.018	0.615	0.008	-0.120	0.518
Testículo	3.681	0.010	0.419	0.006	0.131	0.200	
Cromosoma X	Bazo	5.027	0.006	0.455	0.022	0.022	0.910
	Cerebelo	4.981	-0.009	0.159	0.039	-0.166	0.243
	Corazón	4.693	0.005	0.678	0.005	0.366	0.030
	Hígado	5.160	-0.011	0.008	0.132	-0.340	0.014
	Músculo	4.924	-0.001	0.975	8.36x10 ⁻⁰⁵	-0.322	0.261
	Pulmón	4.906	0.003	0.544	0.012	0.041	0.824
	Páncreas	4.809	0.012	0.005	0.106	0.279	0.018
	Riñón	5.163	-0.016	0.020	0.140	-0.321	0.049
	Sangre	4.360	-0.018	0.435	0.021	-0.151	0.416
	Testículo	4.671	0.008	0.264	0.013	0.209	0.039

Figuras Suplementarias

Figura 1. Gráfico de las regresiones lineales simples de la cobertura del cromosoma Y a lo largo del envejecimiento por tejido. Los puntos representan las muestras analizadas por cada tejido. Los únicos tejidos con una disminución significativa de cobertura durante el envejecimiento fue el hígado y riñón ($P < 0.05$).

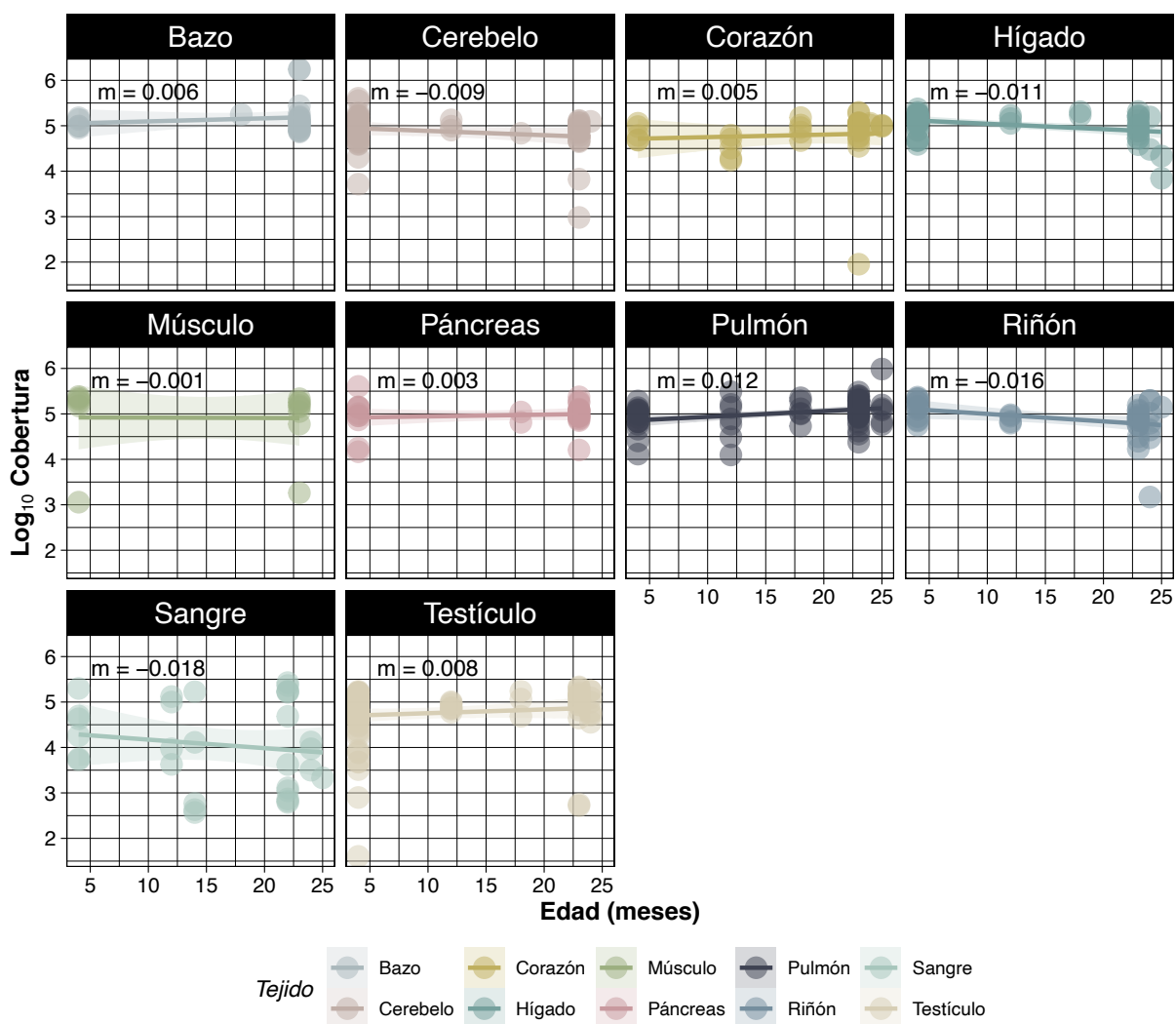


Figura 2. Gráfico de Lollipop de los niveles de pérdida de ambos cromosomas sexuales por individuo en cerebelo, hígado y riñón.

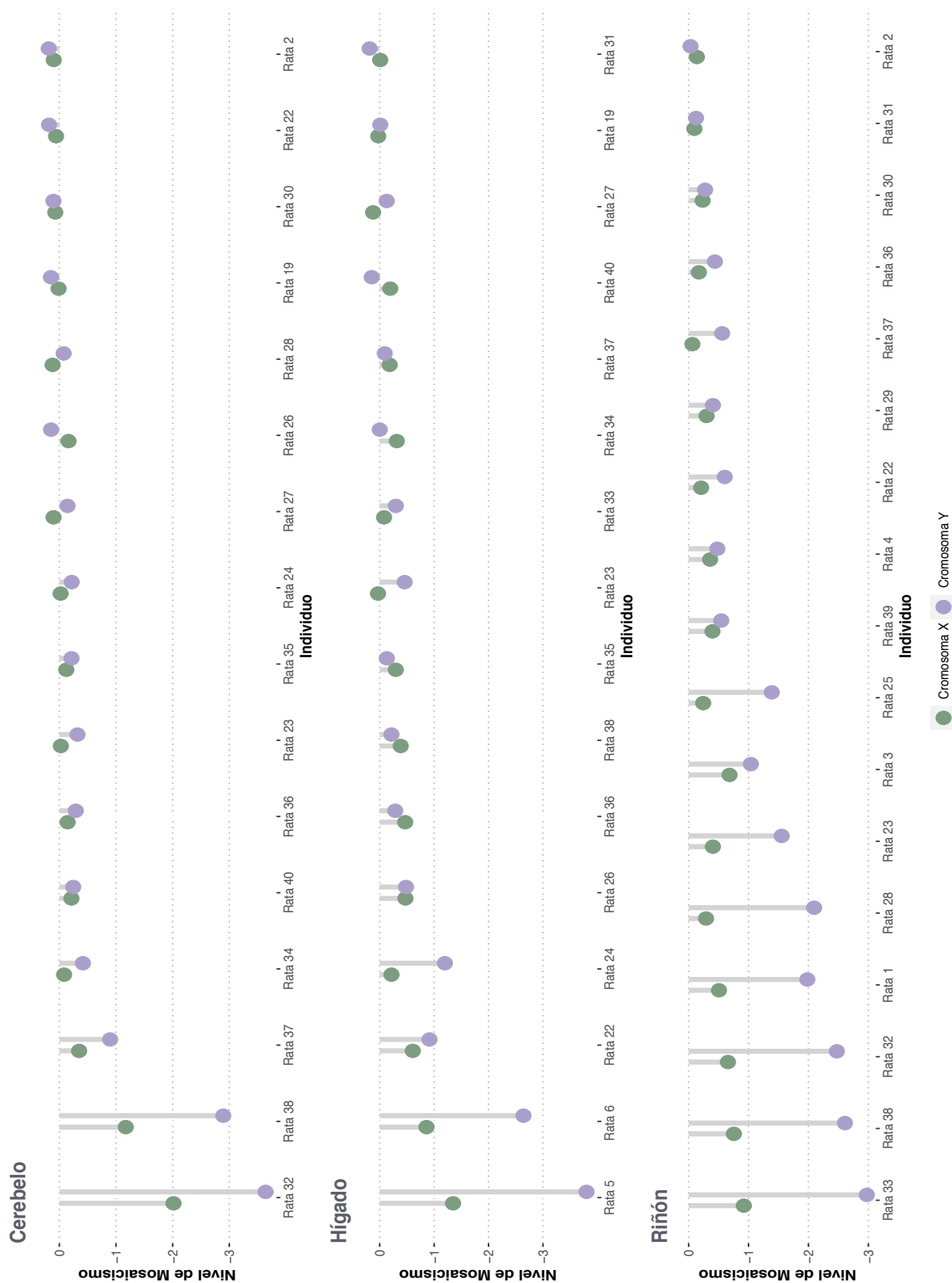


Figura 3. Gráfico de cajas de las coberturas de los tejidos y el nivel de mosaicismos en ratas viejas ($P > 0.05$, Friedman test).

