



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Estudio Del Perfil De Metilación De ADN En
Pacientes Con Síndrome Progeroide Neonatal
(Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)**

Herman Fredy Barrera Torres, BSc

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2024

Estudio Del Perfil De Metilación De ADN En Pacientes Con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

Herman Fredy Barrera Torres, BSc

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magíster en Ciencias-Bioquímica

Director:

Gonzalo Humberto Arboleda Bustos MD. MSc. PhD.

Línea de Investigación:
Biología del envejecimiento

Grupo de Investigación:
Grupo de Investigación en Muerte Celular
Instituto de Genética

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2024

Dedicatoria

A Araminta Torres y Pedro Barrera, en reconocimiento a su afecto incondicional y apoyo constante a lo largo de este camino.

A mis hermanos por su apoyo constante durante la elaboración de esta tesis.

A Carlos Pinilla y Froggy, quienes hicieron este viaje aún más memorable y divertido.

El pasado nunca desaparece por completo, siempre deja una huella en nuestro presente.

J. M. Coetzee

Declaración de obra original

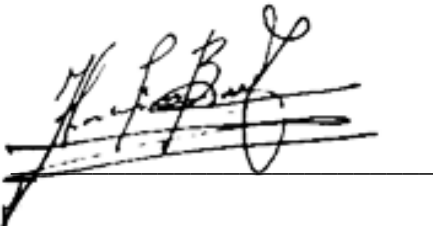
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Herman Fredy Barrera Torres', is written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

Nombre: Herman Fredy Barrera Torres

Fecha: 10 de Julio de 2024

Agradecimientos

Se expresa profundo agradecimiento al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por su invaluable apoyo financiero a esta investigación, mediante el proyecto titulado "Estudio Del Perfil De Metilación De ADN En Pacientes Con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)", correspondiente a la convocatoria 844-2019.

A la Universidad Nacional de Colombia y a su personal que en contribuyeron incondicionalmente en la realización de este proyecto.

A mis profesores de las asignaturas de maestría que me proveyeron de su conocimiento y colaboración.

A la facultad de Ciencias y al departamento de Química por su colaboración y acompañamiento.

Al Instituto de Genética, por su colaboración.

A la Universidad Militar Nueva Granada por invaluable colaboración y apoyo en la realización de este proyecto.

Al Doctor Gonzalo Arboleda por la colaboración, dirección y comprensión en el desarrollo de este trabajo.

A todos aquellos que contribuyeron positivamente en este proyecto.

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

Resumen:

El síndrome progeroide neonatal de Wiedemann-Rautenstrauch (SWR) se caracteriza por la manifestación de diversos signos de envejecimiento desde el nacimiento, con una esperanza de vida muy reducida, en promedio de 7 meses, lo que lo distingue de otros síndromes progeroides. La etiología del SWR se ha relacionado con mutaciones en el gen de la subunidad A de la ARN polimerasa III (POLR3A), crucial en la regulación de la expresión de ARN de transferencia (tARN), ARN ribosomal 5S (5SrARN), ARN nucleares pequeños (snARN) y otros, lo que resulta en una disminución de la funcionalidad del complejo ARN polimerasa III (POLR3) y alteraciones en la biogénesis ribosomal y la traducción de proteínas, entre otros procesos.

La mutación puntual en el gen POLR3A tiene un impacto considerable en el perfil de metilación de ADN de regiones y genes específicos, ocasionando una expresión anómala de genes y cambios en las dinámicas moleculares. En el caso de una paciente de 6 años (POLR3A: c. 3G>T), se observa hipometilación anormal en regiones del cuerpo del gen, mientras que en una paciente de 25 años (POLR3A: c. 3772 3773 del), se observa una tendencia hacia la hipermetilación en las regiones promotoras y del cuerpo del gen. La metilación anormal de genes debido a la mutación de POLR3A incide principalmente en las proteínas de membrana plasmática, alterando procesos celulares cruciales como la transducción de señales y la transcripción de ADN codificante. Los genes significativamente metilados inducen procesos de senescencia celular. La alteración de la metilación normal en dinucleótidos CpG por el SWR provoca una aceleración o desaceleración en la determinación de la edad biológica mediante el uso de relojes epigenéticos, lo cual es característico de un síndrome progeroide.

El estudio del SWR y sus implicaciones epigenéticas proporciona una oportunidad singular para comprender los procesos fisiopatológicos del envejecimiento humano. La identificación del gen y la vía metabólica asociada con este síndrome probablemente contribuirá a un nuevo conocimiento sobre la fisiopatología del envejecimiento humano, con potenciales implicaciones significativas en la investigación del envejecimiento en general.

Palabras clave: metilación de ADN, progeria, senescencia, transducción de señales, SWR,

Study of DNA Methylation Profile in Patients with Neonatal Progeroid Syndrome (Wiedemann-Rautenstrauch Syndrome)

Abstract:

The neonatal progeroid syndrome of Wiedemann-Rautenstrauch (SWR) is characterized by the manifestation of various aging signs from birth, with a greatly reduced life expectancy averaging 7 months, distinguishing it from other progeroid syndromes. The etiology of SWR has been linked to mutations in the gene encoding RNA polymerase III subunit A (POLR3A), crucial in the regulation of transfer RNA (tRNA), 5S ribosomal RNA (5SrRNA), small nuclear RNAs (snRNAs), and others, resulting in decreased functionality of RNA polymerase III (POLR3) complex and disruptions in ribosomal biogenesis and protein translation, among other processes.

The single-point mutation in the POLR3A gene has a considerable impact on the DNA methylation profile of specific genes and regions, causing anomalous gene expression and changes in molecular dynamics. In the case of a 6-year-old patient (POLR3A: c. 3G>T), the study observed abnormal hypomethylation in the gene body regions, while in a 25-year-old patient (POLR3A: c. 3772 3773 del), a tendency toward hypermethylation in promoter and gene body regions was observed. Abnormal gene methylation due to POLR3A mutation primarily affects plasma membrane proteins, disrupting crucial cellular processes such as signal transduction and DNA transcription coding. Significantly methylated genes induce cellular senescence processes. The alteration of normal methylation in CpG dinucleotides by SWR causes acceleration or deceleration in the determination of biological age through the use of epigenetic clocks, which is characteristic of a progeroid syndrome.

The study of SWR and its epigenetic implications provides a unique opportunity to understand the pathophysiological processes of human aging. The identification of the gene and the associated metabolic pathway with this syndrome will likely contribute to new knowledge of human aging pathophysiology, with potential significant implications for aging research in general

Keywords: DNA methylation, progeria, senescence, signal transduction, SWR

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

Contenido

Resumen:	6
Hipótesis	12
Objetivos.....	12
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos	12
Introducción	13
Síndrome Progeroide Neonatal Wiedemann-Rautenstrauch (SWR).....	14
Mutaciones de ARN Polimerasa Subunidad IIIA causante de SWR	15
Epigenética.....	16
Metilación de ADN.....	17
Metilación en ADN codificante.....	18
Metilación en genes no codificante.....	21
Metilación de ADN y envejecimiento.....	23
Senescencia.....	25
Metodología	27
Muestras de estudio	27
Secuenciación por bisulfito y cuantificación del nivel de metilación	28
Posiciones Diferencialmente Metiladas	29
Regiones Diferencialmente Metiladas.....	30
Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos de Genes.....	31
Resultados.....	33
Control de Calidad.....	33
Posiciones Diferencialmente Metiladas	35
Distribución de Posiciones Diferencialmente Metiladas por región genómica.....	37
Estado y proporción de DMPs por regiones genómicas específicas en pacientes SWR	38
Distribución de Regiones Diferencialmente Metiladas por cromosomas.....	41
Perfil de metilación por genes.....	42
Senescencia.....	45
Enriquecimiento de Términos de Ontología Génica (GO):.....	46
Relojes epigenéticos	51
Discusión	54
Hipermetilacion como respuesta a mutacion POLR3A.....	54
Análisis de DMPs por regiones genómicas.....	54
Cantidad de DMPs por regiones específicas varían en regiones de islas y mar abierto.....	55

DMRs en genes con tendencia a hipermetilación	57
Genes enriquecidos muestran efectos en la membrana plasmática y en procesos de transducción de señales.....	57
Genes significativamente metilados inducen a senescencia celular	60
Relojes epigenéticos	61
Conclusiones	64
Referencias Bibliográficas:.....	66

Índice de figuras

Figura 1. Características del envejecimiento (Tomado de Schmauck-Medina et al., 2022) ___	13
Figura 2. Diagrama de sitios CpG asociados a la densidad de islas CpG y loci. (Tomado de Kling & Carén, 2019)_____	20
Figura 3. Diagrama de sitios CpG en relación con regiones genéticas (sitios de inicio de transcripción (TSS1500 y TSS200), Regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR) y el cuerpo del gen. (Tomado de Kling & Carén, 2019) _____	21
Figura 4. Estructura de los genes dependientes de POLIII (Tomado de Yukawa, 2023). _____	22
Figura 5. Cambios en la metilación durante el envejecimiento y el cáncer. Se destaca un estado de hipometilación en las regiones promotoras de los genes en tejidos normales jóvenes. En cambio, en tejidos afectados por el envejecimiento o el cáncer, se observa una hipometilación en el cuerpo de los genes y en las repeticiones intragénicas (Tomado de Zane et al., 2014) _	23
Figura 6. Proceso de detección del estado de metilación mediante el chip Illumina Human Methylation EPIC Array (Tomado de Illumina, 2021)._____	29
Figura 7. Análisis de Componentes Principales (PCA) de las sondas metiladas del ADN en 2 muestras de SWR y 2 muestras control (1 replica biológica). _____	34
Figura 8. Mapa de calor que relaciona similitud del estado de metilación de las 749.969 sondas para cada una de las 8 muestras._____	35
Figura 9. Mapa de calor que representa 100 sitios con metilación diferencial significativamente elevada ($P < 0,05$) entre el grupo de control y el grupo SWR en ambas cohortes de edades. Las posiciones diferencialmente metiladas se distinguen en función de los valores B de metilación, revelando estados de hipermetilación (color naranja) e hipometilación (color azul). _____	36
Figura 10. Estado y proporción de DMPs por región cromosómica específica en pacientes SWR 6 años (a) y SWR 25 años (b) _____	40
Figura 11. Distribución de DMPs por cromosomas _____	41
Figura 12. Genes enriquecidos por DMRs wn muestras SWR de 6 y 25 años. _____	43
Figura 13. Superposición de genes diferencialmente metilados entre muestras de muestras SWR de 6 y 25 años. _____	44
Figura 14. Análisis de Ontología de Genes Significativamente Metilados (P -Valor $< 0,05$) según función biológica en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b) _____	47
Figura 15. Análisis de Ontología de genes significativamente metilados (P -Valor $< 0,05$) con respecto a procesos biológicos en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b) _____	49
Figura 16. Análisis de Ontología de Genes Significativamente Metilados (P -Valor $< 0,05$) por componente celular en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b) _____	51

Índice de Tablas

Tabla 1. Características Clínicas en Pacientes con SWR: Sexo, Edad, Mutación Genética, Variante Genética y Efecto Traduccional.....	<u>27</u>
Tabla 2. Clasificación de Relojes Epigenéticos según la Cantidad de CpG, Genes y Tejido de Detección.....	<u>32</u>
Tabla 3. Cantidad de genes significativamente metilados asociados a senescencia de las muestras SWR6 y SWR25, adicionalmente se señala la cantidad de genes con actividad inductora y represora de senescencia.....	<u>45</u>
Tabla 4. Porcentaje y cantidad de CpG omitidos por todas las muestras en la determinación de la edad cronológica mediante los relojes epigenéticos de Horvath, Hannum, Levine, Wu y de longitud telomérica.....	<u>52</u>
Tabla 5. Estimación de la edad biológica de los individuos mediante los relojes epigenéticos de Horvath, Hannum, Levine, Wu y de Longitud Telomérica.....	<u>53</u>
Tabla adicional 1. Genes significativamente metilados de muestras SWR 6 y SWR25.....	<u>78</u>

Hipótesis

En algunos síndromes progeroides se ha demostrado una alteración en los patrones de metilación en el ADN, lo cual genera una alteración en la expresión normal de los genes. Por tanto, en esta investigación se espera que en la muestra de sangre de pacientes con SWR se manifieste un estado de hipometilación/hipermetilación diferencial en regiones promotoras de transcripción, lo que se asociaría al fenotipo de envejecimiento.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el perfil de metilación de ADN en pacientes con síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch y contrastarlo con el perfil de metilación de ADN en pacientes control.

Objetivos Específicos

- 1) Identificar regiones en el ADN que presenten perfil de metilación diferencial en sangre de pacientes con el SWR y sangre de pacientes control.
- 2) Definir el estado de hipometilación/ hipermetilación en algunas de las regiones promotoras de genes específicos diferencialmente metilados en sangre de pacientes con SWR y en pacientes control.
- 3) Definir el efecto en componentes celulares, procesos biológicos y funciones moleculares del enriquecimiento de genes producto de SWR
- 4) determinar la edad biológica de las muestras SWR mediante la aplicación del método de relojes epigenéticos.

Introducción

El envejecimiento se define como un proceso progresivo y degenerativo en el cual la capacidad fisiológica celular experimenta una disminución gradual, acompañada de la acumulación de componentes celulares deteriorados (Carvalho & Lussi, 2017; Kipling et al., 2004; López-Otín et al., 2013) Estas alteraciones, tanto fisiológicas como estructurales, impactan directamente en la homeostasis celular, provocando efectos adversos en la integridad de tejidos y órganos. Como consecuencia, la salud global del organismo se reduce llegando finalmente a la muerte (Hodjat et al., 2020; Huidobro et al., 2013).

La investigación del proceso de envejecimiento humano desde la perspectiva de la biología molecular ha posibilitado la identificación de un conjunto de características que determinan su grado de severidad. Dentro de estas características se incluyen la inestabilidad genómica, la reducción en la longitud de los telómeros, las modificaciones epigenéticas, la pérdida de la proteostasis, la disminución de la detección de nutrientes, la disfunción mitocondrial, la senescencia celular, la alteración de la comunicación entre células, macroautofagia discapacitada, inflamación crónica y disbiosis (Atzmon, 2015; Gilbert & Swift, 2019; Hennekam, 2020; Schmauck-Medina et al., 2022) (**Figura 1.**) .