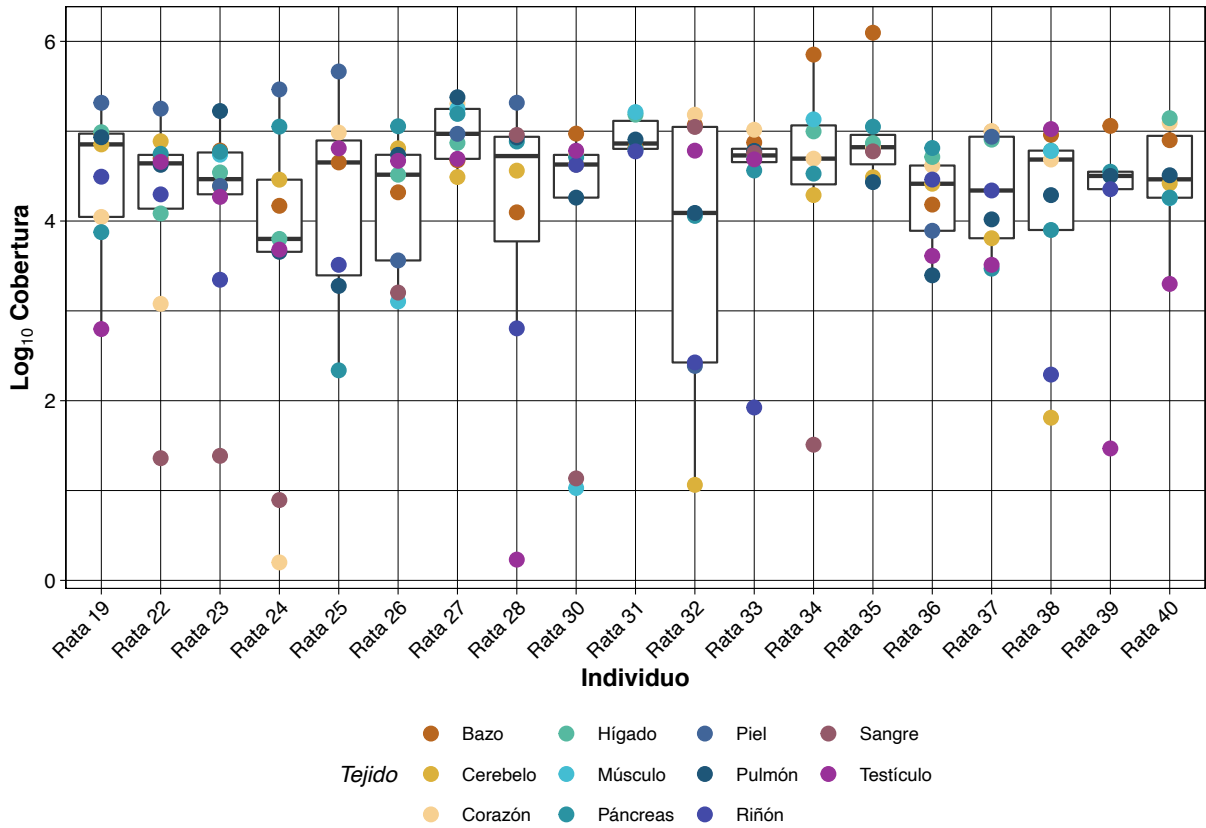
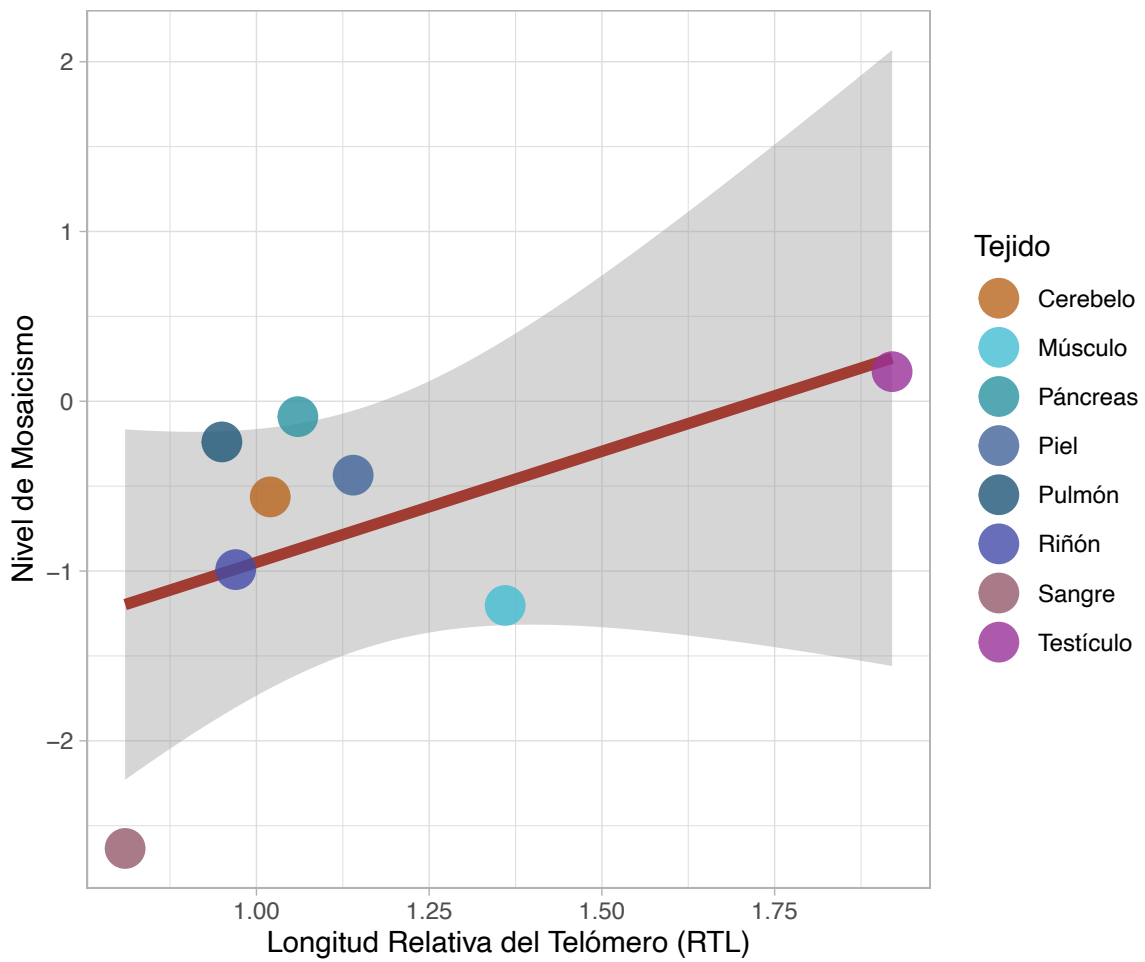


Figura 4. Regresión lineal de la longitud relativa de los telómeros a partir de los datos de humano (Anexo, Tabla 4) con respecto al nivel de mosaicismos del cromosoma Y de la rata. Se obtuvo una pendiente de 1.3080 ($P > 0.05$), una R^2 de 0.264 y un valor de correlación de Spearman de 0.452 ($P = 0.267$).



REFERENCIAS

- Acosta, A., Suárez-Varón, G., Rodríguez-Miranda, L. A., Lira-Noriega, A., Aguilar-Gómez, D., Gutiérrez-Mariscal, M., Hernández-Gallegos, O., Mendez-de la Cruz, F. & Cortez, D. (2019). Corytophanids replaced the pleurodont XY system with a new pair of XY chromosomes. *Genome Biology & Evolution*, 11(9): 2666-2677.
- Acquiva, L., Boekhout, M., Karasu, M. E., Brick, K., Pratto, F., Li, T., van Overbeek, M., Kauppi, L., Camerini-Otero, R. D., Jasin, M & Keeney, S. (2020). Ensuring meiotic DNA break formation in the mouse pseudoautosomal region. *Nature*, 582(7812): 426-431.
- Akagi, T., Henry, I. M., Tao, T. & Comai, L. (2014). A Y-chromosome-encoded small RNA acts as a sex determinant in persimmons. *Science*, 346(6209): 646-50.
- Almazar, N., Antony, J., Baghel, A. S., Bakerman, I., Bansal, I., Barres, B. A., Beachy, P. A., Berdnik, D., *et al.* (2020). A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature*, 583(7817): 590-595.
- Álvarez-Romero, J. y R. A. Medellín. (2005). *Rattus norvegicus*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020. México. D.F.
- Anderson, K., Cañadas-Garre, M., Chambers, R., Maxwell, A. P. & McKnight, A. J. (2019). The challenges of chromosome Y analysis and the implications for Chronic Kidney Disease. *Frontiers in Genetics*, 10: 781.
- Araujo, F. C., Milsted, A., Watanabe, I. K. M., Del Puerto, H. L., Santos, R. A. S., Lazar, J., Reis, F. M. & Prokop, J. W. (2015). Similarities and differences of X and Y chromosome homologous genes, SRY and SOX3, in regulating the renin-angiotensin system promoters. *Physiological Genomics*, 47(5): 177-186.
- Archer, J. (1971). Sex differences in emotional behaviour: A reply to Gray and Buffery. *Acta Psychologica*, 35(&): 415-429.

- Arseneault, M., Monlong, J., Vasudev, N. S., Laskar, R. S., Satissamghabadi, P., Harnden, P., Egevad, L., Nourbehesht, N., *et al.* (2017). Loss of chromosome Y leads to down regulation of KDM5D and KDM6C epigenetics modifiers in clear cell renal cell carcinoma. *Scientific Reports*, 7: 44876.
- Bachtrog, D., Kirkpatrick, M., Mank, J. E., McDaniel, S. F., Pires, J. C., Rice, W. R. & Valenzuela, N. (2011). Are all sex chromosomes created equal? *Trends in Genetics*, 27(9): 350-357.
- Bachtrog, D. (2013). Y-chromosome evolution: emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration. *Nature Reviews Genetics*, 14(2): 113-124.
- Baker, D. J., Jeganathan, K. B., Cameron, J. D., Thompson, M., Juneja, S., Kopecka, A., Kumar, R., Jenkins, R. B., de Groen, P. C., Roche, P. & van Deursen, J. M. (2004). *Nature Genetics*, 36(7): 744-749.
- Baker, D. J., Dawlaty, M. M., Wijshake, T., Jeganathan, K. B., Malureaunu, L., van Ree, J. H., Crespo-Díaz, R., Reyes, S., *et al.* (2013). Increased expression of BubR1 protects against aneuploidy and cancer and extends healthy lifespan. *Nature Cell Biology*, 15(1): 96-102.
- Baker, N. E. (2020). Emerging mechanisms of cell competition. *Nature Reviews Genetics*, 21(11): 683-697.
- Beach, R. R., Ricci-Tam, C., Brennan, C. M., Moomau, C. A., Hsu, P., Hua, B., Silberman, R. E., Springer, M. & Amon, A. (2017)
- Bellot, D. W., Hughes, J. F., Skaletsky, H., Brown, L. G., Pyntikova, T., Cho, T. J., *et al.* (2014). Mammalian Y chromosomes retain widely expressed dosage-sensitive regulators. *Nature*, 508(7497): 496-499.
- Bellot, D. W., Skaletsky, H., Cho, T. J., Brown, L., Locke, D., Chen, N., Galkina, S., Pyntikova, T., *et al.* (2017). Avian W and mammalian Y chromosomes convergently retained dosage-sensitive regulator. *Nature Genetics*, 49(3): 387-394.
- Bellot, D. W. & Page, D. C. (2020). Dosage-sensitive functions in embryonic development drove the survival of genes on sex-specific chromosomes in snakes, birds, and mammals. *BioRxiv*.

- Bergmann, O., Bhardwaj, R. D., Bernard, S., Zdunek, S., Barnabé-Heider, F., Walsh, S., Zupicich, J., *et al.* (2009). Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*, 324: 98-102.
- Bergmann, O., Zdunek, S., Felker, A., Salehpour, M., Alkass, K., Bernard, S., Sjöström, S. L., *et al.* (2015). Dynamics of cell generation and turnover in the human heart. *Cell*, 161: 1566-1575.
- Berta, P., Hawkins, J. R., Sinclair, A. H., Taylor, A., Griffiths, B. L., Goodfellow, P. N. & Fellous, M. (1990). Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature*, 348(6300):448-50.
- Biesecker, L. G. & Spinner, N. B. (2013). A genomic view of mosaicism and human disease. *Nature Review Genetics*, 14(5): 307-320.
- Blackmon, H. & Demuth, J. P. (2015). The fragile Y hypothesis: Y-chromosome aneuploidy as a selective pressure in sex chromosome and meiotic mechanism evolution. *BioEssays*, 37(9): 942-950.
- Blokzijl, F., de Ligt, J., Jager, M., Sasselli, V., Roerink, S., Huch, M., Boymans, S., Kuijk, E., *et al.* (2016). Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life. *Nature*, 538: 260-264.
- Blumstein, D., Williams, D., Lim, A. N., Kroeger, S. & Martin, J. G. A. (2018). Strong social relationships are associated with decreased longevity in a facultatively social mammal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1871): 20171934.
- Bókony, V., Kövér, S., Nemesházi, E., Liker, A. & Székely, T. Climate-driven shifts in adult sex ratios via sex reversals: the type of sex determination matters. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1729): 20160325.
- Bolger, A. M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
- Bonduriansky, R., Maklakov, A., Zajitschel, F. & Brooks, R. (2008). Sexual selection, sexual conflict and evolution of ageing and life span. *Functional Ecology*, 22(3): 443-453.