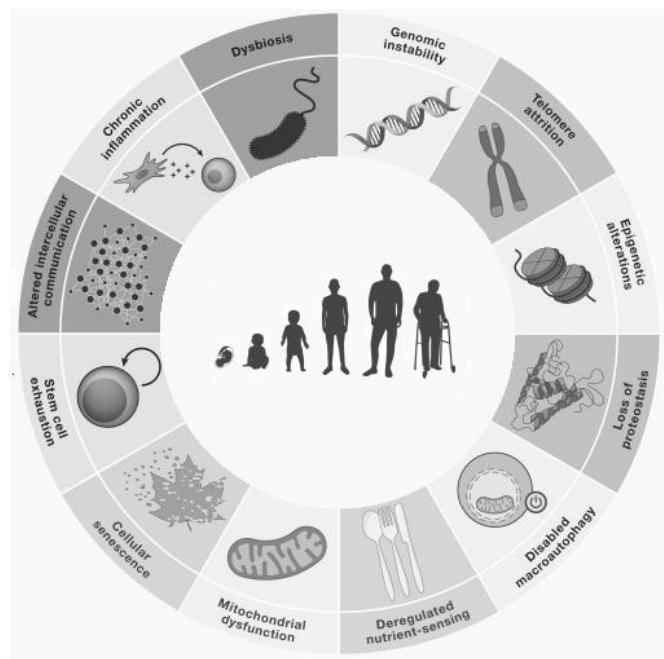


Figura 1. Características del envejecimiento (Tomado de Schmauck-Medina et al., 2022)

La manifestación de estos marcadores del envejecimiento se observa a lo largo del ciclo de vida del individuo, alcanzando una mayor intensidad a partir de los 60 años. Por tanto, las investigaciones en el campo del envejecimiento suelen centrarse en individuos de edad avanzada como sujetos de estudio. Sin embargo, la diversidad y heterogeneidad de factores que promueven y regulan estas características añaden más complejidad en la identificación de mecanismos moleculares que participan activamente en este proceso (Arboleda et al., 2011).

Con el propósito de mitigar la influencia de las variables genéticas, ambientales, de estilo de vida y sociales que inciden en el proceso de envejecimiento, se ha propuesto emplear como modelo de investigación a individuos que manifiestan patologías que inducen un fenotipo de envejecimiento prematuro, los cuales son clasificados bajo la denominación de síndromes progeroides (Báez-Becerra et al., 2020a; Paolacci et al., 2018).

Síndrome Progeroide Neonatal Wiedemann-Rautenstrauch (SWR)

Los síndromes progeroides se refieren a condiciones médicas en las que individuos manifiestan patologías que conducen a un fenotipo de envejecimiento prematuro. Estos síndromes tienen etiologías específicas las cuales conducen a la manifestación heterogénea de diversos signos clínicos (Báez-Becerra et al., 2020a; Paolacci et al., 2018).

Categorizado en este conjunto de síndromes se encuentra el Síndrome Progeroide Neonatal o Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch (SWR) descrito por Rautenstrauch y Snigula en 1977 (Rautenstrauch et al., 1977). Este síndrome se distingue específicamente por manifestar el fenotipo de envejecimiento de forma prematura al momento del nacimiento en comparación con otros síndromes progeroides cuyas características inician en periodos posteriores de la vida posnatal (Paolacci et al., 2018). Los signos y síntomas frecuentemente encontrados en los pacientes con SWR son retraso del crecimiento

prenatal y postnatal temprano, macrocefalia, desproporción craneofacial, piel delgada, lipodistrofia y dientes neonatales entre otros (Paolacci et al., 2018; Temel et al., 2020),

A nivel molecular, el síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch (SWR) se caracteriza por un aumento en la expresión de la variante mutada de POLR3A, que conlleva a alteraciones en la función de transcripción, un incremento en el número y área de los nucléolos, daño en el ADN, acortamiento de los telómeros y la activación de P53. Estos cambios pueden resultar en un grave defecto en la biogénesis de los ribosomas, así como en la traducción de proteínas (Báez-Becerra et al., 2020b)

La expectativa de vida de los pacientes con SWR comprende un rango de seis meses a veinte años, periodo en el cual se desarrollan síntomas adicionales como temblores corporales, disminución en la capacidad cognitiva, leucodistrofia, anormalidades endocrinas, hipogonadismo y menopausia (Hennekam, 2020; Paolacci et al., 2017). Las causas frecuentes de muerte reportadas en los pacientes con SWR son problemas cardiovasculares, hemorragias cerebrales, neumonía y complicaciones respiratorias (Paolacci et al., 2017; Wambach et al., 2018)

Mutaciones de ARN Polimerasa Subunidad IIIA causante de SWR

En el 2016 Jay y colaboradores reportaron la asociación de la mutación autosómica recesiva hereditaria del gen que codifica para la proteína ARN polimerasa III subunidad A (POLR3A) con la etiología de SWR (Jay et al., 2016). La POLR3A se compone de 1.390 aminoácidos (156 kDa) lo que la categoriza como la subunidad más grande en el complejo ARN polimerasa III (POLIII). A nivel estructural, POLR3A está constituida principalmente por conformaciones de hélices alfa que promueven el movimiento de la polimerasa a lo largo de la interfaz ARN-ADN y en conjunto con la ARN polimerasa III

subunidad B constituye el sitio catalítico del complejo enzimático (Han et al., 2018; Paolacci et al., 2018).

POLIII participa activamente en el proceso de transcripción de genes constitutivos (en inglés, housekeeping genes), ARNs de transferencia (tARNs) y de más de 200 ARN no codificantes (ncARNs) entre ellos el ARN ribosómico 5S (5S ARNr), los elementos nucleares dispersos cortos (SINE), la P ARNsa, la MRP ARNsa el ARN nuclear pequeño 7U6 (7U6 ARNsn), el 7SK ARNsn y el 7SL ARN entre otros (Nelson, 2019; Wambach et al., 2018) . Adicionalmente los ncARNs de tipo 7SK ARNsn y 7SL ARN regulan la actividad catalítica de la ARN Polimerasa II (POLR2), incidiendo directamente en la expresión de genes transcritos por la POLR2 (Paolacci et al., 2018). Otro ncARN con una función importante es el 3S rARN el cual se asocia a la subunidad mayor de los ribosomas citosólicos permitiendo la traducción de proteínas (Báez-Becerra et al., 2020a; Hu et al., 2012).

La mutación del gen POLR3A, inducida por inserción o delección de nucleótidos, desencadena diversas alteraciones que abarcan modificaciones en los sitios de inicio y finalización de la transcripción, variaciones en la longitud de los exones y una variabilidad de isoformas mediante el mecanismo de splicing alternativo (Hiraide et al., 2020; Minnerop et al., 2017; Paolacci et al., 2018) . Estas alteraciones causan cambios en la composición, estructura y funcionalidad de la POLR3A, ocasionando que los ncARNs sintetizados tengan reducida o nula capacidad funcional (Wambach et al., 2018). En consecuencia, los pacientes con SWR manifiestan fenotipos heterogéneos con respecto a la variabilidad en las mutaciones de los genes POLR3A (Jay et al., 2016; Paolacci et al., 2017).

Epigenética

La epigenética es un campo de investigación científica que se enfoca en el análisis de las variaciones en la expresión genética de un organismo, prescindiendo de la influencia de la secuencia del ADN. Teniendo como objeto de estudio las modificaciones genéticas heredadas como las alteraciones adquiridas de manera sostenida a lo largo del periodo de vida del individuo, siendo estas determinantes en la actividad y expresión génica (Calvanese et al., 2009).

La regulación de la expresión génica en este contexto epigenético se coordina mediante cuatro mecanismos clave: (1) la metilación de citosina, (2) las modificaciones post-traduccionales de las proteínas histonas, tales como la metilación y acetilación, (3) la remodelación de la cromatina y (4) la intervención de ARN no codificantes (Millan et al., 2021).

Los mecanismos epigenéticos coordinan el programa genético a lo largo de diversos procesos celulares, que abarcan desde el ciclo de vida hasta el desarrollo, la diferenciación, la respuesta al estrés, estados patológicos y envejecimiento. Es destacable que, a pesar de la estabilidad química de las modificaciones epigenéticas, estas continúan siendo susceptibles a cambios por diversos factores como circunstancias fisiológicas y patológicas, así como influencias ambientales (Calvanese et al., 2009).

Metilación de ADN

En el conjunto de modificaciones epigenéticas con efectos determinantes en la expresión génica, destaca la metilación del ADN, caracterizada por la adición covalente de un grupo metilo (-CH₃) en el carbono 5' del nucleótido citosina, dando lugar a la formación de 5-metilcitosina. La presencia del grupo metilo en la citocina condicionan las interacciones intermoleculares entre las hebras de ADN, los factores de transcripción, histonas y enzimas polimerasas haciendo que se reprima o promueva la expresión génica (Choukrallah & Matthias, 2014; Millan et al., 2021).

En mamíferos la metilación de ADN se encuentra regulada por cuatro enzimas metiltransferasas: DNMT1 DNMT3a, DNMT3b y DNMT3L (Aquino et al., 2018).

1) DNMT1: se encarga de conservar patrones de metilación de las hebras parentales en las hebras hijas durante la replicación del ADN y prefiere ADN hipometilado (Daniel et al., 2011; T. Ito et al., 2022).

2) DNMT3a y DNMT3b: A nivel de secuencia, estas dos enzimas comparten un alto grado de similitud, presentando un 84% de homología en sus sitios catalíticos. Ambas son responsables de la metilación de novo durante el desarrollo, mostrando preferencia por dinucleótidos CpG no metilados (T. Ito et al., 2022).

3) DNMT3L: enzima similar a las metiltransferasas de ADN, a pesar de carecer del dominio catalítico conservado presente en las metiltransferasas de ADN convencionales, desempeña un papel importante en la metilación del ADN. DNMT3L establece impresiones de metilación maternas, estimula la actividad de DNMT3a [14] y ayuda a las DNMTs a unirse al donante de grupos metilo (Aquino et al., 2018).

Adicionalmente la DNMT2 participa en la metilación de ARN, específicamente en la citosina-38 en el bucle anticodón del ARN de transferencia, en la actualidad su función en la regulación en la expresión genética es cuestión de discusión (Jeltsch et al., 2017)

La eliminación de las 5-metilcitosinas en el ADN se clasifica como un proceso activo y pasivo. En su forma pasiva, la enzima DNMT1 agrega activamente grupos metilo durante la replicación celular; su inhibición o mal funcionamiento determina el nivel global de metilación en cada división celular. La desmetilación activa depende de la intervención de enzimas demetiladoras, las cuales revierten la 5-metilcitosina a citosina (Moore et al., 2013). Aunque no se conocen todos los mecanismos precisos de desmetilación activa, se ha identificado uno de ellos, que involucra las enzimas de translocación ten–eleven (Tet), en particular Tet1, Tet2 y Tet3. Estas enzimas añaden un grupo hidroxilo al grupo metilo de 5mC, dando lugar a la formación de 5hmC (S. Ito et al., 2010; Tahiliani et al., 2009).

Metilación en ADN codificante

En genes traducibles por acción de la enzima RNA polimerasa II (POLII) los nucleótidos de 5-metilcitocina pueden manifestarse de manera individual o asociarse con nucleótidos de guanina en lo que se conoce como Islas CpG (Zouali, 2021). Estas islas se localizan en la región 5' de los promotores de los genes, teniendo un tamaño promedio de 500 a 1000 bp. Alrededor del 72 % de los genes codificados en proteínas presentan islas CpG en sus elementos regulatorios (Huidobro et al., 2013; Loeza-Loeza et al., 2020; Zhang et al., 2019).

Las islas CpG además tienen un efecto en la configuración estructural de la cromatina, generando en su estado hipermetilado una hélice de ADN más condensado, la cual restringe la accesibilidad de los factores de transcripción reprimiendo la expresión de genes (Choukrallah & Matthias, 2014). Adicionalmente existen proteínas con dominios de afinidad a las regiones CpG metiladas que al unirse a estas islas CpG metiladas también bloquean la unión con los factores de transcripción e inhiben el proceso de transcripción (Daniel et al., 2011).

El análisis del estado de metilación de ADN en genes traducibles se puede realizar en dos componentes, el primero mediante la regionalización del ADN por densidad de repeticiones CpG y loci (Magalingam et al., 2023) y el segundo que comprende las regiones funcionales del ADN (Zane et al., 2014).

Las islas CpG son regiones genómicas caracterizadas por densos conglomerados de dinucleótidos CpG, con una longitud promedio de 1000 pares de bases (pb). Estas islas se encuentran predominantemente alrededor de las regiones promotoras del 70% de los genes humanos. Además, la costa CpG (Shore) se extienden aproximadamente 2 kilo bases (Kb) desde las islas (Irizarry et al., 2009; Magalingam et al., 2023), mientras que las plataformas (Shelf) se sitúan alrededor de 4 Kb de las islas (Fennell et al., 2019). El resto del área genómica más allá de islas, costas y plataformas se denomina mar abierto (Open-sea) abarcando regiones que superan los 4 Kb (Visone et al., 2019a) (Figura 2.).

La inestabilidad genética conduce a la pérdida de hidroximetilcitosinas, lo que resulta en la incapacidad para inhibir las enzimas metiltransferasas de novo (DNMTs). Este fenómeno da lugar a patrones anómalos de metilación como la hipermetilación de las islas CpG y las costas (Irizarry et al., 2009; Muse et al., 2020), así como a la hipometilación de plataformas y regiones en el mar abierto (Irizarry et al., 2009; Visone et al., 2019a). Estos eventos están asociados con la disminución en la expresión génica, especialmente en contextos patológicos como el cáncer (Muse et al., 2020).

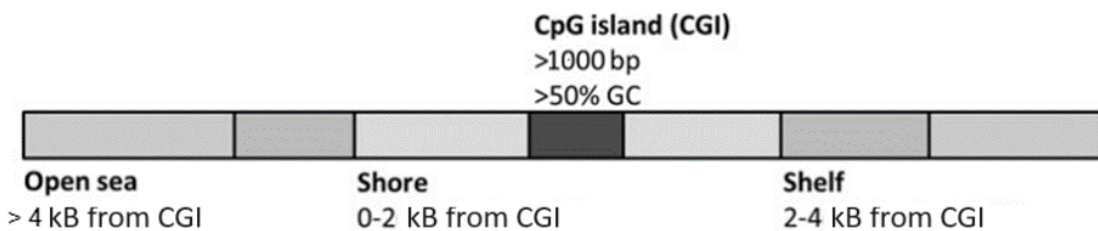


Figura 2. Diagrama de sitios CpG asociados a la densidad de islas CpG y loci. (Tomado de Kling & Carén, 2019)

El análisis de metilación se puede llevar a cabo mediante la evaluación de regiones cromosómicas específicas, como TSS1500, TSS200, 5'UTR, el primer exón, el cuerpo del gen y 3'UTR (Panja et al., 2018). Cada una de estas regiones desempeña un papel distintivo en la regulación génica y la dinámica epigenética (Figura 3).

1. TSS1500 (1500 bases arriba del sitio de inicio de la transcripción) y TSS200 (200 bases arriba del sitio de inicio de la transcripción) son consideradas como la región promotora del gen y desempeña un papel crucial en la regulación de la expresión génica al influir en la accesibilidad de la maquinaria transcripcional. La hipermetilación de estas regiones incide en la supresión de genes (Jin & Robertson, 2013; Xie et al., 2019)
2. 5'UTR (Región no traducida 5' del ARN mensajero): Situada al inicio del ARN mensajero, la hipometilación de esta región disminuye la traducción y la estabilidad del ARNm (Magalingam et al., 2023).

3. Primer exón: La hipometilación en el primer exón afecta la eficiencia del splicing alternativo y la regulación de la elongación transcripcional (Magalingam et al., 2023).
4. Cuerpo del gen: secuencia génica que incluye exones e intrones, la hipometilación en el cuerpo del gen afecta la expresión genética (Aquino et al., 2018).
5. 3'UTR (Región no traducida 3' del ARN mensajero): Ubicada al final del ARNm, la metilación en esta región puede influir en la estabilidad del ARNm y su interacción con factores de regulación postranscripcional.

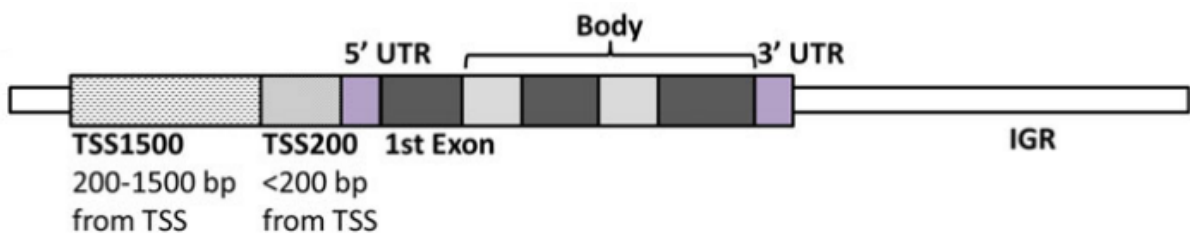


Figura 3. Diagrama de sitios CpG en relación con regiones genéticas (sitios de inicio de transcripción (TSS1500 y TSS200), Regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR) y el cuerpo del gen. (Tomado de Kling & Carén, 2019)

La metilación en las regiones promotoras ejerce una influencia directa sobre la transcripción génica, mientras que la metilación en el cuerpo de los genes, además de participar en la regulación de la transcripción, también interviene en procesos de elongación y empalme (splicing). Es imperativo señalar que la metilación en los sitios de iniciación de la transcripción tiene un impacto determinante en la transcripción de genes (Aquino et al., 2018; Xiao et al., 2019).

Metilación en genes no codificante

La transcripción de diversos ADN no codificantes se lleva a cabo mediante la actividad de la enzima POLIII. La estructura de los genes dependientes de POLIII se caracteriza por la ausencia de exones y consta de cuatro regiones específicas. La primera de ellas es el Promotor Tipo III, que alberga secuencias específicas reconocidas por la ARN polimerasa III y factores de transcripción asociados. Dentro de este promotor, se encuentran las secuencias A y B Box, las cuales son reconocidas por factores de transcripción

específicos que facilitan el reclutamiento de la ARN polimerasa III al sitio de inicio de la transcripción(Koval et al., 2011).

La segunda región es la Región Transcrita, que sigue al promotor. Esta región codifica el ARN específico, como ARN de transferencia (ARNt) o ARN ribosómico 5S (5S rARN). La tercera región es la Región Terminador, ubicada al final de la región transcrita. En esta región, se encuentra una señal de terminación que indica a la ARN polimerasa III que ha alcanzado el final del gen, marcando así el término del proceso de transcripción (Stasenko et al., 2023) (Figura 4.).

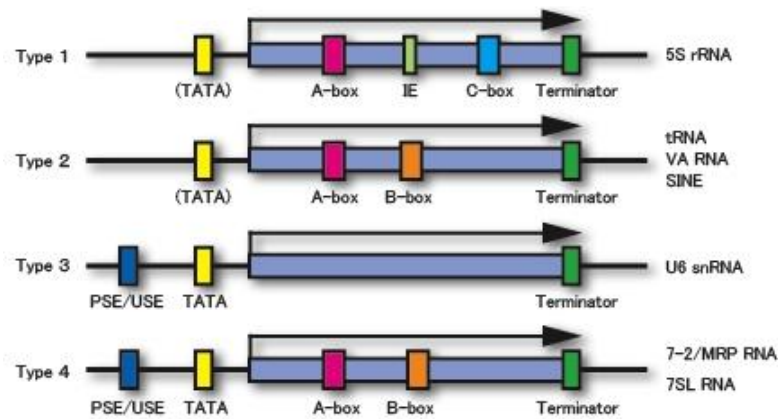


Figura 4. Estructura de los genes dependientes de POLIII (Tomado de Yukawa, 2023).

El primer informe sobre metilación del ADN en genes de PolIII fue presentado por Beeser y colaboradores en 1990, quienes llevaron a cabo la medición de la transcripción de la Pol III mediante la inyección de plantillas de ADN in vitro metiladas en ovocitos de Xenopus. En este artículo se evidenció el efecto silenciador de la hipermetilación del ADN en la transcripción de ARN no codificantes (ncARNs) (Besser et al., 1990).

Estudios posteriores han propuesto dos posibles mecanismos para el silenciamiento inducido por hipermetilación CpG. En primer lugar, se sugiere que la inhibición de la accesibilidad de la Pol III se logra mediante la remodelación de la estructura de la cromatina, un mecanismo ampliamente estudiado en genes de la Pol II y que se presume que también es aplicable a los genes de la Pol III. En segundo lugar, se plantea que la

hipermetilación CpG en sí misma reduce la preferencia del promotor para la unión de la Pol III (Park et al., 2017).

La investigación de la metilación en la actividad de la Pol III presenta dificultades debido a que los genes clásicos de la Pol III, como el 5S rARN, los tARN y el U6 snARN, no son modelos de estudio adecuado, esto es debido a que sus unidades de transcripción son secuencias idénticas o altamente similares dispersas a lo largo del genoma en múltiples copias. Por lo tanto, es casi imposible correlacionar la tasa de transcripción desde un único locus genómico con el nivel de ARN en estado estable y también resulta complejo introducir una mutación en todas las copias genómicas. Aunque algunos genes de la Pol III están codificados en un único locus o en unos pocos loci (Park et al., 2017).

Metilación de ADN y envejecimiento

La vinculación directa entre el proceso de envejecimiento y la metilación del ADN ha posibilitado la identificación de patrones específicos de metilación asociados a regiones genéticas particulares (Kuzmina et al., 2016; Yuan et al., 2015). En genes traducibles se ha documentado que el envejecimiento induce un estado de hipermetilación en las regiones promotoras, mientras que las regiones intragénicas e intergénicas experimentan una transición hacia un estado de hipometilación (Daniel et al., 2011) (Figura 5) .

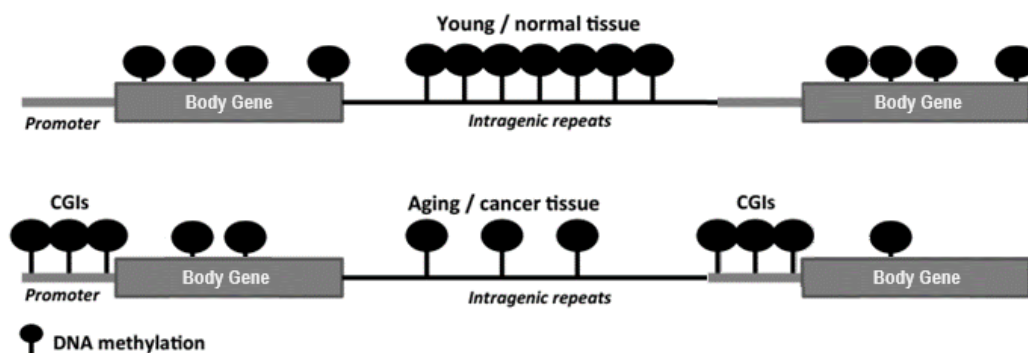


Figura 5. Cambios en la metilación durante el envejecimiento y el cáncer. Se destaca un estado de hipometilación en las regiones promotoras de los genes en tejidos normales jóvenes. En cambio, en tejidos afectados por el envejecimiento o el cáncer, se observa una hipometilación en el cuerpo de los genes y en las repeticiones intragénicas (Tomado de Zane et al., 2014)

El estudio de patrones de metilación ha permitido el desarrollo de algoritmos predictivos que permiten determinar la edad biológica de los individuos en función del estado de metilación de los nucleótidos CpG. Estos algoritmos seleccionan eficazmente los CpG asociados con la edad cronológica y los fenotipos de envejecimiento, reflejando de manera efectiva los cambios relacionados con la metilación del ADN asociados con la edad, que son compartidos entre individuos y representan procesos de envejecimiento inherentes más allá del efecto de las enfermedades (Kabacik et al., 2022).

Los relojes epigenéticos tienen en cuenta la variabilidad poblacional en los cambios de metilación del ADN que contribuyen al declive del envejecimiento y al desarrollo de enfermedades. Esta aproximación integral permite al algoritmo establecer asociaciones con fenotipos de envejecimiento, abarcando no solo los procesos de envejecimiento inherentes sino también considerando factores externos que influyen en los cambios relacionados con la edad (Bergsma & Rogaeva, 2020).

La generación de relojes epigenéticos se basa en el uso de material genético para determinar la edad biológica/cronológica de una muestra a través del análisis de patrones constantes de metilación en dinucleótidos CpG. Como ejemplo de tal reloj es el reloj epigenético de Horvath, que asocia 353 sitios CpG en 344 genes y es aplicable a múltiples tejidos, siendo este reloj epigenético usado como estándar en la determinación de la edad biológica en la actualidad (B. H. Chen et al., 2016).

De manera similar a los estudios de metilación de ADN en envejecimiento, algunos grupos de investigación han enfocado sus actividades a indagar sobre el efecto de la metilación de ADN en los síndromes progeroides (Hennekam, 2020). Ejemplos notables de este enfoque son los estudios del metiloma genético en el Síndrome de Werner (WS) y el Síndrome Hutchinson-Gilford (HGPS), ambos caracterizados por fenotipos de envejecimiento que se manifiestan después del nacimiento (Hennekam, 2020). Estas

investigaciones han revelado anomalías en los patrones de metilación tanto en las regiones promotoras como en el cuerpo de los genes, impactando procesos de señalización fundamentales según los estudios de Guastafierro et al. (2017) y Gonzalo et al. (2017)

Senescencia

La senescencia celular se define como un estado de arresto permanente del ciclo celular, caracterizado por la resistencia a la apoptosis y la manifestación de un fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP) (Melo dos Santos et al., 2024; Wan et al., 2023). Este estado de senescencia se activa en respuesta a situaciones genotóxicas, donde las células están programadas para iniciar un proceso que implica la desaceleración metabólica y la detención de la proliferación, contribuyendo así a mitigar los efectos perjudiciales del material genético dañado (Xie et al., 2019).

Existen dos tipos reconocibles de senescencia: la senescencia replicativa, causada por el acortamiento de los telómeros debido a la replicación repetida del ADN, y la senescencia prematura, inducida por factores de estrés como la activación de oncogenes y especies reactivas de oxígeno (ROS), sin una pérdida aparente de la longitud y función de los telómeros (Sakaki et al., 2017; Xie et al., 2019).

La senescencia celular desempeña un papel clave en el proceso de envejecimiento, donde el desarrollo y la homeostasis experimentan una disminución con el paso de los años, limitando el potencial de reparación de tejidos y órganos e incrementando la susceptibilidad a enfermedades crónicas asociadas a la edad. Un ejemplo de este fenómeno es el inmunosenescencia, una marcada disminución en la función del sistema inmunológico con el envejecimiento. Gradualmente, el sistema inmunológico pierde la capacidad para eliminar células senescentes de los tejidos, contribuyendo al desarrollo de enfermedades crónicas relacionadas con la edad (Funes et al., 2021; Lee et al., 2022).

Es fundamental distinguir la diferencia entre el envejecimiento, un fenómeno que se desarrolla progresivamente con el tiempo, y la senescencia, que puede ocurrir en cualquier

etapa de la vida. Esta diferencia se evidencia por el hecho de que la senescencia puede regular la homeostasis celular o el crecimiento de tejidos en cualquier etapa de la vida de los mamíferos. Además, la senescencia celular ha demostrado ser un mecanismo modulador que contribuye a la supresión tumoral, la cicatrización de heridas y la embriogénesis (Wan et al., 2023).

En el contexto de la metilación del ADN y su relación con el fenómeno de senescencia, se ha confirmado que la hipermetilación de regiones promotoras y la hipometilación del cuerpo del ADN, durante el proceso de envejecimiento, afectan genes supresores de tumores, tales como p15, p16 y RASSF1, entre otros. La inactivación de estos genes incide significativamente en la promoción del fenotipo senescente, contribuyendo así al desarrollo de diversos tipos de cáncer (Daniel et al., 2011).

Al comparar el metiloma de individuos en proceso de envejecimiento con el metiloma de los genes senescentes cancerígenos, se ha observado una correlación estadística significativa en los patrones de metilación. Este hallazgo sugiere que la metilación estocástica de genes durante el proceso de envejecimiento puede ser un factor relevante en la promoción de eventos carcinogénicos. (Zane et al., 2014).

Metodología

Muestras de estudio

En el presente estudio, se emplearon muestras de sangre periférica de dos individuos que presentaban el fenotipo característico de Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch (SWR).

Las características de las muestras son las siguientes (tabla 1):

	Muestra 1:	Muestra 2
Sexo	Mujer	Mujer
Edad	6 años	25 años
Mutación	POLR3A: c. 3G>T.	POLR3A: c. 3772-3773 del ct
Variante genética	Paterna	Materna
Efecto traduccional	<ul style="list-style-type: none"> - Pérdida del codón de inicio de metionina (p. Met1) - Variante en la región 3' no traducida c. 18C>T (Wambach et al., 2018). 	<ul style="list-style-type: none"> - Codón de parada prematuro en la posición 1269, ubicado 12 codones más adelante de la mutación - Pérdida de 121 aminoácidos en el dominio C-terminal del dominio 5 de la proteína POLR3A. - POLR3A defectuosa con tamaño aproximado de 142 KDa y presenta una secuencia de aminoácidos diferente en los últimos 11 aminoácidos.

Tabla 1. Características Clínicas en Pacientes con SWR: Sexo, Edad, Mutación Genética, Variante Genética y Efecto Traduccional.

Para el grupo de control, se emplearon muestras de sangre de dos individuos sin SWR, que se correspondieron adecuadamente en cuanto a las variables de sexo y edad.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante extracción intravenosa y se conservaron mediante ultra congelación a -80°C. Posteriormente, se extrajo el ADN genómico de las muestras de sangre utilizando el kit PureLink™ Genomic ADN. La concentración de ADN se determinó mediante el uso de NanoDrop™ y las muestras se conservaron en ultra congelación a -80°C.