- Bonnefond, A., Skrobek, B., Lobbens, S., Eury, E., Thuillier, D., Cauchil, S., Lantieri, O., Balkau, B., *et al.* (2013). Association between large detectable clonal mosaicism and type 2 diabetes with vascular complications. *Nature Genetics*, 45(9): 1040-1043.
- Brashear, W. A., Raudsepp, T. & Murphy, W. (2018). Evolutionary conservation of Y chromosomes ampliconic gene families despite extensive structural variation. *Genome Research*, 28(12): 1841-1851.
- Brazhnik, K., Sun, S., Alani, O., Kinkhabwala, M., Wolkoff, A. W., Maslow, A. Y., Dong, X. & Vijg, J. (2020). Single-cell analysis reveals different age-related somatic mutation profiles between stem and differentiated cells in human liver. *Science Advances*, 6: eaax2659.
- Brown, E. J., Nguyen, A. H. & Bachtrog, D. (2020a). The Drosophila Y chromosome affects heterochromatin integrity genome-wide. *Molecular Biology and Evolution*, 37(10): 2808-2824.
- Brown, E. J., Nguyen, A. H. & Bachtrog, D. (2020b). The Y chromosome may contribute to sex-specific ageing in Drosophila. *Nature Ecology and Evolution*, 4(6): 853-862.
- Brown, D. W., Lin, S. H., Loh, P. R., Chanock, S. J., Savage, S. A. & Machiela, M. J. (2020). Genetically predicted telomere length is associated with clonal somatic copy number alterations in peripheral leukocytes. *Plos Genetics*, 16(10): ee1009078.
- Bruder, C. E. G., Piotrowski, A., Gijbbers, A. A. C., Andersson, R., Erickson, S., de Stahl, T. D., Menzel, U., Sandgren, J., *et al.* (2008). Phenotypically concordant and discordant monozygotic twins display different DNA copy-number-variation profiles. *The American Journal of Human Genetics*, 82(3): 763-771.
- Brunner, S. F., Roberts, N. D., Wylie, L. A., Moore, L., Aitken, S., Davies, S. E., Sanders, M., Ellis, P., Alder, C., *et al.* (2019). Somatic mutations and clonal dynamics in healthy and cirrhotic human liver. *Nature*, 574(7779): 538-542.
- Cáceres, A., Jene, A., Esko, T., Perez-Jurado, L. A. & Gonzalez, J. R. (2020a). Extreme downregulation of chromosome Y and Alzheimer's disease in men. *Neurobiology of Aging*, 90: 150e1-150e4.

- Cáceres, A., Jane, A., Esko, T., Pérez-Jurado, L. A., FRACP, & González, J. R. (2020). Extreme downregulation of chromosome Y and cancer risk in men. *Journal of the National Cancer Institute*, 112(9): 913-920.
- Cao, J., Spielmann, M., Qiu, X., Huang, X., Ibrahim, D. M., Hill, A. J., Zhang, F., Mudlos, S., *et al.* (2019). The single-cell transcriptional landscape of mammalian organogenesis. *Nature*, 566(7745): 496-502.
- Campbell, P. J., Getz, G., Korbel, J. O., Stuart, J. M., Jennings, J. L., Stein, L. D., Perry, M. D., Nahal-Bose, H. K., *et al.* (2020). Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature*, 578(7793): 82-93.
- Case, L. K., Wall, E. H., Dragon, J. A., Saligrama, N., Krementsov, D. N., Moussawa, M., Zachary, J. F., Huber, S. A., Blankenhorn, E. P. & Teuscher, C. (2013). The Y chromosome as regulatory element shaping immune cell transcriptomes and susceptibility to autoimmune disease. *Genome Research*, 23(9): 1474-1485.
- Castillo-Morales, A., Monzón-Sandoval, J., Urrutia, A. O. & Gutiérrez, H. (2019). Postmitotic cell longevity-associated genes: a transcriptional signature of postmitotic maintenance in neural tissues. *Neurobiology of Aging*, 74: 147-160.
- Cardoso-Moreira, M., Halbert, J., Valloton, D., Velten, B., Chen, C., Shao, Y., Liechti, A., Ascencao, K., *et al.* (2019). Gene expression across mammalian organ development. *Nature*, 571: 505-509.
- Cawthon, R. M., Meeks, H. D., Sasani, T. A., Smith, K. R., Kerber, R. A., O'Brien, E., Baird, I., Dixon, M., *et al.* (2020). Germline mutation rates in young adults predict longevity and reproductive lifespan. *Scientific Reports*, 10(1): 10001.
- Charlesworth, B. (2003). The organization and evolution of the human Y chromosome. *Genome Biology*, 4: 226.
- Charruau, P., Johnston, R. A., Stahler, D. R., Lea, A., Snyder-Mackler, N. S., Smith, D. W., vonHoldt, B. M., Cole, S. W., Tung, J. & Wayner, R. K. (2016). Pervasive effects of aging on gene expression in wild wolves. *Molecular Biology and Evolution*, 33(8): 1967-1978.

- Chen, G., Bradford, W. D., Seidel, C. W. & Li, R. (2012). Hsp90 stress potentiates rapid cellular adaptation through induction of aneuploidy. *Nature*, 482(7384): 246-483.
- Chen, H. & Maklakov, A. A. (2014). Condition dependence of male mortality drives the evolution of sex differences in longevity. *Current Biology*, 24(20): 2423-2427.
- Chen, C. K., Blanco, M., Jackson, C., Aznauryan, E., Ollikainen, N., Surka, C., Chow, A., Cerase, A., McDonel, P. & Guttman, M. (2016). Xist recruits the X chromosome to the nuclear lamina to enable chromosome-wide silencing. *Science*, 354(6311): 468-472.
- Cimini, D., Howell, B., Maddox, P., Khoojakov, A., Degrossi, F. & Salmon, E. D. (2001). Merotelic kinetochore orientation is a major mechanism of aneuploidy in Mitotic mammalian tissues cells. *Journal of Cell Biology*, 152(3): 517-527.
- Colom, B., Alcolea, M. P., Piedrafita, G., Hall, M. W., Wabik, A., Dentro, S. C., Fowler, J. C., Herms, A., *et al.* (2020). Spatial competition shapes the dynamic mutational landscape of normal esophageal epithelium. *Nature Genetics*, 52(6): 604-614.
- Cornejo-Páramo, P., Lira-Noriega, A., Ramírez-Suástegui, C., Méndez-de-la-Cruz, F. R., Székely, T., Urrutia, A. O. & Cortez, D. (2020). Sex determination systems in reptiles are related to ambient temperature but not to the level of climatic fluctuation. *BMC Evolutionary Biology*, 20: 103.
- 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(7497): 488-493.
- Crane, M. M., Russell, A. E., Schafer, B. J., Blue, B. W., Whalen, R., Almazan, J., Hong, M. G., Nguyen, B., *et al.* (2019). DNA damage checkpoint activation impairs chromatin homeostasis and promotes mitotic catastrophe during aging. *eLife*, 8: e50778.
- Crowley, C. & Curtis, H. J. (1963). The development of somatic mutations in mice with age. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 49(5): 626-628.

- Cui, R., Medeiros, T., Willemsen, D., Iasi, L. N. M., Collier, G. E., Graef, M., Reichard, M. & Valenzano, D. R. (2019). Relaxed selection limits lifespan by increasing mutation load. *Cell*, 178(2): 385-399.
- Dagher, J., Dugay, F., Verhoest, G., Cabillic, F., Jaillard, S., Henry, C., Arlot-Bonnemains, Y., Bensalah, K., *et al.* (2013). Histologic prognostic factors associated with chromosomal imbalances in a contemporary series of 89 clear cell renal cell carcinomas. *Human Pathology*, 44(10): 2106-211.
- Daniali, L., Benetos, A., Susser, E., Kark, J. D., Labat, C., Kimura, M., Desai, K., Granick, M. & Aviv, A. (2013). Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nature Communications*, 4: 1597.
- Danielsson, M., Halbardson, J., Davies, H., Moghadam, B. T., Mattison, J., Rychlicka-Buniowska, E., Jaszczynski, J., *et al.* (2019). Longitudinal changes in the frequency of mosaic chromosome Y loss in peripheral blood cell of aging men varies profoundly between individuals. *Europeans Journal of Human Genetics*, 28: 349-357.
- Davies, M., Isles, A., Smith, R., Karunadasa, D., Burrmann, D., Humby, T., Ojarikre, O., Biggin, C., Skuse, D., Burgoyne, P. & Wilkinson, L. (2005). Xlr3b is a new imprinted candidate for X-linked parent-of-origin effects on cognitive function in mice. *Nature Genetics*, 37(6): 625-629.
- Davies, E. J., Lobach, I. & Dubal, D. B. (2018). Female XX sex chromosomes increase survival and extend lifespan in aging mice. *Aging Cell*, 18(1): e12871.
- De, S. (2011). Somatic mosaicism in healthy human tissues. *Trends in Genetics*, 27(6): 217-223.
- de Magalhaes, J. P. & Faragher, R. G. A. (2008). Cell divisions and mammalian aging: integrative biology insights from genes that regulate longevity. *BioEssays*, 30: 567-578.
- Demanelis, K., Jasmine, F., Chen, L. S., Chernoff, M., Tong, L., Delgado, D., Zhang, C., Shinkle, J., *et al.* (2020). Determinants of telomere length across human tissues. *Science*, 369(6509): 1333.

- Dollé, M. E. R., Giese, H., Hopkins, C. L., Martus, H. J., Hausdorff, J. M. & Vijg, J. (1997). Rapid accumulation of genome rearrangements in liver but not in brain of old mice. *Nature Genetics*, 17(4): 431-434.
- Dollé, M. E. T., Snyder, W. K., Gossen, J. A., Lohman, P. H. M. & Vijg, J. (2000). Distinct spectra of somatic mutations accumulated with age in mouse heart and small intestine. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(15): 8403-8408.
- Dumanski, J. P., Rasi, C. Lönn, M., Davies, H., Ingelsson, M., Giedraitis, V., Lannfelt, L., Magnusson, P. K. E., *et al.* (2015). Smoking is associated with mosaic loss of chromosomes Y. *Science*, 347(6217): 81-83.
- Dumanski, J. P., Lambert, J. C., Rasi, C., Giedraitis, V., Davies, H., Grenier-Boley, B., Lindgren, C. M., Campion, D., *et al.* (2016). Mosaic loss of chromosome Y in blood is associated with Alzheimer disease. *The American Journal of Human Genetics*, 98(6): 1208-1219
- Dumanski, J. P., Halvardson, J., Davies, H., Rychlicka-Buniowska, E., Mattisson, J., Moghadam, B. T., Nagy, N., Weglarczyk, K., *et al.* (2020). Immune cells lacking Y chromosomes. Have widespread dysregulation of autosomal genes. *BioRxiv*.
- Dunford, A., Weindtock, D. M., Savova, V., Schumacher, S., Cleary, J. P., Yoda, A., Sullivan, T. J., Hess, J. M., Gimelbrant, A. A., Berounkhim, R., Lawrence, M. S., Getz, G. & Lane, A. A. (2016). Tumor-suppressor genes that scape from X-inactivation contribute to cancer sex bias. *Nature Genetics*, 49(1): 10-16.
- Eberhart-Phillips, L. J., Küpper, C., Miller, T. E. X., Cruz-Lopez, M., Maher, K. H., dos Remedios, N., Stoffel, M. A., Hoffman, J. I., Krüger, O. & Székely, T. (2017). Sex-specific early survival drives adult sex ratio bias in snowy plovers and impacts mating system and population growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(27): 5474-5481.
- Eberhart-Phillips, L. J., Küpper, C., Carmona-Isunza, M. C., Vincze, O., Zefania, S., Cruz-López, M., Kosztolányi, A., Miller, T. E. X., Barta, Z., Cuthill, I.C., Burke, T., Székely

- T., Hoffman, J. & Krüger, O. (2018). Demographic causes of adult sex ratio variation and their consequences for parental cooperation. *Nature Communications*, 9(1): 1651.
- Engw, M., Arda, H. E., Mignardi, M., Beausang, J., Bottino, R. & Kim, S. K. (2017). Single-cell analysis of human pancreas reveals transcriptional signatures of aging and somatic mutation patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(2): 321-330.
- Ezaz, T., Srikulnath, K. & Marshall-Graves, J. A. (2016). Origin of amniote sex chromosomes: an ancestral super-sex chromosome, or common requirements?. *Journal of Heredity*, 107(1): 94-105.
- Faggioli, F., Wang, T., Vijg, J. & Montagna, C. (2012). Chromosome-specific accumulation of aneuploidy in the aging mouse brain. *Human Molecular Genetics*, 21(24): 5246-5253.
- Failla, G. (1958). The aging process and cancerogenesis. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 71(6): 1124-1140.
- Fernández, L. C., Torres, M. & Real, F. X. (2016). Somatic mosaicism: on the road to cancer. *Nature Reviews Cancer*, 16(1):43-55.
- Franco, I., Johansson, A., Olsson, K., Vrtacnik, P., Lundin, P., Helgadottir, H. T., Larsson, M., Revechon, G., *et al.* (2018). Somatic mutagenesis in satellite cells associates with human skeletal muscle aging. *Nature Communications*, 9: 800.
- Forsberg, L. A., Rasi, C., Razzaghian, H. R., Pakalapati, G., Waite, L., Thilbeault, K. S., Ronowicz, A., Wineiger, N. E., *et al.* (2012). Age-related somatic structural changes in the nuclear genome of human blood cells. *The American Journal of Human Genetics*, 90: 217-228.
- Forsberg, L. A., Rasi, C., Malmqvist, N., Davies, H., Pasupulati, S., Pakalapati, G., Sandgren, J., de Stahl, T. D., *et al.* (2014). Mosaic loss of chromosome Y in peripheral blood is associated with shorter survival and higher risk of cancer. *Nature Genetics*, 46(6): 624-628.
- Forsberg, L. A. (2017). Loss of chromosome Y (LOY) in blood cells is associated with increased risk for disease and mortality in aging men. *Human Genetics*, 136: 657-663.