Secuenciación por bisulfito y cuantificación del nivel de metilación

Se obtuvo una cantidad de 0.5 µg de ADN a partir de las muestras sanguíneas de los pacientes, con el fin de cuantificar los niveles de metilación. La secuenciación por bisulfito se llevó a cabo mediante el uso del chip de microarreglos Illumina Human Methylation EPIC array™ de MacroGen™ (Seúl, Corea). Este chip incorpora 850,000 sondas de genes codificantes distribuidas a lo largo de todo el genoma humano. Con el objetivo de garantizar precisión y reproducibilidad, cada muestra fue analizada en dos repeticiones.

En el proceso de conversión por bisulfito, las muestras de ADN experimentan tres reacciones químicas sucesivas (sulfonación, desaminación, desulfonación) que convierten la citosina no metilada en uracilo, mientras que las citosinas metiladas permanecen como citosinas. Posteriormente, los fragmentos de ADN transformados con bisulfito se amplifican mediante PCR, durante el cual el uracilo se transforma en timina.

Luego, los fragmentos amplificados se hibridan al chip Illumina Human Methylation EPIC array™, seguido por un escaneo realizado con un lector de microarreglos de alta resolución. Este lector detecta y cuantifica las señales fluorescentes generadas por los fragmentos de ADN que se han unido al chip en varios sitios. Estas señales se denominan Valores Beta (B-valores) y brindan información detallada sobre los patrones de metilación del ADN en el genoma (Illumina, 2021)(**Figura 6**).

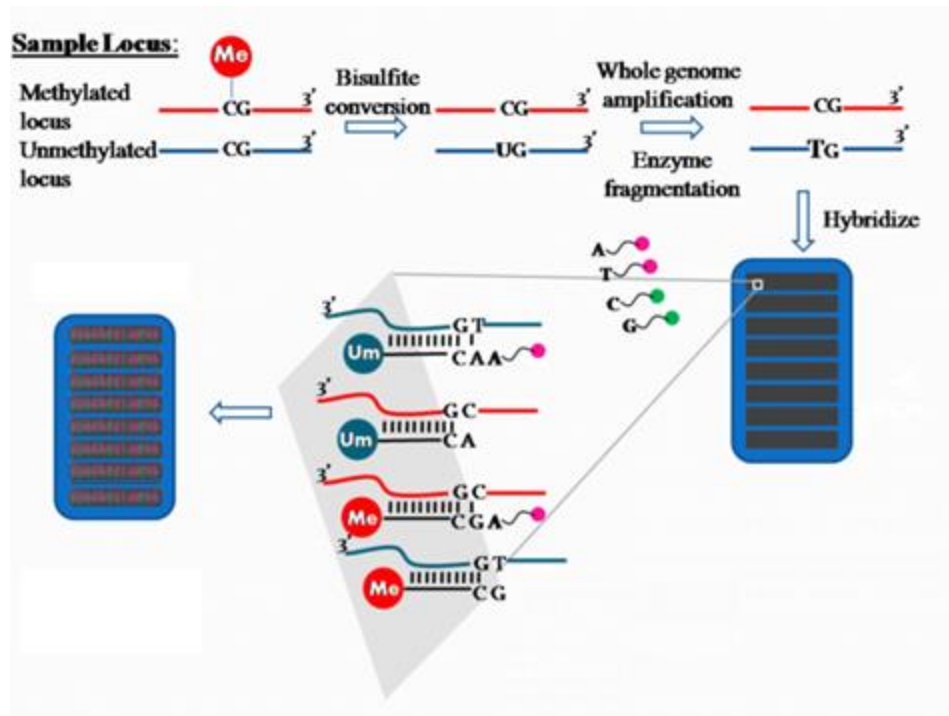


Figura 6. Proceso de detección del estado de metilación mediante el chip Illumina Human Methylation EPIC Array (Tomado de Illumina, 2021).

Posiciones Diferencialmente Metiladas

Después de la secuenciación por metilación, se generaron archivos en formato IDAT que contienen la información de la intensidad lumínica generada por cada sonda las sondas para cada muestra. Estos archivos IDAT se utilizaron para llevar a cabo el preprocesamiento de los datos. Para ello, se cargaron los archivos IDAT en el entorno de programación R utilizando librería ChAMP. (Chip Analysis Methylation Pipeline for Illumina HumanMethylation EPIC) A partir de estos archivos, se creó un objeto MethylSet, el cual transforma la intensidad lumínica en Valores Beta de metilación.

Posteriormente se realizó un control de calidad para evaluar la calidad de las muestras y las sondas. Esto implicó identificar y filtrar las sondas con problemas técnicos o de baja calidad, así como descartar las muestras que no cumplen con los criterios de calidad. Una vez realizado el control de calidad, se realizó una normalización de los datos por el método Convolución normal-exponencial utilizando sondas fuera de banda.(NOOB) y

Normalización de cuantiles mediante mezcla beta.(BMQI) a los datos de metilación para corregir rigurosamente cualquier variación técnica o biológica entre las muestras, asegurando una comparación adecuada entre ellas (Welsh et al., 2023) .

Se identificaron las Posiciones Diferencialmente Metiladas (DMPs) en los individuos SWR contrastando los B-valores normalizados entre las muestras con SWR y los controles. Se emplearon modelos lineales generalizados (GLM) específicos para microarreglos con el fin de determinar los P-valores más significativos en los niveles de metilación entre los grupos. Con los datos obtenidos se determinó el estado de metilación de las posiciones diferencialmente metiladas además de su distribución en las regiones del genoma(Morris et al., 2024).

Regiones Diferencialmente Metiladas

A través de la función DMR de ChAMP, se logró la identificación de Regiones Diferencialmente Metiladas (DMRs), las cuales representan segmentos específicos del genoma que experimentan alteraciones cuantitativas en los niveles de metilación del ADN entre dos grupos distintos. La detección de estas regiones se lleva a cabo mediante la aplicación de algoritmos de agrupación que consideran posiciones diferencialmente metiladas, las cuales comparten patrones topológicamente contiguos y similares de metilación, siendo respaldadas por valores P significativos.

Los resultados obtenidos mediante la agrupación por DMRs permiten discernir cromosomas con regiones diferencialmente metiladas, así como identificar genes con estados de metilación significativos. Además, este enfoque proporciona una comprensión más detallada del estado de metilación predominante en estas regiones.

Senescencia celular

Se han identificado genes con una metilación significativa, validada por un P-valor inferior a 0.05 mediante un análisis bayesiano de los B-valores de metilación. Esta identificación permite estimar la probabilidad de metilación de genes en diversos contextos biológicos, lo cual es fundamental para la identificación de marcadores epigenéticos relevantes en SWR.

Estos genes fueron posteriormente sometidos a un análisis utilizando la base de datos CellAge Database of Cell Senescence Genes® para determinar cuántos de ellos están asociados con la senescencia celular. Esta base de datos compila más de 1,259 genes relacionados con la senescencia celular, ya sea en términos de inhibición o inducción de senescencia.

Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos de Genes

Se realizó un análisis de enriquecimiento de genes utilizando los datos de genes que mostraron metilación significativa en las muestras SWR de 6 y 25 años, con un nivel de significancia estadística establecido en P-Valor < 0.05. Este análisis se fundamentó en la aplicación de la Base de Datos para Anotación, Visualización y Descubrimiento Integrado (DAVID), una herramienta ampliamente reconocida en la investigación biológica y molecular. La utilización de la ontología de genes (GO) en este contexto permitió la categorización de conjuntos de genes en función de su participación en procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares.

Relojes Epigenéticos

Se empleó la herramienta de reloj biológico para estimar la edad biológica de los individuos, utilizando CpG normalizados en todas las muestras (Control y SWR). Este análisis se llevó a cabo mediante la aplicación del paquete methylclock en el entorno del software estadístico R. La estimación de la edad biológica de las muestras se basó en la utilización de cinco tipos de relojes epigenéticos, los cuales estiman la edad a partir de la metilación de CpG asociados a criterios específicos (Tabla 2)

Reloj epigenético	Cantidad CpG	Genes	Tejido de detección	Criterio
Horvarth (2013)	353	433	Multitejido	Multitejido
Hannum (2013)	71	94	Sangre	Asociado a senescencia
Levine (2018)	503	505	Sangre	- Estimación asociada a la esperanza de vida del individuo y su estado de salud. -Estima mortalidad -Asociado a senescencia.
Wu (2019)	111	-	Sangre	- Especifico para niños -Asociados a neuropatías.
Longitud Telómeros (2014)	575	-	Sangre	Asociado a CpG de Telometros

Tabla 2. Clasificación de Relojes Epigenéticos según la Cantidad de CpG, Genes y Tejido de Detección

Resultados

Control de Calidad

Se realizó una evaluación del efecto que tienen las mutaciones en POLR3A asociada a SWR sobre la metilación del ADN mediante el chip de microarreglos Infinium Methylation EPIC BeadChips. Se utilizaron dos muestras por duplicado cada una, compuestas por dos individuos femeninos de 6 y 25 años con SWR, y dos controles sin enfermedad y que correspondía con las mismas edades de los pacientes con SWR. Al realizar el proceso de filtrado y control de calidad de datos por muestra se obtuvieron 746.969 sitios de metilación que cumplían con criterios de selección para realizar los posteriores análisis.

Inicialmente, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) de los valores beta de metilación utilizando como método de normalización la combinación de los métodos Noob (convolución normal-exponencial mediante sonda fuera de banda) y BMQI (Normalización cuantitativa de valores beta mixtos) recomendado por Welsh y Batalha (2023) por su alto rendimiento y astringencia, posteriormente los datos se transformaron logarítmicamente con el fin de estabilizar la varianza y reducir el sesgo en los datos asimétricos

Cuando se incorporaron los datos de todas las sondas metiladas de las ocho muestras en el Análisis de Componentes Principales (PCA), las dos primeras componentes principales explicaron el 66,9% de la variabilidad, siendo la componente 1 responsable del 40% y la componente 2 del 26,1% ($p < 0.05$ para ambas componentes) (Figura 7).

Al introducir los datos de los valores beta por zona, se observó la separación clara de las muestras en dos clústeres independientes. El primer clúster agrupaba 4 muestras de individuos de seis años, tanto en el grupo de control como en el grupo con SWR. Mientras el segundo clúster agrupaba las muestras de individuos de 25 años del grupo de control con SWR

Dado que las muestras de individuos de 6 y 25 años están claramente separadas a lo largo del eje x, se puede asumir que la primera componente principal representa la edad

cronológica, indicando que una parte significativa de la variabilidad total en la expresión génica del conjunto seleccionado de genes se puede explicar por el envejecimiento. En cuanto al eje y, se puede suponer que el factor principal que contribuye a la segunda componente principal es el fenotipo progeroide.

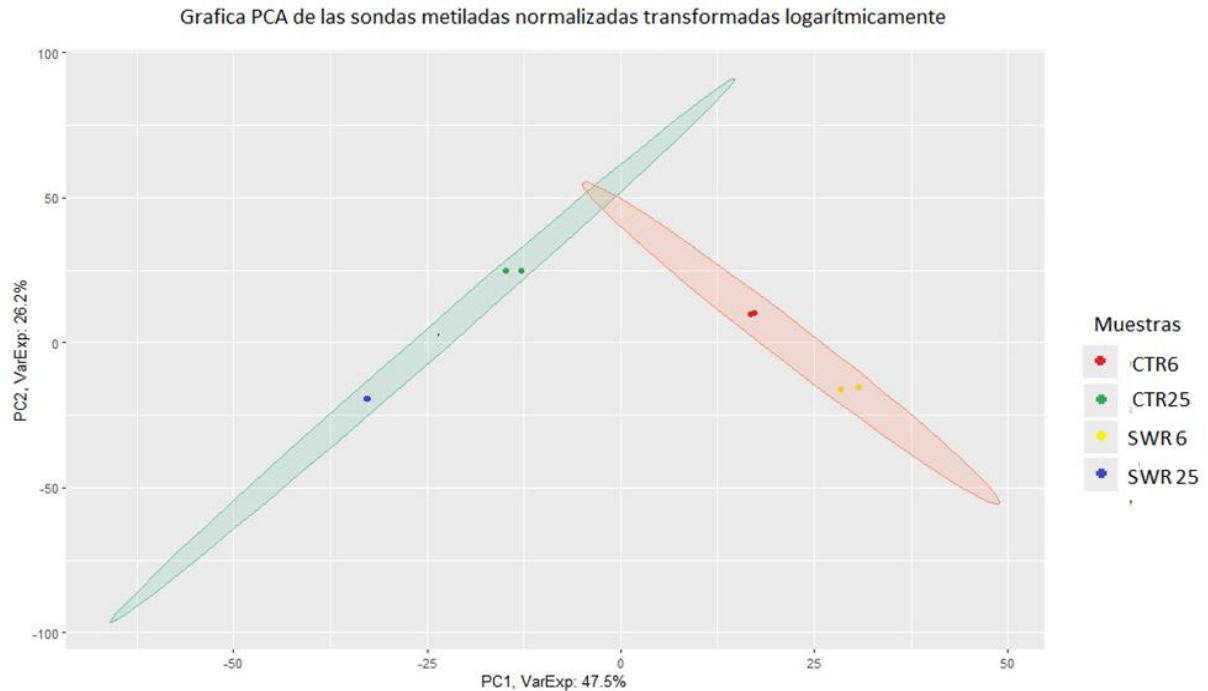


Figura 7. Análisis de Componentes Principales (PCA) de las sondas metiladas del ADN en 2 muestras de SWR y 2 muestras control (1 replica biológica).

Al realizar un análisis de correlación de Spearman ajustado al mapa de calor, se evidencia una correlación moderada entre SWR 6 y control 6, así como entre SWR 25 y control 25. Sin embargo, la correlación entre SWR 6 y control 6 es débil con CTR 25, y no existe correlación entre SWR 6 y SWR 25. Adicionalmente, aunque hay una correlación débil entre las dos muestras de control (control 6 y control 25), no hay relación entre las muestras de pacientes SWR (Figura 8).

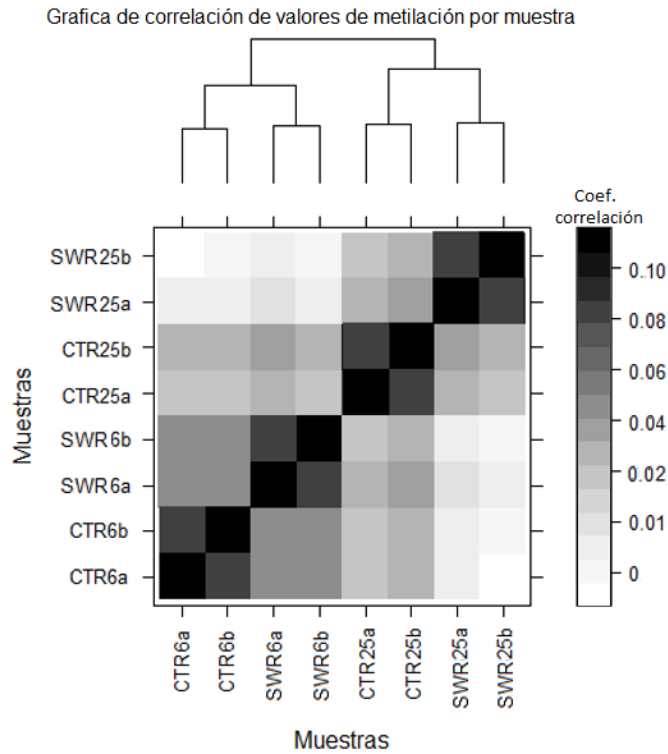


Figura 8. Mapa de calor que relaciona similitud del estado de metilación de las 749.969 sondas para cada una de las 8 muestras.