- Forsberg, L. A., Gisselsson, D. & Dumanski, J. P. (2017). Mosaicism in health and disease – clones picking up speed. *Nature Reviews Genetics*, 18(2): 128-142.
- Forsberg, L. A., Halvardson, J., Rychlicka-Buniowska, E., Danielsson, M., Moghadam, B. T., Mattisson, J., Rasi, C., Davies, H., *et al.* (2019). Mosaic loss of chromosome Y in leukocytes matters. *Nature Genetics*, 51(1): 4-7.
- Gan, P., Patterson, M. & Suciv, H. M. (2019). Cardiomyocyte polyploidy and implications for heart regeneration. *The Annual Review of Physiology*, 13:19.
- Garcia-Nieto, P. E., Morrison, A. J. & Fraser, H. B. (2019). The somatic mutation landscape of the human body. *Genome Biology*, 20(1): 298.
- Gasic, I., Nerurkar, P. & Meraldi, P. (2015). Centrosome age regulates kinetochore-microtubule stability and biases chromosome mis-segregation. *eLife*, 4: e07909.
- Giam, M & Rancati, G. (2015). Aneuploidy and chromosomal instability in cancer: a jackpot to chaos. *Cell Division*, 10: 3.
- Gilks, W. P., Abbott, J. K. & Morrow, E. H. (2014). Sex differences in disease genetics: evidence, evolution, and detection. *Trends in Genetics*, 30(10): 453-463.
- Goldberg, A. D., Allis, C. D. & Bernstein, E. (2007). Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 128(4): 635-638.
- Godfrey, A. K., Naqvi, S., Chmátal, L., Chicj, J. M., Mitchell, R. N., Gygi, S. P., Skaletsky, H. & Page, D. C. (2020). Quantitative analysis of Y-chromosome gene expression across 36 human tissues. *Genome Research*, 30(6): 860-873.
- Gozdecka, M., Meduri, E., Mazan, M., Tzelepis, K., Dudek, M., Knights, A. J., Pardo, M., Yu, L., Choudhary, J. S., Metzakopian, E., *et al.* (2018). UTX-mediated enhancer and chromatin remodeling suppresses myeloid leukemogenesis through noncatalytic inverse regulation of ETS and GATA programs. *Nature Genetics*, 50(6):883-894.
- Graham, E. J., Vermeulen, M., Vardarajan, B., Bennet, D., Jager, P. D., Pearse II, E. V., Youngpearse, T. L. & Mostafavi, S. (2019). Somatic mosaicism of sex chromosomes in blood and brain. *Brain Research*, 1721: 146345.

- Grassmann, F., Kiel, C., den Hollander, A. I., Weeks, D. E., Lotery, A., Cipriani, V., Weber, & B. H. F., & I. A. M. D. G. C. (2018). Y chromosome mosaicism is associated with age-related macular degeneration. *European Journal of Human Genetics*, 27(1): 36-41.
- Graves, J. A. M. (2006). Sex chromosome specialization and degeneration in mammals. *Cell*, 124: 901-914.
- Guo, X., Dai, X., Zhou, T., Wang, H., Ni, J., Xue, J. & Wang, X. (2020). Mosaic loss of human Y chromosome: what, how and why. *Human Genetics*, 139(4): 421-446.
- Hamilton, C. K., Favetta, L. A., Di Meo G. P., Floriot, S., Perucatti, A., Peippo, J., *et al.* (2009) Copy Number Variation of Testis-Specific Protein, Y-Encoded (TSPY) in 14 Different Breeds of Cattle (*Bos taurus*). *Sex Development*, 3: 205–213.
- Han, J. W. & Yoon, Y. S. (2012). Epigenetic landscape of pluripotent stem cells. *Antioxidants and Redox Signaling*, 17(2): 205-223.
- Hartman, R. J. G., Mokry, M., Pasterkamp, G. & den Ruijter, H. M. (2020). Sex dependent gene activity in the human body. *BioRxiv*.
- Haitjema, S., Kofink, D., van Setten, J., van der Laan, S. W., Schoneveld, A. H., Eales, J., Tomaszewski, M., de Jager, S. C. A., Pasterkamp, G., Asselbergs, F. W. & den Ruijter, H. M. (2017). Loss of Y chromosome in blood is associated with major cardiovascular events during follow-up in men after carotid endarterectomy. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*, 10(4): e001544.
- Higo, T., Naito, A. T., Sumida, T., Shibamoto, M., Okada, K., Nomura, S., Nakagawa, A., Yamaguchi, T., *et al.* (2017). DNA single-strand. Break-induced DNA damage response causes heart failure. *Nature Communications*, 8: 1504.
- Hoang, M. L., Kinde, I., Tomasetti, C., McMahon, K. W., Rosenquist, T. A., Grollman, A. P., Kinzler, K. W., Vogelstein, B. & Papadopoulos, N. (2016). Genome-wide quantification of rare somatic mutations in normal human tissues using massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(35): 9846-9851.

- Hollows, R., Wei, W., Cazier, J. B., Mehanna, H., Parry, G., Halford, G. & Murray, P. (2018). Association between loss of Y chromosome and poor prognosis in male head and neck squamous cell carcinoma. *Head & Neck*, 41(4): 993-1006.
- Hughes, J. F., Skaletsky, H., Bronw, L. G., Pyntikova, T., Graves, T., Fulton, R. S., *et al.* (2012). Strict evolutionary conservation followed rapid gene loss on human and Rhesus Y chromosomes. *Nature*, 483(7387): 82-86.
- Hughes, J. F., Skaletsky, H., Koutseva, N., Pyntikova, T. & Page, D. C. (2015). Sex chromosome-to-autosome transposition events counter Y-chromosome gene loss mammals. *Genome Biology*, 16:104.
- Humphreys, B. D. (2014). Kidney injury, stem cells and regeneration. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 23(1): 25-31.
- Iourov, I. Y., Vorsanova, S. G. & Yurov, Y. B. (2008). Chromosomal mosaicism goes global. *Molecular Cytogenetics*, 1(1): 26.
- Jacobs, P. A., Brown, W. M. & Doll, R. (1961). Distribution of human chromosome counts in relation to age. *Nature*, 191: 1178-1180.
- Jacobs, K. B., Yeager, M., Zhou, W., Wacholder, S., Wang, Z., Rodriguez-Santiago, B., Hutchinson, A., Deng, C. G., *et al.* (2012). Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. *Nature Genetics*, 44(6): 651-658.
- Jangravi, Z., Tabar, M. S., Mirzaei, M., Parsamatin, P., Vakilian, H., Alikhani, M., Shabani, M., Haynes, P. A., Goodchild, A. K., *et al.* (2015). Two splice variants of Y chromosome-located lysine-specific demethylase 5D have distinct function in prostate cancer cell line (DU-145). *Journal of Proteome Research*, 14(9):3492-3502.
- Jaiswal, S. Fontanilla, P., Flannick, J., Manning, A., Grauman, P. V., Mar, B. G., Lindsley, R. C., Mermel, C. H., *et al.* (2014). Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *New England Journal of Medicine*, 371(26): 2488-2498.
- Jaiswal, S. & Ebert, B. L. (2019). Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science*, 366(6465): eean4673.

- Jaiswal, S., Natarajan, P., Silver, A. J., Gibson, C. J., Bick, A. G., Shvartz, E., McConkey, M., Gupta, N., *et al.* (2017). Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 377(2): 111-121.
- Johansson, M. M., Pottmeier, P., Suci, P., Ahmad, T., Zaghlool, A., Halvardson, J., Darj, E., Feuk, L., Peuckert, C. & Jazin, E. (2019). Novel Y-chromosome long non-coding RNAs expressed in human male CNS during early development. *Frontiers in Genetics*, 10: 891.
- John, R. & Nelson, P. J. (2007). Dendritic cells in the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(10): 2628-2635.
- Jourdon, A., Fasching, L., Scuderi, S., Abyzov, A. & Vaccarino, F. M. (2020). The role of somatic mosaicism in brain disease. *Current Opinion in Genetics and Development*, 65: 84-90.
- Kan, H. J., Kawasawa, Y. I., Chng, F., Zhu, Y., Xu, X., Li, M., Sousa, A. M., Pletikos, M., Meyer, K. A., Sedmak, G., *et al.* (2011). Spatio-temporal transcriptome of the human brain. *Nature*, 478(7370): 483-489.
- Kashimada, K. & Koopman, P. (2010). Sry: the master switch in mammalian sex determination. *Development*, 137(23): 3921-3930.
- Kido, T. & Lau, Y. F. C. (2019). The Y-linked proto-oncogene TSPY contributes to poor prognosis of the male hepatocellular carcinoma patients by promoting the pro-oncogenic and suppressing the anti-oncogenic gene expression. *Cell and Bioscience*, 9(1): 22.
- Kim, H. I., Lim, H. & Moon, A. (2018). Sex differences in cancer: epidemiology, genetics and therapy. *Biomolecules and Therapeutics*, 26(4): 335-342.
- Kim-Hellmuth, S., Aguet, F., Oliva, M., Muñoz-Aguirre, M., Kasela, S., Wucher, V., Castel, S. E., Hameel, A. R., *et al.* (2020). Cell type-specific genetic regulation of gene expression across human tissues. *Science*, 369(6509): 1332.
- Kimmel, J. C., Penland, L., Rubinstein, N. D., Hendrickson, D. G., Kelley, D. R. & Rosenthal, A. Z. (2019). Murine single-cell RNA-seq reveals cell-identity- and tissue-specific trajectories of aging. *Genome Research*, 29(12): 2088-2103.

- Kimmel, J. C., Hendrickson, D. G. & Kelley, D. R. (2020). Differentiation reveals the plasticity of age-related change in murine muscle progenitors. *BioRxiv*.
- Kimura, A., Hishimoto, A., Otsuka, I., Okazaki, S., Boku, S., Horai, T., Izumi, T., Takahashi, M., *et al.* (2018). Loss of chromosome Y in blood, but not in brain, of suicide completers. *Plos One*, 13(1): e0190667.
- Klare, K., Weir, J. R., Basilico, F., Zimniak, T., Massimiliano, L., Ludwigs, N., Herzog, F. & Musacchio, A. (2015). CENP-C is a blueprint for constitutive centromere-associated network assembly within human kinetochores. *Journal of Cell Biology*, 210(1): 11-22.
- Klein, S. L. & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10): 626-638.
- Knouse, K. A., Wu, J., Whittaker, C. A. & Amon, A. (2014). Single cell sequencing reveals low levels of levels of aneuploidy across mammalian tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(37): 13409-13414.
- Kops, G. J. P. L., Foltz, D. R. & Cleveland, D. W. (2004). Lethality to human cancer cells through massive chromosome loss by inhibition of the mitotic checkpoint. *Proceedings of the National Academy of of the United States of America*; 101(23): 8699-8704.
- Kowalczyk, M. S., Tirosh, I., Heckl, D., Rao, T. N., Dixit, A., Haas, B. J., Schneideer, R. K., Wagers, A. J., Ebeert, B. L. & Regev, A. (2015). Single-cell RNA-seq reveals changes in cell cycle and differentiation programs upon aging of hematopoietic stem cells. *Genome Research*, 15: 1860-1872.
- Krausgruber, T., Fortelny, N., Fife-Gernedl, V., Senekowitsch, M., Schuster, L., Lercher, A., Nemc, A., Schmidl, C., Rendeiro, A. F., Bergthaler, A. & Bock, C. (2020). Structural cells are key regulators of organ-specific immune responses. *Nature*, 583(7815). 296-302.
- Krementsov, D. N., Case, L. K., Dienz, O., Raza, A., Fang, Q., Ather, J. L., Poynter, M. E., Booyson, J. E., Bunn, J. Y. & Teuscher, C. (2017). Genetic variation in chromosome Y regulates susceptibility to influenza A virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(13): 3491-3496.

- Kuningas, M., Estrada, K., Hsu, Y. H., Nandakumar, K., Uitterlinden, A. G., Lunetta, K. L., van Duijn, C. M., Karasik, D., *et al.* (2011). Large common deletions associate with mortality at old age. *Human Molecular Genetics*, 20(21): 4290-4296.
- Laskar, R. S., Muller, D. C., Li, P., Machiela, M. J., Ye, Y., Gaborieau, V., Foll, M., Hofmann, J. N., Colli, L., Sampson, J. N., *et al.* Sex specific associations in genome wide association analysis of renal cell carcinoma. *European Journal of Human Genetics*, 27: 1589-1598.
- Laurie, C. C., Laurie, C. A., Rice, K., Doheny, K. F., Zelnick, L. R., McHugh, C. P., Ling, H., Hetrick, K. N., *et al.* (2012). Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nature Genetics*, 44(6): 642-650.
- Lee, S. H., Itkin-Ansari, P. & Levine, F. (2010). CENP-A, a protein required for chromosome segregation in mitosis, declines with age in islet but not exocrine cells. *Aging*, 2(11): 785-790.
- Lee-Six, H., Olafsson, S., Ellis, P., Osborne, R. J., Sanders, M. A., Moore, L., Geogakopoulos, N., Torrente, F., *et al.* (2019). The landscape of somatic mutation in normal colorectal epithelial cells. *Nature*, 574(7779): 532-537.
- Lemaître, J. F., Ronget, V., Tidière, M., Allainé, D., Berger, V., Cohas, A., Colchero, F., Conde, D. A., *et al.* (2020). Sex differences in adult lifespan and aging rates of motality across wild mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(15): 8546-8553.
- Lemos, B., Branco, A. T. & Hartl, D. L. (2010). Epigenetic effects of polymorphic Y chromosomes modulate chromatin components, immune response, and sexual conflict. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(36): 15826-15831.
- Leszczynski, D., Renkonen, R. & Hayry, P. (1985). Localization and turnover rate of rat renal 'dendritic' cells. *Scandinavian Journal of Immunology*, 21(4): 355-360.
- Li, X., Li, H. P., Amsler, K., Hyink, D., Wilson, P. D. & Burrow, C. R. (2002). PRKX, a phylogenetically and functionally distinct cAMP-dependent protein kinase, activates

- renal epithelial cell migration and morphogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(14): 9260-9265.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R. & 1000 G. P. D. P. S. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16): 2078-2079.
- Li, A., Mu, H., Zheng, L., Li, B., Wu, C., Niu, B., Shen, Q., He, X. & Hua, J. (2016). EIF2S3Y suppresses the pluripotency state and promotes the proliferation of mouse embryonic stem cells. *Oncotarget*, 7(10): 11321-11331.
- Liao, J., Yu, Z., Chen, Y., Megying, B., Zhou, C., Zhang, H., Liu, D., Li, T., Zhang, Q., *et al.* (2020). Single-cell RNA sequencing of human kidney. *Scientific Data*, 7: 4.
- Litviňuková, M., Talavers-López C., Maatz, H., Reichart, D., Worth, C. L., Lindberg, E. L., Kanda, M., Polanski, K., *et al.* (2020). Cell of the adult human heart. *Nature*, 1-12.
- Liu, Z., Moore, P. H., Ma, H., Ackerman, C. M., Ragiba, M., Yu, Q., Pearl, H. M., Kim, M. S., Charlton, J. W., Stiles, J. I., Zee, F. T., Paterson, A. H. & Ming, R. (2004). A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosomes evolution. *Science*, 427(6972): 348-352.
- Liu, W., Li, N., Zhang, M., Liu, Y., Sun, j., Zhang, S., Peng, S. & Hua, J. (2020). Eif2s3y regulates the proliferation of spermatogonial stem cell via Wnt6/catenin signaling pathway. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, 1867(10): 118790.
- Livernois, A. M., Gravez, J. A. M. & Waters, P. D. (2012). The origin and evolution of vertebrate sex chromosomes and dosage compensation. *Heredity*, 108(1):50-8.
- Lodato, M A., Rodin, R. E., Bohrson, C. L., Coulter, M. E., Barton, A. R., Kwon, M., Sherman, M. A., Vitzthum, C. M., *et al.* (2018). Aging and neurodegeneration are associated with increased mutations in single human neurons. *Science*, 359: 555-559.
- Lofffield, E., Zhou, W., Graubard, B. I., Yeager, M., Chanock, S. J., Freedman, N. D. & Machiela, M. J. (2018). Predictors of mosaic chromosome Y loss and associations with mortality in the UK Biobank. *Scientific Reports*, 8(1): 1-10.

- Lofffield, E., Zhou, W., Yeager, M., Chanock, S. J., Freedman, N. D. & Machiela, M. J. (2019). Mosaic Y loss is moderately associated with solid tumor risk. *Cancer Research*, 79(3): 461-466.
- Lombard, D. B., Chua, K. F., Mostoslavsky, R., Franco, S., Gostissa, M. & Alt, F. W. (2005). DNA repair, genome stability, and aging. *Cell*, 120: 497-512.
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153: 1194-1217.
- Lukas, D. & Huchard, E. (2014). The evolution of infanticide by males in mammalian societies. *Science*, 346(6211): 841-844.
- Lukassen, S., Bosch, E., Erci, A. B. & Winterpacht, A. (2018). Single-cell RNA sequencing of adult mouse testes. *Scientific Data*, 5: 180192.
- Ly, P., Teitz, L. S., Kim, D. H., Shoshani, O., Skaletsky, H., Fachinetti, D., Page, D. C. & Cleveland, D. W. (2016). Selective Y centromere inactivation triggers chromosome shattering in micronuclei and repair by non-homologous end joining. *Nature Cell Biology*, 19(1): 68-75.
- Ly, P., Brunner, S. F., Shoshani, O., Kim, D. H., Lan, W., Pyntikova, T., Flanagan, A. M., Behjati, S., *et al.* (2019). Chromosome segregation errors generate a diverse spectrum of simple and complex genomic rearrangements. *Nature Genetics*, 51(4): 705-715.
- Ma, S., Sun, S., Geng, L., Song, M., Wang, W., Ye, Y., Ji, Q., Zhou, Z., Wang, S., He, X., *et al.* (2020). Caloric restriction reprograms the single-cell transcriptional landscape of *Rattus norvegicus* aging. *Cell*, 180(5): 984-1001.
- Maan, A., Eales, J., Akbarov, A., Rowland, J., Xu, X., Jobling, M. A., Charchar, F. J. & Tomaszewski, M. (2017). The Y chromosome: a blueprint for men's health?. *European Journal of Human Genetics*, 25: 1181-1188.
- Machiela, M. J. & Chanock, S. J. (2013). Detectable clonal mosaicism in the human genome. *Seminars in Hematology*, 50(4): 348-359.

- Machiela, M. J., Zhou, W., Sampson, J. N., Dean, M. C., Jacobs, K. B., Black, A., Briton, L., Chang, I. S., *et al.* (2015). Characterization of large structural genetic mosaicism in human autosomes. *The American Journal of Human Genetics*, 96(3): 487-497.
- Machiela, M. J., Zhou, W., Karlins, E., Sampson, J. N., Freedman, N. D., Yang, Q., Hicks, B., Dagnall, C., *et al.* (2016). Female chromosome X mosaicism is age-related and preferentially affects the inactivated X chromosome. *Nature Communications*, 7:11843.
- Machiela, M. J. & Chanock, S. J. (2017). The ageing genome, clonal mosaicism and chronic disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 42: 8-13.
- Machiela, M. J., Zhou, W., Caporaso, N., Dean, M., Gapstur, S. M., Goldin, L., Rothman, N., Stevens, V. L., Yeager, M. & Chanock, S. J. (2017a). Mosaic chromosome 20q deletions are more frequent in the aging population. *Blood Advances*, 1(6): 380-385.
- Machiela, M. J., Dagnall, C. L., Pathak, A., Loud, J. T., Chanock, S. J., Greene, M. H., McGlynn, K. A. & Stewart, D. R. (2017b). Mosaic chromosome Y loss and testicular germ cell tumor risk. *Journal of Human Genetics*, 62(6): 637-640.
- Machiela, M. J., Jassop, L., Zhou, W., Yeager, M. & Chanock, S. (2017c). Characterization of breakpoint regions of large structural autosomal mosaic events. *Human Molecular Genetics*, 26(22): 4388-4394.
- Machiela, M. J. (2019). Mosaicism, aging and cancer. *Current Opinion in Oncology*, 31(2): 108-113.
- Madabhushi, R., Geo, F., Pfenning, A. R., Pan, L., Yamakawa, S., Seo, J., Rueda, R., Phan, T., *et al.* (2015). Activity-Induced DNA breaks govern the expression of neuronal early-response genes. *Cell*, 161(7): 1592-1605.
- Maklakov, A. A. & Lummaa, V. (2013). Evolution of sex differences in lifespan and aging: causes and constraints. *Bioessays*, 35(8): 717-724.
- Mank, J. E. (2013). Sex chromosome dosage compensation: definitely not for everyone. *Trends in Genetics*, 29(12): 677-683.