Posiciones Diferencialmente Metiladas

Se llevó a cabo un análisis de metilación de posiciones diferencialmente metiladas (DMPs) mediante la generación de un mapa de calor que incluyó 100 posiciones con metilación significativa, seleccionadas en base a su significancia estadística (Valor-P < 0.05).

Al evaluar el grado de metilación en cada muestra, se evidenció que los individuos de 6 años con SWR presentaron un 72% de DMPs con hipermetilación, mientras que el grupo de control registró un 64% de DMPs con hipometilación. En contraste, las muestras de individuos de 25 años con SWR mostraron un 64% de DMPs hipermetilados, mientras que el grupo de control exhibió un 41.5% de DMPs con hipometilación. (**Figura 9**).

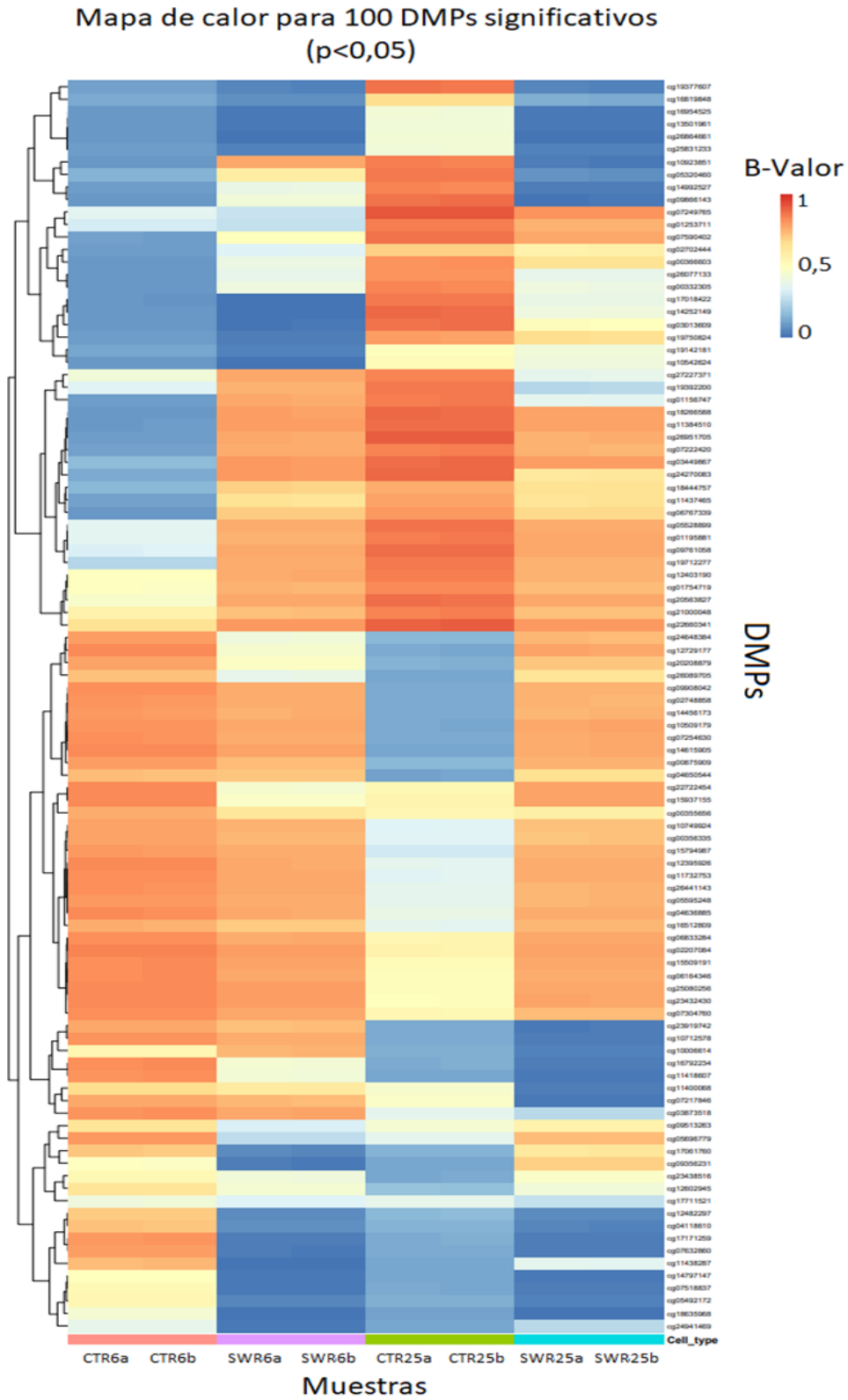


Figura 9. Mapa de calor que representa 100 sitios con metilación diferencial significativamente elevada ($P < 0,05$) entre el grupo de control y el grupo SWR en ambas cohortes de edades. Las posiciones diferencialmente metiladas se distinguen en función de los valores B de metilación, revelando estados de hipermetilación (color naranja) e hipometilación (color azul).

Distribución de Posiciones Diferencialmente Metiladas por región genómica.

Mediante el uso del paquete ChAMP en R, se logra determinar la distribución global de las 746.969 posiciones diferencialmente metiladas (DMPs) con respecto a las regiones genéticas. Al examinar los DMPs del paciente de 6 años diagnosticado con SWR, se observa una notoria predominancia de hipometilación en las regiones correspondientes a las islas del genoma, mientras que en las regiones de playas y plataformas no se evidencia una diferencia sustancial en los niveles de hipermetilación y hipometilación. En cuanto a la región del mar abierto, se presenta una mayor proporción de DMPs hipometilados (Figura 10a).

En el caso del paciente de 25 años diagnosticado con SWR, se observa una fuerte tendencia hacia la hipermetilación en las regiones de islas, mientras que no se observa un patrón de metilación significativo en las regiones de plataformas y playas. La región del mar abierto muestra una mayor proporción de DMPs hipometilados (Figura 10b).

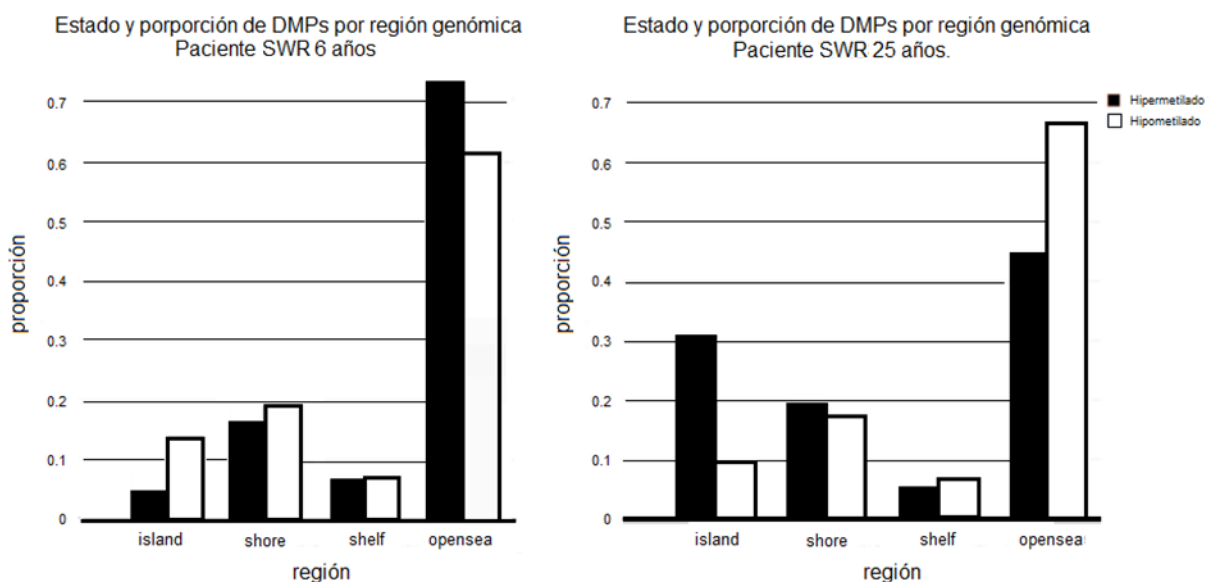


Figura 1. Variación en la Metilación de DMPs en Diferentes Regiones Genómicas (Isla, Costa, Plataforma y Mar Abierto) en Pacientes de 6 y 25 años con SWR.

Al realizar un análisis específico de los estados de metilación en diferentes regiones, se destaca una notoria hipometilación en las DMPs en individuos diagnosticados con SWR a la edad de seis años. Esta hipometilación es particularmente prominente en regiones del genoma que presentan un alto contenido de dinucleótidos CpG y desempeñan un papel crucial en la regulación de la transcripción, como se puede observar en las islas de metilación asociadas con las regiones 5'UTR, 3'UTR, TSS1500, TSS200 e intrones. La alteración del estado de hipermetilación normal en los intrones sugiere la posible existencia de una condición patológica subyacente.

Por otro lado, en pacientes con SWR de 25 años, se registra una hipermetilación en las islas de metilación de las regiones 5'UTR, TSS1500, TSS200 e intrones. Es importante destacar que las islas de metilación en las regiones intrónicas presentan un patrón de hipermetilación anormal, lo que posiblemente está asociado a un estado patológico.

Estado y proporción de DMPs por regiones genómicas específicas en pacientes SWR

Al llevar a cabo un análisis más detallado del patrón de metilación en diversas regiones genómicas del paciente SWR de 6 años, se ha evidenciado que en la región TSS1500, la isla exhibe un estado hipometilado, mientras que en el entorno de mar abierto se observa una hipermetilación. En la plataforma continental (Shelf), no se aprecian cambios significativos, pero en la costa abierta (open shore) la región se presenta hipermetilada. Respecto a la región TSS200, se observa un patrón similar con hipometilación en la isla y hipermetilación en el entorno de mar abierto. A pesar de que la plataforma continental mantiene una metilación constante, la región TSS200 se encuentra más hipermetilada en la costa abierta.

En lo que respecta a la región 5' UTR, no se experimentan cambios significativos en la isla, pero se evidencia hipermetilación en el entorno de mar abierto. En la plataforma continental y la costa abierta, no se detectan alteraciones significativas en la metilación. Finalmente, la

región BODY presenta un perfil de hipometilación tanto en la isla como en el entorno de mar abierto, así como en la plataforma continental y la costa abierta.

En cuanto a la región IGR, se destaca un estado hipometilado tanto en la isla como en el entorno de mar abierto. La plataforma continental (Shelf) y la costa abierta presentan perfiles de metilación similares, con la región IGR exhibiendo hipometilación en ambas condiciones. Respecto a la región 3' UTR, no se registran cambios significativos en la isla, aunque en el entorno de mar abierto se evidencia una hipometilación. Tanto en la plataforma continental como en la costa abierta, no se observan alteraciones significativas en el estado de metilación de la región 3' UTR.

En el análisis del patrón de metilación en regiones específicas del genoma del paciente SWR de 25 años, en la región TSS1500 se evidencia hipermetilación en las Islas y open shore, mientras que en open sea se observa hipometilación. La región Shelf no muestra niveles estadísticamente significativos de metilación. En la región TSS200, destaca una marcada hipermetilación en Islas y open shore, mientras que en Shelf la metilación no alcanza significancia estadística. Para la región 5 UTR, se observa hipermetilación en Islas y open shore, con hipometilación en open sea, y la metilación en Shelf no resulta significativa

La región 1 EXON muestra hipermetilación en Isla y open shore, ausencia de metilación significativa en open sea y Shelf. La región BODY presenta hipermetilación en Isla y open shore, hipometilación en open sea y metilación significativa en Shelf. En cuanto a IGR, todas las categorías de entornos muestran hipermetilación. Finalmente, en la región 3 UTR, se observa que en open sea y open shore la metilación es hipometilada, mientras que en Isla y Shelf no es significativa

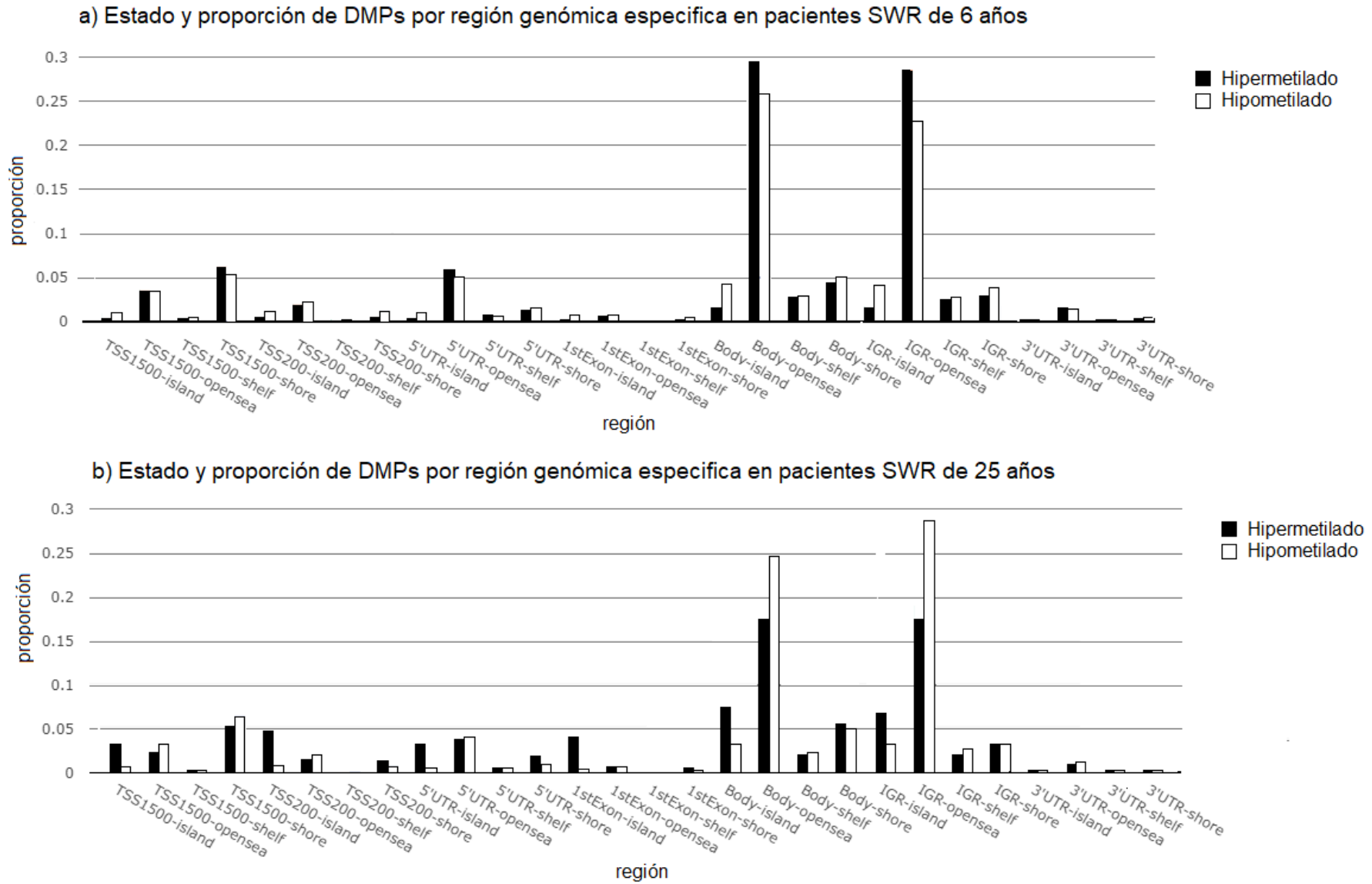


Figura 10. Estado y proporción de DMPs por región cromosómica específica en pacientes SWR 6 años (a) y SWR 25 años (b)

Distribución de Regiones Diferencialmente Metiladas por cromosomas.