- Marais, G. A. B., Gaillard, J. M., Vieira, C., Plotton, I., Sanlaville, D., Gueyffier, F. & Lemaitre, J.F. (2018). Sex gap in aging and longevity: can sex chromosomes play a role?. *Biology of Sex Differences*, 9(1): 33.
- Marin, R., Cortez, D., Lamanna, F., Pradeepa, M., Leushkin, E., Julien, P., Liechti, A., Halbert, J., *et al.* (2017). Convergent origination of a Drosophila-like dosage compensation mechanism in a reptile lineage. *Genome Research*, 27(12): 1974-1987.
- Martin, G. M., Ogburn, C. E., Colgin, L. M., Gown, A. M., Edland, S. D. & Monnat, R. J. (1996). Somatic mutations are frequent and increase with age in human kidney epithelial cells. *Human Molecular Genetics*, 5(2): 215-221.
- Martincorena, I. & Campbell, P. J. (2015). Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science*, 349(6255): 1483-1489.
- Martincorena, I., Fowler, J. C., Wabik, A., Lawson, A. R., Abascal, F., Hall, M W., Cagan, A., Murai, K., *et al.* (2018). Somatic mutant clones colonize the human esophagus with age. *Science*, 362: 911-917.
- Martincorena, I. (2019). Somatic mutation and clonal expansions in human tissues. *Genome Medicine*, 11(1): 11-13.
- Martínez-Pacheco, M., Tenorio, M., Almonte, L., Fajardo, V., Godínez, A., Feernández, D., Cornejo-Páramo, P., Díaz-Barba, K., Halbert, J., Liechti, A., Székely, T., Urrutiia, 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.
- Mauvais-Jarvis, F., Merz, N. B., Barnes, P., Brinton, R. D., Carrero, J. J., DeMeo, D. L., De Vries, G., Epperson, C. N., *et al.* (2020). Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. *The Lancet*, 396: 565-582.
- Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C. E., Shibata, N., *et al.* (2002). DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, 417(6888): 559-563.
- Mazeyrat, S., Saut, N., Grigoriev, V., Mahadevaiah, S. K., Ojarikre, O. A., Rattiga, A., Bishop, C., Eicher, E. M., Mitchell, M. J. & Burgoyne, P. S. (2001). A Y-encoded subunit of the

- translation initiation factor Eif2 is essential for mouse spermatogenesis. *Nature Genetics*, 29(1): 49-53.
- MacArthur, J., Bowler, E., Cerezo, M., Gil, L., Hall, P., Hastings, E., Junkins, H., McMahon, A., Milano, A., *et al.* The new NHGRI-EBI catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog). *Nucleic Acids Research*, 45: D896-D901.
- McConnell, M. J., Moran, J. V., Abyzov, A., Akbarian, S., Bae, T., Cortes-Ciriano, I., Erwin, J. A., Fasching, L., *et al.* (2017). Intersection of diverse neuronal genomes and neuropsychiatric disease: The Brain Somatic Mosaicism Network. *Science*, 356(6336): eaal1641.
- McIntosh, J. R. (2016). Mitosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8: a023218.
- Meester, I., Manilla-Muñoz, E., León-Cachón, R. B. R., Paniagua-Frausto, G. A., Carrión-Alvarez, D., Ruiz-Rodríguez, X. & García-Martínez, J. M. (2020). SeXY chromosomes and the immune system: reflections after a comparative study. *Biology of Sex Differences*, 11(1): 3.
- Meyfour, A., Pooyan, P., Pahlavan, S., Rezaei-Tavirani, M., Gourabi, H., Beharvant, H. & Salekdeh, G. H. (2017a). Chromosome-centric human proteome project allies with developmental biology: a case study of the role of Y chromosome genes in organ development. *Journal of Proteome Research*, 16(12): 4259-4272.
- Meyfour, A., Ansari, H., Pahlavan, S., Mirshahvaladi, S., Rezaei-Tavirani, M., Gourabi, H., Baharvand, H. & Salekdeh, G. H. (2017b). Y chromosome missing protein, TBL1Y, may play an important role in cardiac differentiation. *Journal of Proteome Research*, 16(12): 4391-4402.
- Meyfour, A., Pahlavan, S., Ansari, H., Baharvand, H. & Salekdeh, G. H. (2019). Down-regulation of male-specific H3K4 demethylase, KDM5D, impairs cardiomyocyte differentiation. *Journal of Proteome Research*, 18(12): 4277-4282.
- Minner, S., Kilgué, A., Stahl, P., Weikert, S., Rink, M., Dahlem, R., Fisch, M., Höppner, W., *et al.* (2010). Y chromosome loss is a frequent early event in urothelial bladder cancer. *Pathology*, 42(4): 356-359.

- Mithani, S. K., Smith, I. M. & Califano, J. A. (2011). Use of integrative epigenetic and cytogenetic analyses to identify novel tumor suppressor genes in malignant melanoma. *Melanoma Research*, 21(4): 298-307.
- Molina, E., Chew, G. S., Myers, S. A., Clarence, E. M., Eales, J. M., Tomaszewski, M. & Charchar, F. (2017). A novel Y-specific long non-coding RNA associated with cellular lipid accumulation in HepG2 cells and atherosclerosis-related genes. *Scientific Reports*, 7(1): 16710.
- Morgan, A. P. & Pardo-Manuel, F. V. (2017). Sequence and structural diversity of mouse Y chromosomes. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12): 3186-3204.
- Munro, S., Oppermann, U. & Thangue, N. B. (2014). Pleiotropic effect of somatic mutations in the E2F subunit DP-1 gene in human cancer. *Oncogene*, 33(27): 3594-3603.
- Nadasdi, T., Laszik, Z., Blink, K., Johnson, L D. & Silva, F. G. (1994). Proliferative activity of intrinsic cell populations in the normal human kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 4(12): 2032-2039.
- Nakagawa, S. & FitzHarris, G. (2017). Intrinsically defective microtubule dynamics contribute to age-related chromosome segregation errors in mouse oocyte meiosis-I. *Current Biology*, 27(7): 1040-1047.
- Naqvi, S., Godfrey, A. K., Hughes, J. F., Goodheart, M. L., Mitchell, R. N. & Page, D. C. (2019). Conservation, acquisition, and functional impact of sex-biased gene expression in mammals. *Science*, 365(249): eaaw7317.
- Nasiri, H., Forouzandeh, M., Rasaei, M. J. & Rahbarizadeh, F. (2005). Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 19(6): 229-232.
- Nei, M., Xu, P. & Glazko, G. (2001). Estimation of divergence times from multiprotein sequences for a few mammalian species and several distantly related organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 98(5): 2497-2502.

- Nguyen, A. H. & Bachtrog, S. (2020). Toxic Y chromosome: increased repeat expression and age-associated heterochromatin loss in male *Drosophila* with a young Y chromosome. *BioRxiv*.
- Nigg, E. A. (2001). Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2: 21-32.
- Noveski, P., Madjunkova, S., Sukarova, E., Geshkovska, N. M., Kuzmanovska, M., Dimovski, A. & Plaseska-Karanfilska, D. (2016). Loss of Y chromosome in peripheral blood of colorectal and prostate cancer patients. *Plos One*, 11(1): e0146264.
- Olito, C. & Abbott, J. (2020). The evolution of suppressed recombination between sex chromosomes by chromosomal inversions. *BioRxiv*.
- Oliva, M., Muñoz-Aguirre, M., Kim-Hellmuth, S., Wucher, V., Gewirtz, A. D. H., Cotter, D. J., Parsana, P., Kasela, S., *et al.* (2020). The impact of sex on gene expression across human tissues. *Science*, 369(6509):1331.
- Oluwole, O. A., Revay, T., Mahboubi, K., Favetta, L. A. & King, W. A. (2016). Somatic mosaicism in bulls estimated from genome-wide CNV array and TSPY gene copy numbers. *Cytogenetic and Genome Research*, 149: 176-181.
- Oluwole, O. A., Manhoubi, K., Favetta, L. A., Revay, T., Kroetsch, T. & King, W. A. (2017). Highly dynamic temporal changes of TSPY gene copy number in aging bulls. *Plos One*, 12(5): e0178558.
- Osorio, F. G., Huber, A. R., Oka, R., Verheul, M., Patel, S. H., Hasaart, K., de la Fonteijne, L., Varela, I., Camargo, F. D. & van Boxtel, R. (2018). Somatic mutations reveal lineage relationships and age-related mutagenesis in human hematopoiesis. *Cell Reports*, 25: 2308-2316.
- Pérez-Jurado, L. A., Cáceeres, A., Esko, T. & González, J. R. (2020). Immune defects and cardiovascular risk in X chromosome monosomy mosaicism mediated by loss of chromosomes Y. A risk factor for SARS-CoV-2 vulnerability in elderly men?. *MedRxiv*.

- Pfau, S. J., Silberman, R. E., Knouse, K. A. & Amon, A. (2016). Aneuploidy impairs hematopoietic stem cell fitness and is selected against in regenerating tissues in vivo. *Genes & Development*, 30(12): 1395-1408.
- Pierre, R. V. & Hoagland, H. C. (1972). Age-associated aneuploidy: loss of Y chromosome from human bone marrow cells with aging. *Cancer*, 30(4): 889-894.
- Piotrowski, A., Bruder, C. E. G., Andersson, R., de Stahl, T. D., Menzel, U., Sandgren, J., Poplawski, A., von Tell, D., Castro, C., *et al.* (2008). Somatic mosaicism for copy number variation in differentiated human tissues. *Human Mutation*, 29(9): 1118-1124.
- Pipoly, I., Bókony, V., Kirkpatrick, M., Donald, P. F., Székely, T. & Liker, A. (2015). The genetic sex-determination system predicts adult sex ratios in tetrapods. *Nature*, 527(7576): 91-94.
- Ponnikas, S., Sigeman, H., Abbott, J. K. & Hansson. (2018). Why do sex chromosomes stop recombining?. *Trends in Genetics*, 34(7): 492-503.
- Prokop, J. W., Underwood, A. C., Turner, M. E., Miller, N., Pietrzak, D., Acott, S., Smith, C. & Milsted, A. (2013). Analysis of Sry duplications on the *Rattus norvegicus* Y-chromosome. *BMC Genomics*, 14: 792.
- Prósper, F. & Verfaillie, C. M. (2003). Células madre adultas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(3): 345-356.
- Rathje, C. C., Johnson, E. E. P., Drage, D., Patinioti, C., Silvestri, G., Affara, N. A., Ialy-Radio, C., Cocquet, J., *et al.* (2019). Differential sperm motility mediates the sex ratio drive shaping mouse sex chromosome evolution. *Current Biology*, 29(21): 3692-3698.
- Rehen, S. K., Yung, Y. V., McCreight, M. P., Kaushal, D., Yang, A. H., Almeida, B. S. V., Kingsbury, M. A., Cabral, K. M. S., *et al.* (2005). Constitutional aneuploidy in the normal human brain. *The Journal of Neuroscience*, 25(9): 2176-2180.
- Rengaraj, D., Kwin, W. S. & Pang, M. G. (2015). Bioinformatics annotation of human Y chromosome-encoded protein pathways and interactions. *Journal of Proteome Research*, 14(9): 3503-3518.

- Rickie, R. M. & van Deursen, J. M. (2013). Aneuploidy in health, disease, and aging. *Journal of Cell Biology*, 201(1): 11-21.
- Ricklefs, R. E. (2010). Life-history connections to rates of aging in terrestrial vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(22): 10314-10319.
- Rodríguez-Gómez, A. J. & Frias-Vázquez, S. (2014). La mitosis y su regulación. *Acta Pediátrica de México*, 35(1): 55-86.
- Rogers, N. M., Ferenbach, D. A., Isenberg, J. S., Thomson, A. W. & Hughes, J. (2014). Dendritic cells and macrophages in the kidney: a spectrum of good and evil. *Nature Reviews Nephrology*, 10(11): 625-643.
- Rondinelli, B., Schwerer, H., Antonini, E., Gaviraghi, M., Lupi, A., Frenquelli, M., Cittaro, D., Segalla, S., Lemaitre, J. M. & Tonon, G. (2015). H3K4me3 demethylation by the histone demethylase KDM5C/JARID1C promotes DNA replication origin firing. *Nucleic Acids Research*, 43(5): 2560-2574.
- Ronen, D. & Benvenisty, N. (2014). Sex-dependent gene expression in human pluripotent stem cells. *Cell Reports*, 8(4): 923-932.
- Rowland, J., Akbarov, A., Eales, J., Xu, X., Dormer, J. P., Guo, H., Denniff, M., Jiang, X., et al. (2019). Uncovering genetic mechanisms of kidney aging through transcriptomics, genomics, and epigenomics. *Kidney International*, 95(3): 624-635.
- Rozen, S., Skaletsky, H., Marszalek, J. D., Minx, P., Cordum, H. S., Waterston, R. H., Wilson, R. K. & Page, D. C. (2003). Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes. *Nature*, 423(6942): 873-876.
- Rozhok, A. & DeGregori, J. (2016). The evolution of lifespan and age-dependent cancer risk. *Trends Cancer*, 2(10): 552-650.
- Sabath, N., Itescu, Y., Feldman, A., Meiri, S., Mayrose I. & Valenzuela, N. (2016). Sex determination, longevity, and the birth and death of reptilian species. *Ecology and Evolution*, 6(15): 5207-5220.

- Santaguida, S., Richardson, A., Iyer, D. R., M'Saad, ON., Zasadil, L., Knouse, K. A., Wong, Y. L., Rhind, N., Desai, A. & Amon, A. (2017). Chromosome mis-segregation generates cell-cycle-arrested cells with complex karyotypes that are eliminated by the immune system. *Developmental Cell*, 41(6): 638-651.
- Sansregret, L. & Swanton, C. (2017). The role of aneuploidy in cancer evolution. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7: a028373.
- Sanada, F., Taniyama, Y., Muratsu, J., Otsu, R., Shimizu, H., Rakugi, H. & Morishita, R. (2018). Source of chronic inflammation in aging. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5: 12.
- Sarungbam, J., Mehra, R., Tomlins, S. A., Smith, S. C., Jayakumaran, G., Ahmadie, H. A., *et al.* (2019). Tubulocystic renal cell carcinoma: a distinct clinicopathologic entity with a characteristic genomic profile. *Morden Pathology*, 32(5): 707-709.
- Scelo, G., Li, P., Chanudet, E. & Muller, D. C. (2017). Variability of sex disparities in cancer incidence over 30 Years: The Striking Case of Kidney Cancer. *European Urology Focus*, 4(4): 586-590.
- Schaum, N., Lehallier, B., Hahn, O., Pálovics, R., Hosseinzadeh, S., Lee, S. E., Sit, D., Lee, D. P., *et al.* (2020). Ageing hallmarks exhibit organ-specific temporal signatures. *Nature*, 583(7817): 596-602.
- Schmalbrunch, H. & Lewis, D. M. (2000). Dynamics of nuclei of muscle fibers and connective tissue cells in normal and denervated rat muscles. *Muscle and Nerve*, 23(4): 617-626.
- Sebé-Pedrós, A., Chomsky, E., Pang, K., Lara-Astiaso, D., Gaiti, F., Mukamel, Z., Amit, I., Hejnol, A., Degnan, B. M. & Tanay, A. (2018a). Early metazoan cell type diversity and the evolution of multicellular gene regulation. *Nature Ecology and Evolution*, 2: 1176-1188.
- Sebé-Pedrós, A., Saudemont, B., Chomsky, E., Plessier, F., Mailhé, M. P., Renno, J., Loe-Mie, Y., Lifshitz, A., *et al.* (2018b). Cnidarian cell type diversity and regulation revealed by whole-organism single-cell RNA-seq. *Cell*, 173(6): 1520-1534.

- Seim, I., Ma, S. & Gladyshev, V. N. (2016). Gene expression signatures of human cell and tissue longevity. *NPJ Aging and Mechanisms of Disease*, 2; 16014.
- Shami, A. N., Zheng, X., Munyoki, S. K., Ma, Q., Manske, G. L., Green, C. D., Sukhwani, M., Orwig, K. E., Li, J. Z. & Hammoud, S. S. (2020). Single-cell RNA sequencing of human, macaque, and mouse testes uncovers conserved and divergent. Feature of mammalian spermatogenesis. *Developmental cell*, 54(4): 529-547.
- Shan, X., Roberts, C., Kim, E. J., Brenner, A., Grant, G. & Percec, I. (2017). Transcriptional and cell cycle alterations mark aging of primary human adipose-derived stem cells. *Stem Cells*, 35(5): 1392-1401.
- Shattuck, M. R. & Williams, S. A. (2010). Arboreality has allowed for the evolution of increased longevity in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(19) 4635-4639.
- Si, H., Banga, R. S., Kapitsinou, P., Ramaiah, M., Lawrence, J., Kambhampati, G., Gruenwald, A., Bottinger, E., *et al.* (2009). Human and murine kidneys show gender- and species-specific gene expression differences in response to injury. *Plos One*, 4(3): e4802.
- Shirleen-Soh, Y. Q., Alföldi, J., Pyntikova, T., Brown, L. G., Gravez, T., Minx, P. J., *et al.* (2014). Sequencing the mouse Y chromosome reveals convergent gene acquisition and amplification on both sex chromosomes. *Cell*, 159(4): 800-813.
- Shun-Hong, L., Loftfield, E., Sampson, J. N., Zhou, W., Yeager, M., Freedman, N. D., Chanock, S. J. & Machiela, M. J. (2020). Mosaic chromosome Y loss is associated with alterations in blood cell counts in UK Biobank men. *Scientific Reports*, 10: 3655.
- Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P., Cordum, H. S., Hillier, L., Brown, L. G., Repping, S., Pyntikova, T., Ali, J., *et al.* (2003). The male-specific region of human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 423(6942): 825-837.
- Sliwinska, E. B., Martyka, R. & Tryjanowski, P. (2016). Evolutionary interaction between W/Y chromosome and transposable elements. *Genetica*, 144(3): 267-278.
- Snell, D. M. & Turner, J. M. A. (2018). Sex chromosome effects on Male-Female differences in mammals. *Current Biology*, 28(22): R1313-R1324.

- Snyder-Mackler, N., Burger, J. R., Gaydos, L., Belsky, D. W., Noppert, G. A., Campos, F. A., Bartolomucci, A., Yang, Y. C., *et al.* (2020). Social determinants of health and survival in humans and other animals. *Science*, 368(6493): 843.
- Spalding, K. L., Bhardwaj, R. D., Buchholz, B. A., Druid, H., & Frisén, J. (2005). Retrospective birth dating of cells in humans. *Cell*, 122(1): 133-143.
- Spalding, K. L., Arner, E., Westermarck, P. O., Bernard, S., Buchholz, B. A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., *et al.* (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, 453(7196): 783-787.
- Stark, G., Picheira-Donoso, D. & Meiri, S. (2020). No. Evidence for the ‘rate-of-living’ theory across the tetrapod tree of life. *Global Ecology and Biogeography*, 29(5): 857-884.
- Steinemann S. & Steinemann M. (2005). Y chromosomes: born to be destroyed. *BioEssays*, 27(10): 1076-1083.
- Strauss, E. D., Daizaburro, S. & Holekamp, K. E. (2020). Juvenile rank acquisition is associated with fitness independent of adult rank. *Proceedings of the Royal Society B*, 287: 20192969.
- Sultanova, Z., Downing, P. A. & Carazo, P. (2020). Genetic sex determination and sex-specific lifespan in tetrapods – evidence of a toxic Y effect. *BioRxiv*.
- Taleahmad, S., Alikhani, M., Mollamohammadi, S., Yousefi, M., Taei, A., Hassani, S. N., Baharvand, H., Salekdeh, G. H. (2019). Inhibition of human Y chromosome gene, SRY, promotes naïve state of human pluripotent stem cells. *Journal of Proteome Research*, 18(12): 4254-4261.
- Tang, J., Fewings, E., Chang, D., Zeng, H., Liu, S., Jorapur, A., Belote, R. L., McNeal, A. S., *et al.* The genomic landscapes of individual melanocytes from human skin. *Nature*, 586(7830): 600-605.
- Terao, C., Momozawa, Y., Ishigaki, K., Kawakami, E., Akiyama, M., Loh, P. R., Genovese, G., Sugishita, H., *et al.* (2019). GWAS of mosaic loss of chromosome Y highlights genetic effects on blood cell differentiation. *Nature Communications*, 10:4719.

- Thomasova, D. & Anders, H. J. (2015). Cell cycle control in the kidney. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(10): 1622-1630.
- Thompson, S. L. & Compton, D. A. (2011). Chromosome missegregation in human cells arise through specific types of kinetochore-microtubule attachment errors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 108(44): 17974-17978.
- Thompson, D. J., Genovese, G., Halvardson, J., Ulirsch, J. C., Wright, D. J., Terao, C., Davidsson, O. B., Day, F. R., *et al.* Genetic predisposition to mosaic Y chromosome loss in blood. *Nature*, 575(7784): 652-657.
- Tidière, M., Badruna, A., Fouchet, D., Gaillard, J. M., Lemaître, J. F. & Pontier, D. (2020). Pathogens shape sex differences in mammalian aging. *Trends in Parasitology*, 36(8): 668-676.
- Tierney, M. T., Stec, M., Rulands, S., Simons, B. D., Sacco, A. (2018). Muscle stem cells exhibit distinct clonal dynamics in response to tissue repair and homeostatic aging. *Cell Stem Cell*, 22(1): 119-127.
- Tomasetti, C. & Vogelstein, B. (2015). Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science*, 347(6217): 78-81.
- Tomasetti, C., Li, L. & Vogelstein, B. (2017). Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, 355(6331): 1330-1334.
- Tricola, G. M., Simons, M. J., Atema, E., Boughton, R. K., Brown, J. L., Dearborn, D. C., Divoky, G., Eimes, J. A., *et al.* (2018). The rate of telomere loss is related to maximum lifespan in birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences*, 373(1741): 20160445.
- Tukiainen, T., Villani, A. C., Yen, A., Rivas, M. A., Marshall, J. L., Sajita, R., Aguirre, N., *et al.* (2017). Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature*, 550(7675): 244-248.
- Tung, J. C., Paige, S. L., Ratner, B. D., Murry, C. E. & Giachelli, C. M. (2014). Engineered biomaterials control differentiation and proliferation of human-embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes via timed Notch activation. *Stem Cell Reports*, 2(3): 271-281.

- Tung, J., Archie, E. A., Altamann, J. & Alberts, S. C. (2016). Cumulative early life adversity predicts longevity in wild baboons. *Nature Communications*, 7: 11181.
- Vakilian, H., Mirzaei, M., Tabar, M. S., Pooyan, P., Rezaee, L. H., Parker, L., Haynes, P. A., Gourabi, H., Baharvand, H. & Salekdeh, G. H. (2015). DDX3Y, a male-specific region of Y chromosome gene, may modulate neuronal differentiation. *Journal of Proteome Research*, 14(9): 3474-3483.
- Vermeulen, K., Berneman, W. N. & Van Bockstaele, D. R. (2003). Cell cycle and apoptosis. *Cell Proliferation in Basic and Clinical Sciences*, 36(3): 165-175.
- Veyrunes, F., Water, P. D., Miethke, P., Rens, W., McMillan, D., Alsop, A. E., Grützner, F., Deakin, J. E., *et al.* (2008). Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Research*, 18(6):965-973.
- Vickaryous, M. K. & Hall, B. K. (2006). Human cell type diversity, evolution, development, and classification with special reference to cells derived from the neural crest. *Biological Reviews Cambridge Philosophical Society*, 81(3): 425-455.
- Vijg, J. & Suh, Y. (2013). Genome instability and aging. *The Annual Review of Physiology*, 75: 645-668.
- Vijg, J. (2014). Somatic mutations, genome mosaicism, cancer and aging. *Current Opinion in Genetics & Development*, 26: 141-149.
- Vijg, J. & Montagna, C. (2017). Genome instability and aging: cause or effect?. *Translational Medicine of Aging*, 1: 5-11.
- Vijg, J. & Dong, X. (2020). Pathogenic mechanisms of somatic mutation and genome mosaicism in aging. *Cell*, 182(1): 12-23.
- Walkins, T. B. K., Lim, E. L., Petovic, M., Elizalde, S., Birkbak, N. J., Eilson, G. A., Moore, D. A., Grönroos, E., *et al.* (2020). Pervasive chromosomal instability and karyotype order in tumour evolution. *Nature*, 587(7832): 126-132.
- Wallrapp, C., Hähnel, S., Boeck, W., Soder, A., Mincheva, A., Lichter, P., IEDER, g., Gansauge, F., Sorio, C., Scarpa, A. & Gress, T. (2001). Loss of the Y chromosome is a