En el análisis de DMRs (Regiones Diferencialmente Metiladas), se observaron un total de 1,698 en las muestras de pacientes diagnosticados con SWR de 6 años de edad. La proporción más significativa de estos DMRs se localiza en el cromosoma 6, representando un 10.42% del total. En relación a las muestras de individuos con SWR de 25 años, se informaron 2,727 DMRs, y la mayoría de estas se encontraban también en el cromosoma 6, constituyendo un 9.42% del total de DMRs (**Figura 12**).

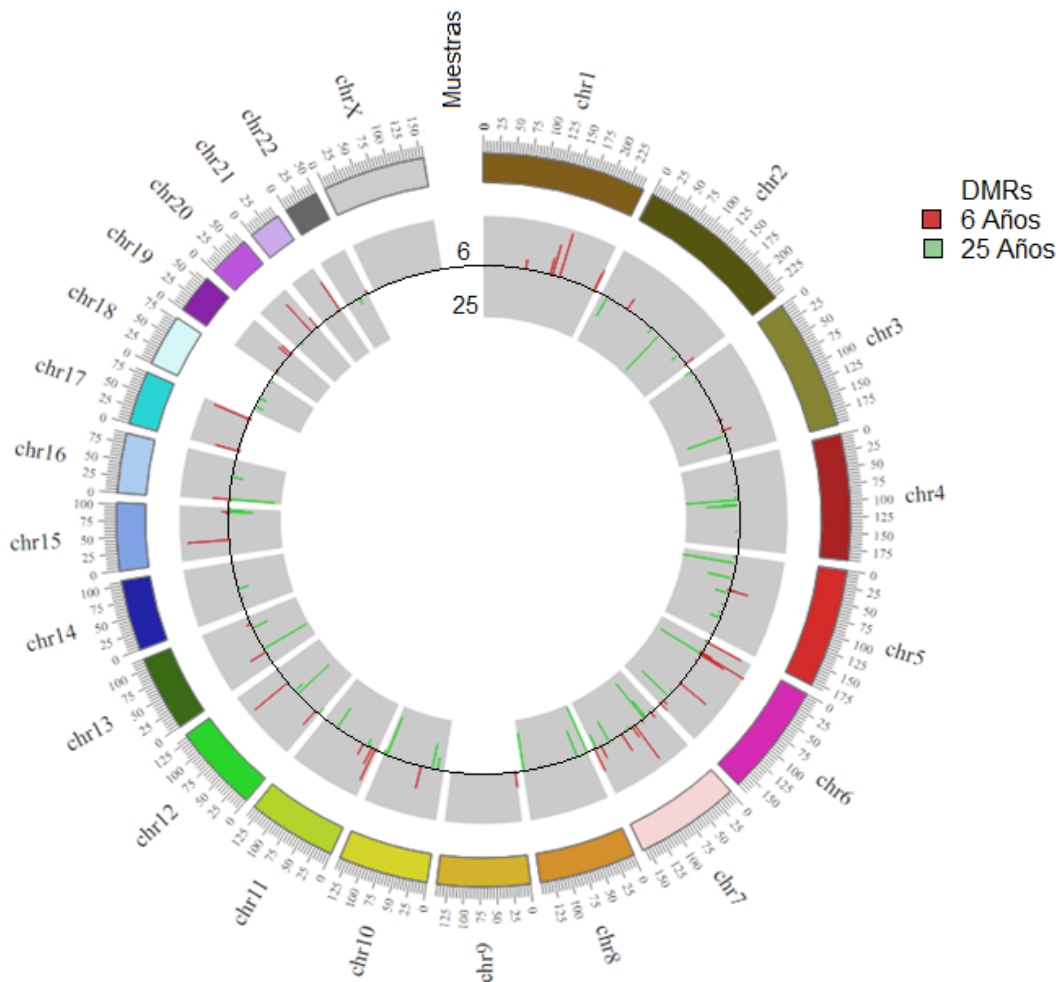


Figura 11. Distribución de DMPs por cromosomas

Perfil de metilación por genes

Con la información de los DMPs y con algoritmos topológico se realizó un análisis que permitió la identificación de genes con un mínimo de quince regiones diferencialmente metiladas, evidenciando un valor de p inferior a 0.05. En ambas muestras de pacientes, se resaltaron 60 genes que presentaron diferencias de metilación significativas.

En el contexto de los genes asociados a individuos de 6 años, se identificaron 27 genes en un estado de hipometilación, otros 27 genes en estado de hipermetilación y 6 genes con un patrón de metilación mixto (Figura 13a).

En contraste, en las muestras SWR de 25 años, se observó una cantidad considerable de genes en estado de hipermetilación y 11 en estado hipometilado, con 5 genes exhibiendo un estado mixto de metilación (Figura 13b).

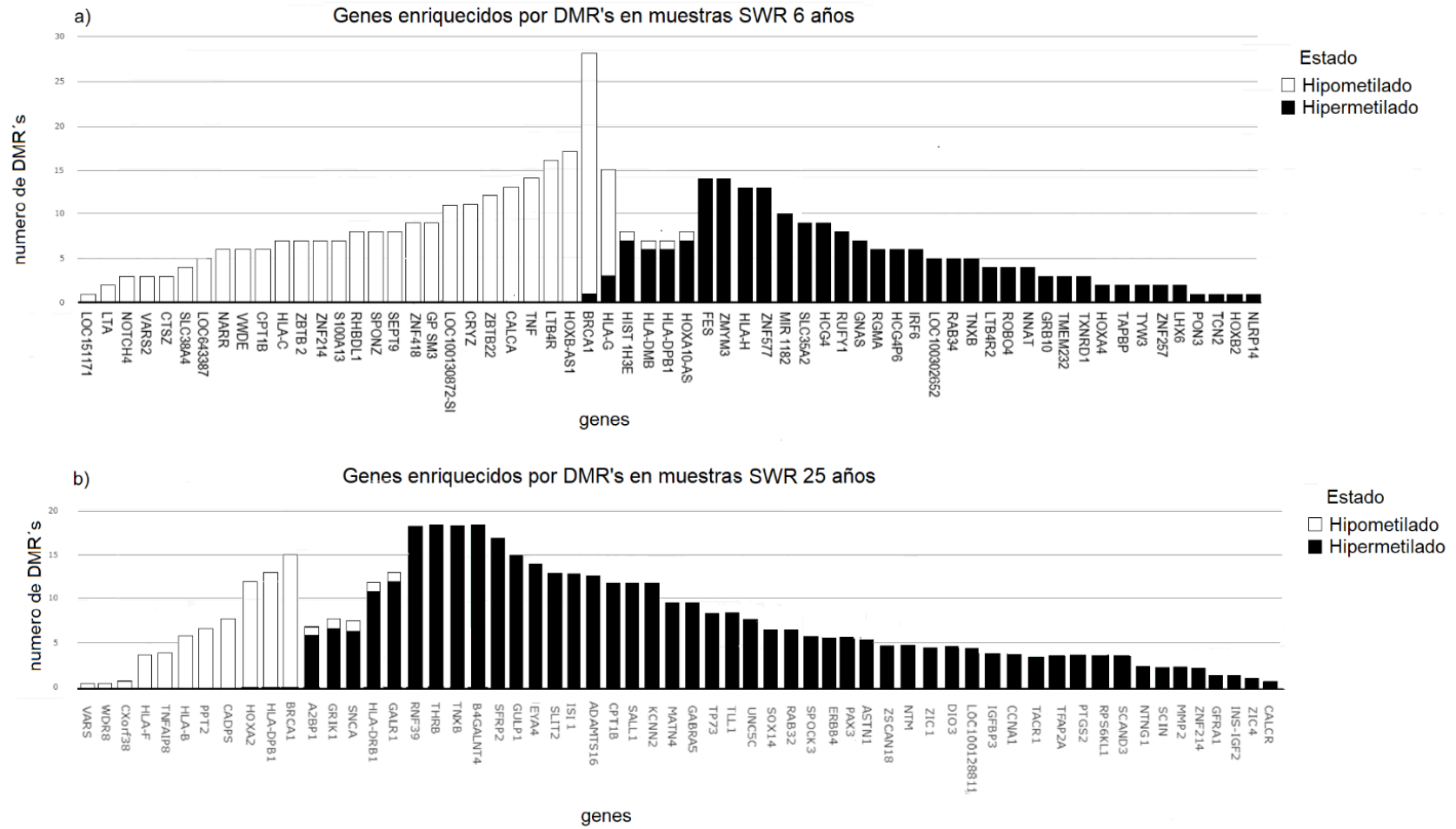


Figura 12. Genes enriquecidos por DMRs wn muestras SWR de 6 y 25 años.

Con el propósito de identificar genes significativamente metilados en las muestras SWR de 6 y 25 años, se realizó un análisis bayesiano mediante el paquete ChAMP de R. Este método se distingue por su capacidad para corregir las desigualdades en el número de sitios CpG entre genes, lo que posibilita la identificación directa de genes con cambios de metilación relevantes. Además, con el análisis Bayesiano se considera el nivel de significancia de cada sitio CpG de manera individual, lo que simplifica la identificación de genes que pueden mostrar diferencias marginales, pero biológicamente relevantes en el contexto del Análisis de Enriquecimiento Génico (GSEA).

Los resultados del análisis revelaron que en la muestra de 6 años se identificaron un total de 17.348 con genes significativamente metilados, mientras que en la muestra de 25 años se encontraron 15.729 genes significativamente metilados. En particular, se observó que alrededor de 12.790 genes presentaban diferencias comunes de metilación en ambos grupos de muestras (tabla adicional 1).

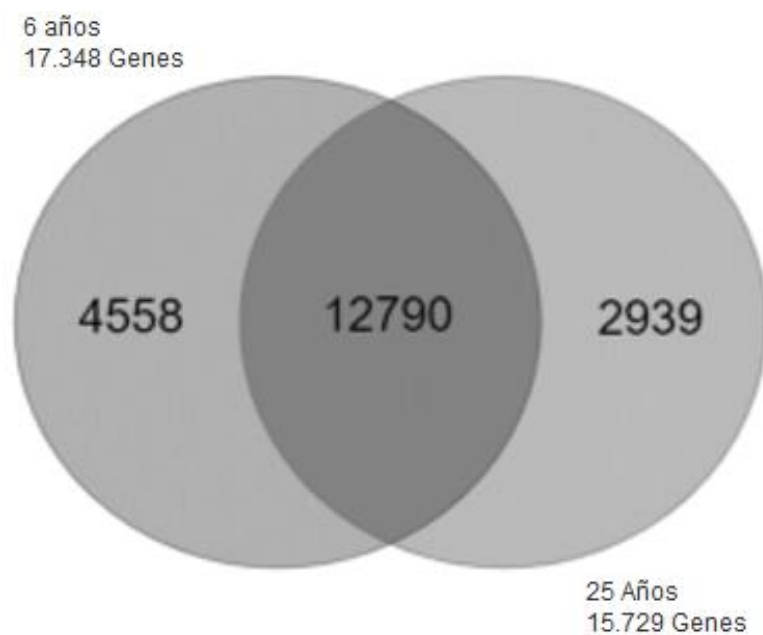


Figura 13. Superposición de genes diferencialmente metilados entre muestras de muestras SWR de 6 y 25 años.

Los genes que mostraron una metilación significativa no revelaron una metilación importante en genes asociados con procesos de metilación, como DNMT1, DNMT3a, DNMT3b y DNMT3L, ni en genes asociados con la desmetilación, como TET1, TET2 y TET3.

Senescencia

Al analizar los genes significativamente metilados mediante la base de datos CellAge Database of Cell Senescence Genes para determinar la cantidad de genes asociados a senescencia se reportó para las muestras de 6 y 25 años los siguientes resultados

	SWR 6 años	SWR 25 años
Inductores senescencia	510 genes	777 genes
Inhibidores de senescencia	315 genes	475 genes
Total	825 genes	1252 genes

Tabla 3. Cantidad de genes significativamente metilados asociados a senescencia de las muestras SWR6 y SWR25, adicionalmente se señala la cantidad de genes con actividad inductora y represora de senescencia.

En el grupo de 6 años de edad, se identificaron 510 genes asociados con inductores de senescencia y 315 genes asociados con inhibidores de senescencia, sumando un total de 825 genes relacionados con la senescencia. En contraste, en el grupo de 25 años, se observa un aumento en la complejidad de la expresión genética relacionada con la senescencia. Se identificaron 777 genes como inductores de senescencia y 475 genes como inhibidores de senescencia, sumando un total de 1252 genes.