- frequent chromosomal imbalance in pancreatic cancer and allows differentiation to chronic pancreatitis. *International Journal of Cancer*, 91(3): 340-344.
- Walsh, S., Pontén, A., Fleischmann, B. K. & Jovinge, S. (2010). Cardiomyocyte cell cycle control and growth estimation in vivo – an analysis based on cardiomyocyte nuclei. *Cardiovascular Research*, 86(3): 365-73.
- Waters, P. D., Wallis, M. C. & Marshall-Graves, J. A. (2007). Mammalian sex: origin and evolution of the Y chromosome and SRY. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 18: 389-400.
- Wei, P. C., Chang, A. N., Kao, J., Du, Z., Meyers, R. M., Alt, F. W. & Schwer, B. (2016). Long neural genes harbor recurrent DNA break clusters in neural stem/progenitor cells. *Cell*, 164(4): 644-655.
- Wei, K. H. C., Gibilisco, L. & Bachtrog, D. (2020). Epigenetic conflict on a degenerating Y chromosome increases mutational burden in *Drosophila* males. *Nature Communications*, 11: 5537.
- West, H. E. R. & Capellini, I. (2016). Male care and life history traits in mammals. *Nature Communications*, 7: 11854.
- Whittemore, K., Martínez-Nevado, E. & Blasco, M. A. (2019a). Slower rates of accumulation of DNA damage in leukocytes correlate with longer lifespans across several species of birds and mammals. *Aging*, 11: 9829-9845.
- Whittemore, K., Vera, E., Martínez-Nevado, E., Sanpera, C. & Blasco, M. A. (2019b). Telomere shortening rate predicts species life span. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 116(30): 15122-15127.
- Wilson, D.E. y Reeder, D.M. (1993). Mammalian species of the world: a taxonomic and geographic reference. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. EUA.
- Wong, J. Y. Y., Margolis, H., Machiela, M., Zhou, W., Odden, M. C., Psaty, B. M., Robbins, J., Jones, R. R., *et al.* (2018). Outdoor air pollution and mosaic loss of chromosome Y in older men from the Cardiovascular Health Study. *Environment International*, 116: 239-247.

- Wright, A., Dean, R., Zimmer, F. & Mank, J. E. (2016). How to make a sex chromosome. *Nature Communications*, 7: 12087.
- Wright, D., Day, F. R., Kerrison, N. D., Zink, F., Cardona, A., Sulem, P., Thompson, D. J., *et al.* (2017a). Genetic variants associated with mosaic Y chromosome loss highlight cell cycle genes and overlap with cancer susceptibility. *Nature Genetics*, 49(5):674-679.
- Wright, A. E., Darolti, L., Bloch, N., Oostra, V., Sandkam, B., Buechel, S., Kolm, N., Breden, F., Vicoso, B. & Mank, J. E. (2017b). Convergent recombination suppression suggests role of sexual selection in guppy sex chromosome formation. *Nature Communications*, 8: 14251.
- Xia, B., Yan, Y., Baron, M., Alikal, J. P., Boeke, J. D. & Yanai, I. (2020). Widespread transcriptional scanning in the testis modulates gene evolution rates. *Cell*, 180(2): 248-262.
- Xie, M., Lu, C., Wang, J., McLellan, M. D., Johnson, K., Wendl, M. C., McMichael, J. F., Schmidt, H. K., *et al.* (2014). Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nature Medicine*, 20(12): 1472-1478.
- Xirocostas, Z. A., Everingham, S. E. & Mols, A. T. (2020). The sex with the reduced sex chromosome dies earlier: a comparison across the tree of life. *Biology Letters*, 16(3): 20190867.
- Yang, Z., Jun, H., Choi, C., Hyun, Y., Cho, C. H., Hussaini, S. M. Q., Simmons, A., Kim, S., van Deursen, J. M., Baker, D. J. & Jang, M. (2017). Age-related decline in BubR1 impairs adult hippocampal neurogenesis. *Aging Cell*, 16: 598-601.
- Yamauchi, Y., Riel, J. M., Ruthing, V. A., Ortega, E. A., Mitchell, M. J. & Ward, M. A. (2016). Two genes substitute for the mouse Y chromosome for spermatogenesis and reproduction. *Science*, 351(6272): 514-516.
- Yizhak, K., Aguet, F., Kim, J., Hess, J. M., Kübler, K., Grimsby, J., Frazer, R., Zhang, H., Haradhvala, N. J., Rosebrock, D., *et al.* RNA sequence analysis reveals macroscopic somatic clonal expansion across normal tissues. *Science*, 364: 970.

- Youssoufian, H. & Pyeritz, R. E. (2002). Mechanism and consequences of somatic mosaicism in humans. *Nature Reviews Genetics*, 3(10): 748-758.
- Yuen-Wong, H., Wang, G. M., Croessmann, S., Zabransky, D. J., Chu, D., Garay, J. P., Cidado, J., Cochran, R. L., *et al.* (2015). TMSB4Y is a candidate tumor suppressor on the Y chromosome and is deleted in male breast cancer. *Oncotarget*, 6(42): 44927-44940.
- Zhan, S., Zhou, K., Luo, X., Li, L., Tu, H. C., Sehgal, A., Nguyen, L. H., Zhang, Y., Gopal, P., Tarlow, B. D., Siegwart, D. J. & Zhu, H. (2018). The polyploid state play a tumor-suppressive role in the liver. *Developmental Cell*, 44(4): 447-459.
- Zhang, L., Dong, X., Lee, M., Maslov, A., Wang, T. & Vijg, J. (2019). Single-cell whole-genome sequencing reveals the functional landscape of somatic mutations in B lymphocytes across the human lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(18): 9014-9019.
- Zhou, W., Machiela, M. J., Freedman, N. D., Nathaniel, R., Malats, N., Dagnall, C., Caporaso, N., Teras, L. T., Gaudet, M. M., Gapstur, S. M., *et al.* (2016). Mosaic loss of chromosome Y is associated with common variation near TCL1A. *Nature Genetics*, 48(5): 563-568.
- Zhou, W., Dinh, H., Ramjan, Z., Weisenberger, D. J., Nicolet, C. M., Shen, H., Laird, P. W. & Berman, B. P. (2018). DNA methylation loss in late-replicating domains is linked to mitotic cell division. *Nature Genetics*, 50(4): 591-602.
- Zink, F., Stacey, S. N., Norddahl, G. L., Frigge, M. L., Magnusson, O. T., Jonsdottir, I., Thorgeirsson, T. E., *et al.* (2017). Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. *Blood*, 130(6): 742-752.
- Zipori, D. (1992). The renewal and differentiation of hemopoietic stem cells. *The Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*, 6(9): 2691-2697.

GLOSARIO

Alelo. Una de dos o más formas alternativas de un gen.

Apoptosis. Proceso activo de muerte celular programada, caracterizado por la rotura del DNA cromosómico, la condensación de la cromatina y la fragmentación tanto del núcleo como de la célula.

Autosoma. Cromosoma distinto de un cromosoma sexual.

Célula madre. Célula progenitora que se divide continuamente durante toda la vida de un organismo.

Célula somática. Célula no reproductora; célula que se divide por mitosis.

Centrómero. Región adelgazada de un cromosoma que es la posición en la que se mantiene unido el par de cromátides.

Cinetocoro. Parte del centrómero a la que se unen los microtúbulos del huso.

Cromátide. Brazo de un cromosoma.

Cromosoma. Una de las estructuras DNA-proteína que contiene parte del genoma nuclear de un eucarionte.

Cromosomas homólogos. Dos o más cromosomas idénticos presentes en un solo núcleo.

Cromosoma sexual. Cromosoma que participa en la determinación del sexo.

DNA polimerasa. Enzima que sintetiza DNA.

DNA satélite. DNA repetitivo que forma una banda satélite en un gradiente de densidad.

Electroforesis. Separación de moléculas sobre la base de su carga eléctrica neta.

Elemento transponible. Elemento genético que se puede mover de una parte a otra en una molécula de DNA.

Gen. Segmento de DNA que contiene información biológica y por lo tanto codifica una molécula de ARN o polipéptido.

Genes homólogos. Genes que comparten un ancestro evolutivo común.

Genoma. Todo el complemento genético de un organismo vivo.

Haploinsuficiencia. Fenómeno por el cual algunos genes expresan un fenotipo anormal, cuando no se encuentran en la dosis génica adecuada

Heterocromatina. Cromatina relativamente condensada que se considera que contiene DNA que no está siendo transcrito.

Histona. Una de las proteínas básicas halladas en los nucleosomas.

Intrón. Región no codificante dentro de un gen discontinuo.

LINE (elemento nuclear largo y disperso). Tipo de repetición de todo el genoma, a menudo con actividad transponible.

Locus. Localización cromosómica de un marcador genético o de DNA.

Metilación de DNA. Término que se refiere a la modificación química del DNA por fijación de grupos metilo.

MicroRNA. Clase de RNA cortos que participan en la regulación de la expresión de los genes en los eucariontes y que actúan por una vía similar a la de interferencia por RNA.

Microsatélite. Tipo de polimorfismo de longitud de secuencias simples que comprende copias en tándem de, por lo general, unidades de repetición de dinucleótidos, trinucleótidos o tetranucleótidos.

Microtúbulo. Componente citoesquelético formado por la polimerización de la tubulina dando lugar a segmentos rígidos y huecos de aproximadamente 25 nm de diámetro.

Mitosis. Serie de eventos que dan como resultado la división nuclear.

Mutación. Alteración de la secuencia nucleotídicas de una molécula de DNA.

Oligonucleótido. Molécula de DNA de una sola cadena sintética corta.

p53. Factor de transcripción que detiene el ciclo celular en G₁ en respuesta a un DNA dañado y que se requiere para la apoptosis inducida por diferentes estímulos.

Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP). Mutación puntiforme que presentan algunos individuos de una población.

Pseudogén. Copia inactivada y por ende no funcional de un gen.

Recombinación homóloga. Recombinación entre dos moléculas de DNA de doble cadena, es decir, dos moléculas que comparten gran similitud de secuencias nucleotídicas.

Reparación al DNA. Procesos bioquímicos que corrigen mutaciones secundarias a errores de replicación y a efectos de agentes mutágenos.

Replicación del DNA. Síntesis de una nueva copia del genoma.

Retrogén. Duplicado de un gen que surge de la inserción de un pseudogén adyacente al promotor de un gen existente.

Retrotransposón. Repetición en todo el genoma. Con una secuencia similar a la de un genoma retroviral integrado y, posiblemente, con actividad de retrotransposición.

Secuenciación del DNA. Técnica para determinar el orden de nucleótidos de una molécula de DNA.

Segregación. Separación de cromosomas homólogos o miembros de pares de alelos, en gametos diferentes durante la meiosis.

Senescencia celular. Período de un linaje celular en el que las células están vivas pero ya no pueden dividirse.

Telómero. Extremo de un cromosoma eucarionte.

Transcripción. Síntesis de una copia ARN de un gen.

Transcriptoma. Todo el contenido de mRNA de una célula.

Transcrito. Copia de ARN de un gen.

Transposición. Movimiento de un elemento genético de un sitio a otro en la molécula de DNA.

Transposón. Elemento genético que se puede mover de una posición a otra dentro de una molécula de DNA.