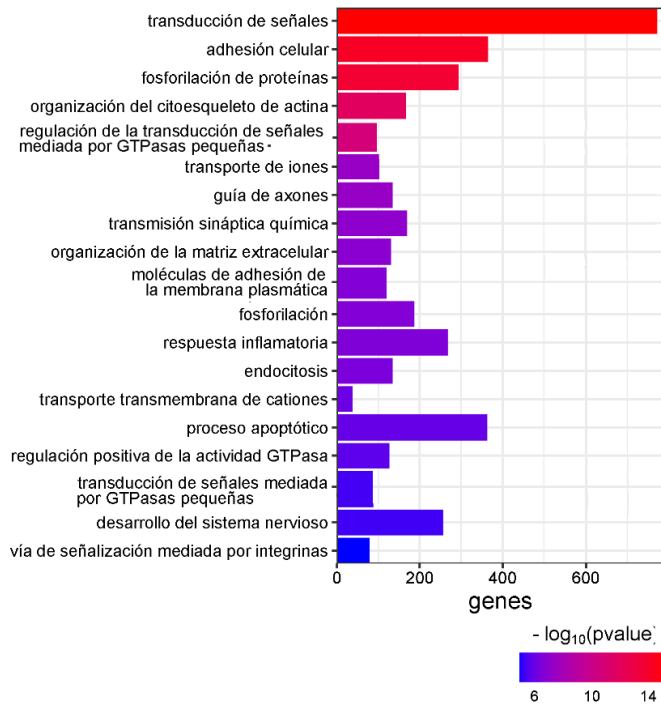
Enriquecimiento de Términos de Ontología Génica (GO):

Se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento a nivel de funciones moleculares mediante el sistema de términos de Gene Ontology para genes significativamente metilados en muestras del síndrome Wiedemann-Rautenstrauch (SWR) correspondientes a dos grupos etarios, uno de 6 años y 25 años.

En las muestras de SWR de 6 años, se destacaron diversas funciones moleculares con expresiones diferencialmente metiladas con una alta significancia en términos de unión a proteínas, unión de iones de calcio, unión de actina, y unión de ATP. Asimismo, se identificaron actividades relevantes como la actividad de la proteína serina/treonina/tirosina cinasa ($1,80E-10$) y la unión de GTPasa pequeñas (figura15a).

Por otro lado, en las muestras de SWR de 25 años, se evidenciaron patrones específicos de metilación en funciones moleculares. Como unión a proteínas ($7,80E-18$), y unión de iones de calcio y unión a filamentos de actina. Se destacar en este análisis funciones moleculares asociadas a la transcripción de la ARN polimerasa II y Actividades asociadas a los factores de transcripción (Figura 15b)

a) Enriquecimiento de Términos de Ontología Génica (GO):
Procesos biológicos en genes diferencialmente metilados
en paciente SWR de 6 años



b) Enriquecimiento de Términos de Ontología Génica (GO):
Procesos biológicos en genes diferencialmente metilados
en paciente SWR de 25 años

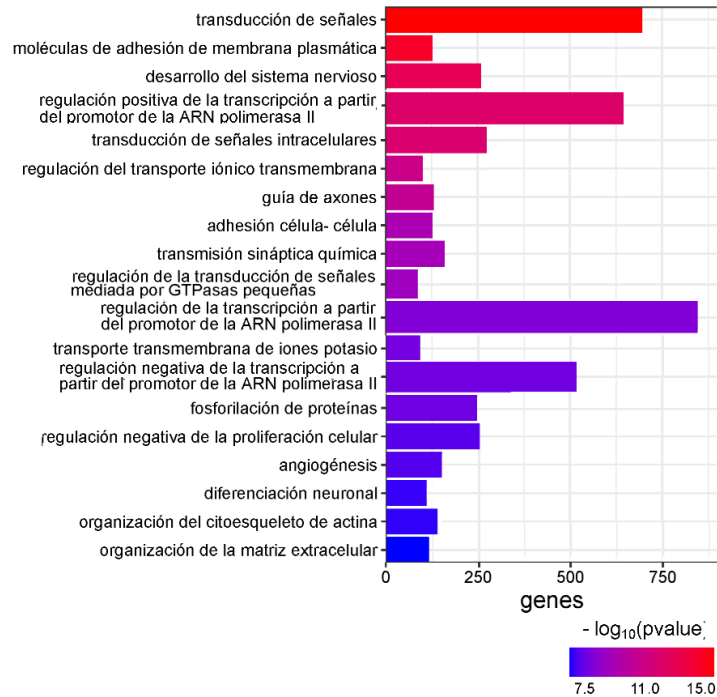
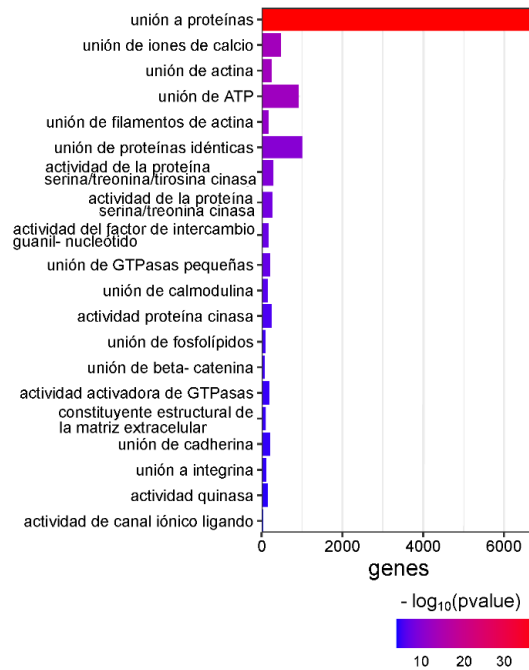


Figura 14. Análisis de Ontología de Genes Significativamente Metilados (P-Valor < 0,05) según función biológica en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b)

Los genes con metilación significativa en las muestras fueron sometidos a un análisis mediante Gene Ontology (GO). En la muestra de 6 años, se identificaron procesos biológicos significativos, tales como la transducción de señales, adhesión celular, fosforilación de proteínas, transporte membranal y procesos apoptóticos, entre otros (Figura 16a). Por otro lado, en la muestra de 25 años, se encontraron términos asociados a procesos biológicos comunes con la muestra de 5 años, como la transducción de señales, adhesión celular, transporte membranal y fosforilación de proteínas. Sin embargo, se destacaron diferencias significativas, especialmente en unión específica a doble cadena de secuencia, regulación de la transcripción a partir de los promotores de la ARN polimerasa II y la regulación negativa de la proliferación celular (Figura 16b).

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

a) Enriquecimiento de términos de ontología génica (GO)
 Función molecular en genes diferencialmente metilados
 en paciente SWR de 6 años



b) Enriquecimiento de términos de ontología génica (GO)
 Función molecular en genes diferencialmente metilados
 en paciente SWR de 25 años

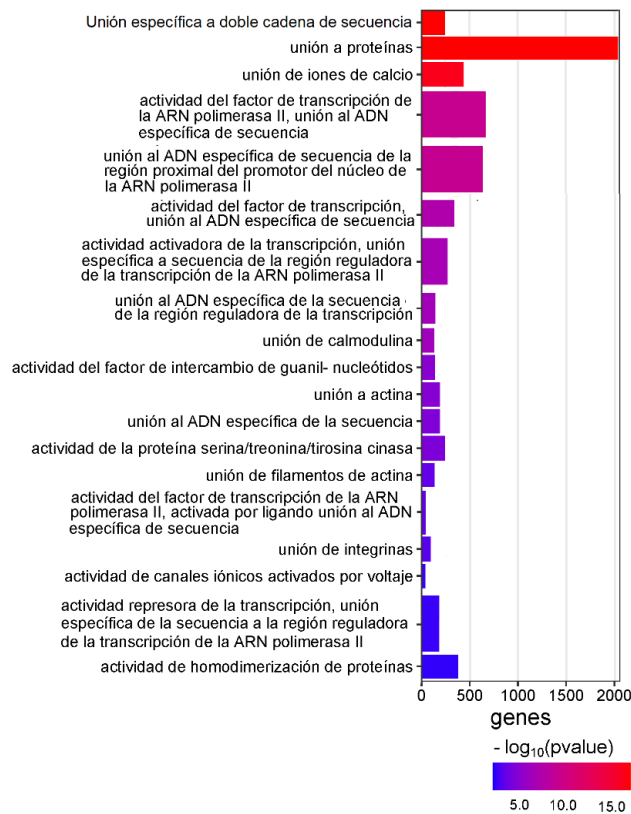


Figura 15. Análisis de Ontología de genes significativamente metilados (P-Valor < 0,05) con respecto a procesos biológicos en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b)

El análisis de la ontología génica de genes con metilación diferencial reveló hallazgos significativos en relación con los componentes celulares presentes en las muestras de individuos afectados por el síndrome Wiedemann-Rautenstrauch (SWR), específicamente en los grupos de 6 y 25 años de edad.

En el caso del individuo de 6 años, se identificaron expresiones diferencialmente metiladas en diversos componentes celulares. Se destacan, entre otros, la significativa presencia de metilación en la membrana y sus componentes, así como en el citoplasma y el aparato de Golgi. Además, se observaron niveles notables de metilación en estructuras asociadas específicamente a la función neuronal (Figura 17a).

Por otro lado, en el individuo de 25 años, se evidenciaron patrones distintos de metilación en varios componentes celulares. Se observaron valores significativos en la membrana plasmática y sus componentes, el citoplasma, citosol, matriz extracelular y cromatina. Asimismo, se identificaron niveles notables de metilación en estructuras relacionadas con la función neuronal, tales como la sinapsis de glutamato, proyección neuronal y el axón (Figura 17b)

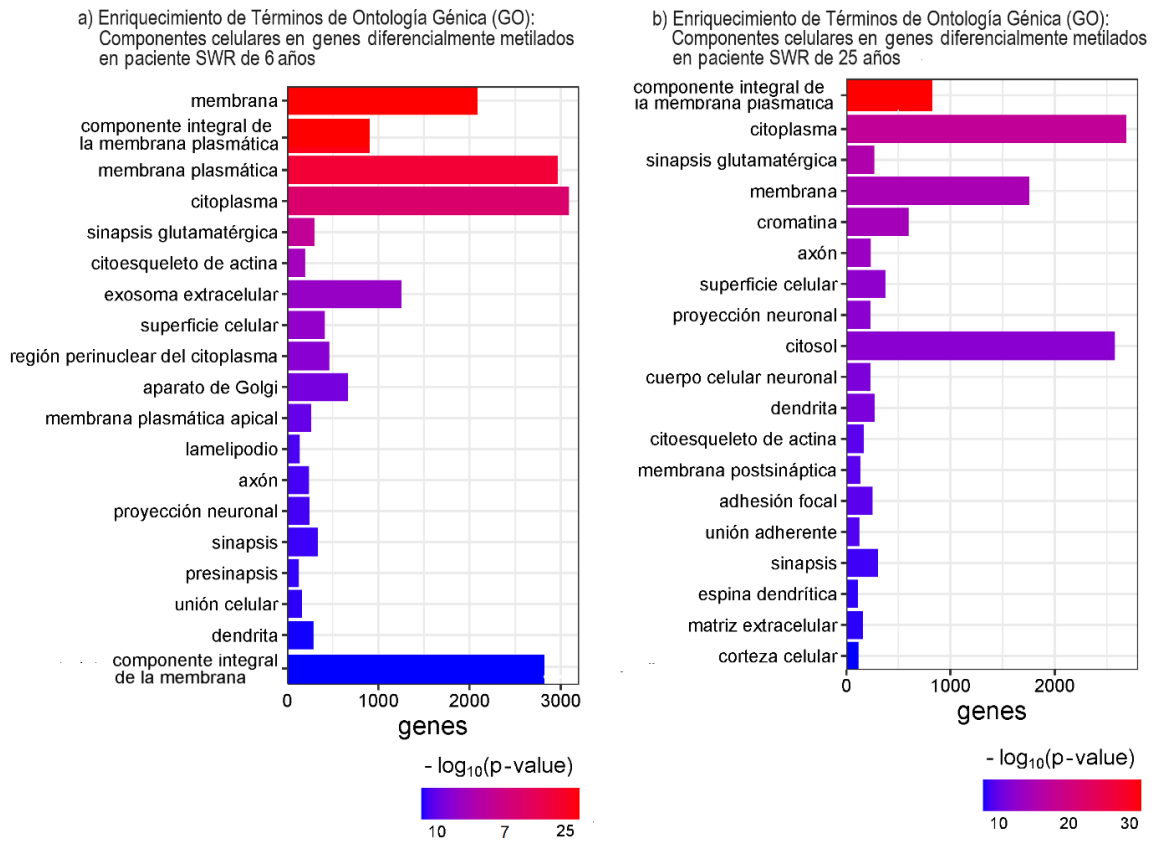


Figura 16. Análisis de Ontología de Genes Significativamente Metilados (P-Valor < 0,05) por componente celular en muestras SWR de 6 años (a) y 25 años (b)

Relojes epigenéticos

Utilizando los B-valores normalizados de todas las muestras SWR y Control, se empleó el paquete "methclock" del software estadístico R para estimar la edad cronológica de las muestras basándose en la cantidad y el grado de metilación de dinucleótidos CpG específicos. Se seleccionaron los relojes epigenéticos de Horvath, Hannum, Levine, Wu y de longitud telomérica (TL) reconocidos por su precisión y aplicabilidad.

La determinación de la edad cronológica de las muestras se realizó mediante la aplicación de relojes epigenéticos que asocian el grado de metilación de citocinas específicas con la edad cronológica, para esto se usaron cuatro relojes que asociaban la metilación de CpG (Horvath, Hannum, Levine y Wu) y uno que asociaba la metilación en CpG en telómeros con la edad biológica.

En una fase inicial, se determinó la cantidad y el porcentaje de dinucleótidos CpG omitidos por cada reloj epigenético. Se encontró que el porcentaje de CpG omitidos es inferior al 9%, en todas las muestras, lo que sugiere una buena fiabilidad en la estimación de la edad cronológica (Tabla 4).

Reloj	CpG Rejol	CpG omitidos	Porcentaje perdida
Horvath	353	17	4.8
Hannum	71	6	8.5
Levine	513	0	0.0
Wu	111	4	3.6
Longitud Telomérica	140	0	0.0

Tabla 4. Porcentaje y cantidad de CpG omitidos por todas las muestras en la determinación de la edad cronológica mediante los relojes epigenéticos de Horvath, Hannum, Levine, Wu y de longitud telomérica.

En relación al reloj de Horvath, se observa que la edad epigenética en ambos grupos a los 6 años se encuentra dentro de un rango esperado para la edad cronológica. En el grupo de control de 25 años, la edad epigenética muestra una ligera elevación sobre la edad cronológica, consistente con la variabilidad normal asociada con la edad biológica. En contraste, en el grupo SWR25, la diferencia sustancial entre la edad epigenética y la edad cronológica sugiere un envejecimiento biológico significativamente acelerado.

En el reloj de Hannum, la diferencia entre las edades epigenéticas de CTR6 y SWR6 es relativamente pequeña, indicando similitud en la edad epigenética y cronológica a los 6 años. Sin embargo, en SWR25, la edad epigenética es significativamente mayor que en CTR25.

En el caso de Levine, la edad epigenética de SWR6 es notablemente mayor que la de CTR6, Por otro lado, en SWR25, la edad epigenética es menor que en CTR25, lo que sugiere una discrepancia interesante que podría estar relacionada con las diferencias en los marcadores epigenéticos utilizados por Levine.

En cuanto al reloj de Wu, la diferencia entre las edades epigenéticas de CTR6 y SWR6 es pequeña a los 6 años, indicando similitud entre la edad epigenética y cronológica en ambos

grupos. Sin embargo, a los 25 años, la discrepancia en la edad epigenética entre CTR25 y SWR25 es sustancial, indicando una marcada diferencia en el envejecimiento biológico entre el grupo de control y el grupo con síndrome SWR.

En relación a la longitud de los telómeros, a los 6 años, la longitud en SWR6 es significativamente mayor que en CTR6, indicando posibles diferencias en el proceso de envejecimiento y la estabilidad de los telómeros. A los 25 años, la longitud en SWR25 es considerablemente menor que en CTR25 (Tabla 5).

Muestra	Horvath	Hannum	Levine	Wu	Longitud Telomérica
CTR6a	6.72	6.51	6.3	5.69	6.09
CTR6b	6.90	6.72	6.5	6.10	6.09
SWR6a	6.07	7.62	31.2	5.99	8.11
SWR6b	6.43	10.4	29.3	6.37	8.21
CTR25a	25.8	24.5	25.8	25.8	25.31
CTR25b	25.4	25.0	25.8	24.9	25.29
SWR25a	39.5	27.2	21.6	12.4	6.95
SWR25b	39.8	28.6	21.2	11.6	6.94

Tabla 5. Estimación de la edad biológica de los individuos mediante los relojes epigenéticos de Horvath, Hannum, Levine, Wu y de Longitud Telomérica

Discusión

Hipermetilacion como respuesta a mutacion POLR3A

La comprensión del efecto de la metilación del ADN en la actividad de POLR3 es una área actualmente poco explorada. La primera investigación con este propósito se realizó en 1990, y aunque limitada en sus conclusiones, estableció que la hipermetilación del ADN no codificante inhibía la actividad de POLR3 (Besser et al., 1990).

En los análisis de metilación del ADN codificante de todas las DMPs (Figura 5 y 6) de nuestros resultados revelan un agrupamiento de clusters entre muestras de edades similares, siendo las mutaciones de POLR3A un factor secundario determinante en la variación de metilación entre las muestras de SWR y el grupo de control. Similar a otras enfermedades progeroides como Werner o Hutchinson-Gilford, la mutación específica en los genes causales de estas patologías genera fenotipos progeroides únicos, en los cuales la metilación desempeña un papel determinante (Carlund et al., 2023; Crochemore et al., 2021).

Al analizar la tendencia de metilación en las muestras estudiadas de pacientes con SWR, se observa un marcado patrón de hipermetilación tanto a los 6 como a los 25 años en genes codificantes. Este hallazgo sugiere que la hipermetilación podría operar como un mecanismo que previene la falta de estabilidad genética en los genes, contribuyendo así a la supervivencia del individuo con SWR.

Análisis de DMPs por regiones genómicas

Al realizar los análisis de DMPs por regiones genómicas, se reporta que la metilación en genes codificantes en individuos de 6 años presenta patrones de metilación que no presentan una relación con la manifestación de una patología o el envejecimiento, contrario a lo que ocurre con las muestras de 25 años en la cual se presenta una hipermetilación significativa en la región de islas y una hipometilación en las sonas de mar abierto (Kling & Carén, 2019; Visone et al., 2019b).

Cantidad de DMPs por regiones específicas varían en regiones de islas y mar abierto.

El efecto de la metilación por regiones específicas en la expresión de una patología o el envejecimiento es un tema de actual estudio, lo cual únicamente la literatura actual nos puede dar información sobre la región de islas las cuales contiene la mayor concentración de islas CpG en procesos transcripcionales

Los patrones de metilación observados en las dos muestras presentan importantes implicaciones. En el individuo de 6 años, se observa un patrón de hipometilación en las regiones promotoras (TSS1500 y TSS200), así como en la región 5'UTR y el primer exón, lo cual sugiere un estado correspondiente a una persona relativamente joven y sin efectos de patologías. Este patrón de hipometilación es consistente con una relativa estabilidad genómica y una regulación normal de la expresión génica. En contraste, en la muestra de 25 años, se evidencia un estado de hipermetilación en las regiones TSS1500, TSS200, 5'UTR y el primer exón, propio de la patología progeroide. Esta hipermetilación puede interferir en la unión de factores de transcripción y la ARN polimerasa II, lo que potencialmente conlleva a una desregulación de la expresión génica y contribuye a la patología (Ji et al., 2023; Puig & Agrelo, 2012) .

En estas regiones (TSS1500 y TSS200, 5'UTR y el primer exón), se observa que las muestras de patología SWR siguen un programa de hipermetilación de regiones promotoras dependiente del incremento de la edad. Sin embargo, el efecto de cambios estocásticos dependientes de la mutación específica de SWR y de sus efectos acumulativos no es evidente (Reale et al., 2022).

En la muestra de 6 años de SWR, se observa una mayor concentración de DMPs en las islas del cuerpo del gen, lo que sugiere un estado anormal patogénico asociado con la hipometilación. Además, se plantea la posibilidad del efecto de la hipermetilación en la región del mar abierto en el cuerpo del gen, y su potencial incidencia en los procesos transcripcionales y traduccionales. En contraste, en la muestra de 25 años de SWR, se evidenció un estado de hipermetilación en la región del cuerpo del gen, específicamente en la isla, lo cual contrasta con las proyecciones de hipometilación propias del fenotipo

progeroide. A su vez, se observa un estado de hipometilación en la región del mar abierto del cuerpo del gen, lo que concordaría con el fenotipo progeroide patogénico.

El conjunto de conocimientos sobre la metilación en la región del cuerpo del gen en el cáncer está en desarrollo, con nuevos estudios que también vinculan la hipermetilación como un factor determinante (Q. Wang et al., 2022; Yen et al., 2020). En el contexto de un síndrome progeroide como el SWR, la variación en la metilación en regiones como islas, plataformas, playas y mar abierto puede dar lugar a una diversidad de respuestas asociadas con mutaciones específicas en POLR3A. Este fenómeno podría tener un impacto significativo en dinámicas moleculares clave, tales como la regulación del splicing alternativo, la generación precisa de la traducción y el mantenimiento de una transcripción estable y ordenada

En las muestras de síndrome progeroide de 6 años, se observa una mayor proporción de DMPs en estado de hipometilación en la isla de la región intergénica, mientras que en la región de mar abierto de las regiones intergénicas se presenta en un estado de hipermetilación. Por otro lado, en muestras de síndrome progeroide de 25 años, se evidencia un estado de hipermetilación en las regiones intergénicas de la isla. Además, es significativa la proporción de DMPs en la región intergénica en estado de hipometilación.

En el contexto del síndrome progeroide, la hipometilación en una región intergénica específica indicaría inestabilidad genómica y un efecto negativo en la síntesis de LINES, SINES, LncARN, LINES y LincARN (Luo et al., 2018; Yadav & Mohapatra, 2018). Por otro lado, la hipermetilación en la región intergénica tiene la capacidad de silenciar la activación anormal de sitios de inicio de transcripción y de splicing. Además, la hipermetilación en las regiones intergénicas también conlleva el silenciamiento de elementos transponibles. Si estos elementos no se silencian, pueden provocar inserciones, deleciones y translocaciones no deseadas dentro del genoma, lo que a su vez puede causar cambios mutagénicos y alteración del funcionamiento normal de otros genes (Acharjee et al., 2023).

DMRs en genes con tendencia a hipermetilación

En el análisis de la agrupación de DMPs por regiones diferencialmente metiladas o DMR, se evidenció que la metilación no sigue un patrón similar a lo largo de los cromosomas, lo que indica una variación significativa en la metilación entre los diferentes cromosomas, independientemente de la región cromosómica (Zane et al., 2014)).

Al analizar los genes enriquecidos por DMRs en muestras de SWR de 6 años, se observó una cantidad significativa de DMRs en estado de hipermetilación, lo cual contrasta con la tendencia de hipometilación de genes asociados a individuos jóvenes. Esta observación se interpreta como un efecto específico en la metilación debido a la mutación POLR3A (c. 3G>T). Por otro lado, en las muestras de SWR de 25 años, se evidenció una predominancia de genes en estado de hipermetilación, lo cual se asocia con el efecto de la mutación específica POLR3A (c. 3772-3773 del ct) y con el efecto acumulativo de la metilación asociada al incremento de la edad. Este mecanismo de hipermetilación puede influir en la regulación de la expresión génica, así como en la estabilidad y estructura de los cromosomas, lo que sugiere su importancia en la preservación de la integridad genómica (Zane et al., 2014).

Genes enriquecidos muestran efectos en la membrana plasmática y en procesos de transducción de señales

Se realizó un análisis de los componentes celulares mediante el enriquecimiento de términos GO utilizando genes significativamente metilados de los pacientes SWR. Se observó que los genes que comparten la misma metilación están mayormente asociados con la membrana celular, y que dichos términos están principalmente relacionados con procesos de transducción de señales. Este hallazgo es representativo, ya que sugiere que las mutaciones en POLR3A inciden significativamente en la metilación de genes que regulan la transducción de señales en las células.

Las modificaciones epigenéticas basadas en la metilación del ADN pueden influir en los cambios fenotípicos que acompañan al envejecimiento, al disminuir la actividad

transcripcional. Nuestro análisis de la metilación de genes codificantes afectados por la mutación de POLR3A, mediante la exploración de términos en la Ontología Génica con énfasis en procesos biológicos, revela una tendencia hacia la acumulación de términos relacionados con la transducción de señales. Esta acumulación se atribuye a factores como la inestabilidad genómica, la organización de la cromatina y la comunicación intercelular, los cuales propician el malfuncionamiento de la transducción de señales (Berridge, 2012). Investigaciones indican que la hipermetilación del promotor de p16INK4, p14ARF, RB, PTEN y p53 afecta la función de las vías de señalización de RB, PI3K y p53 (Saneyasu et al., 2019).

Se destaca un efecto significativo de la metilación debido a la mutación de POLR3A en las moléculas de adhesión, las cuales desempeñan un papel crucial en la regulación de las transducciones de señales intracelulares. Las interacciones célula-célula y célula-matriz modulan el fenotipo celular, la supervivencia, la diferenciación y la migración, contribuyendo directamente a la senescencia (Borsig & Läubli, 2019). La metilación diferencial conlleva cambios en la adhesión celular en la expresión de ncARNm, lo que sugiere que la regulación epigenética de estos genes contribuye al mal funcionamiento placentario y/o al desarrollo de enfermedades, y puede ser consecuencia directa de la mutación en POLR3A (Anton et al., 2014). Además, en el sistema nervioso, se observa que algunas moléculas de adhesión célula-célula alteran su funcionamiento de acuerdo al patrón de metilación en el contexto de patologías del nervio periférico. Específicamente, las células de Schwann normales (NSCs) y las células de Schwann activadas (ASCs) modifican el proceso de desarrollo neuronal y sináptico (Zuo et al., 2021).

Los reportes indican una interdependencia entre la metilación de promotores de ADN y la fosforilación de proteínas en la activación del fenotipo senescente. La síntesis de proteínas, incluida la traducción de ncARN específicos (ARNm), está regulada por estímulos extracelulares como hormonas y por los niveles de ciertos nutrientes dentro de las células. Este control implica varias vías de señalización y quinasas de proteínas, que regulan la fosforilación de proteínas que controlan la maquinaria de traducción (Proud, 2019).

Por ejemplo, se ha observado que la hipermetilación del ADN aumenta la síntesis de enzimas promotoras de proteínas quinasas AKT y mTOR (diana de rapamicina en mamíferos), lo que promueve la activación de procesos oncogénicos. Por lo tanto, la sobreexpresión de estas proteínas disminuye la transcripción de enzimas DNMT (M. Chen et al., 2023; N. Liu et al., 2020; Spangle et al., 2017)

El potencial de membrana, cuya regulación es influenciada por la metilación del ADN, desempeña un papel crucial en la modulación de actividades celulares, como la proliferación, migración y diferenciación de las células (Silver & Nelson, 2018). La metilación del ADN regula la síntesis de transportadores de cationes e iones, lo que altera el potencial de membrana y activa señales intracelulares, como el Ca^{2+} , que regula la proliferación celular (Y. Wang et al., 2024).

Se ha observado de manera significativa que en el grupo de genes relevantes de SWR de 25 años se encuentran términos de Gen Ontology relacionados con la regulación de la transcripción a partir de los promotores de ARN polimerasa II. Este hallazgo sugiere la posibilidad de que la mutación específica POLR3A c. 3772-3773 del ct pueda modular la metilación de genes reguladores de la transcripción de POLII. Asimismo, es plausible que la alteración de los patrones normales de metilación en los genes no codificantes de ARN pueda influir en la promoción o represión de la transcripción de genes codificantes, lo que subraya la necesidad de llevar a cabo una investigación más detallada sobre este fenómeno.

En el contexto de las funciones celulares, es notable observar que los genes significativamente metilados de SWR están asociados de manera significativa con el término de la Unión de Iones de Calcio en la ontología génica, lo que sugiere una posible asociación entre la metilación de genes codificantes y la Hipótesis del Calcio (Bezprozvanny, 2019). Esta asociación puede tener implicaciones importantes en la regulación de procesos celulares. Además, muchos de estos términos están activamente vinculados a procesos de transducción de señales, lo que señala la importancia de la metilación en la regulación de estas vías de señalización intracelular.

Por otro lado, la metilación causada por mutaciones en el gen SWR en la muestra de 25 años parece incidir más en las actividades de transcripción celular, lo que sugiere que este aumento en la metilación podría regular las actividades de la ARN polimerasa III y su afinidad con los factores de transcripción, lo que a su vez podría tener un impacto significativo en la regulación de la expresión génica y la función celular.

Genes significativamente metilados inducen a senescencia celular

Los genes significativamente metilados de SWR, analizados a través de la base de datos CellAge Database of Cell Senescence Genes, han permitido identificar la cantidad de genes inductores de senescencia presentes en muestras de 6 años (510 genes) y 25 años (777 genes). Este análisis revela la posible implicación de genes metilados asociados al síndrome Wiedemann-Rautenstrauch en los procesos de senescencia. Estos hallazgos refuerzan las teorías planteadas por Báez-Becerra en 2020.

Durante el proceso de senescencia, se observan cambios significativos en los patrones de metilación del ADN. Estos cambios pueden ejercer influencia sobre la expresión génica y la regulación de vías celulares relacionadas con la senescencia. Asimismo, la metilación del ADN puede desempeñar un papel crucial en la modulación de la senescencia celular al regular genes involucrados en el mantenimiento de la integridad genómica, la respuesta al estrés y la comunicación intercelular. Por otro lado, el perfil de metilación del ADN se modifica de manera significativa durante la senescencia replicativa, los errores en la metilación pueden acumularse debido a la división celular repetida y afectar la expresión de genes (Lander et al., 2001)

El análisis funcional de los genes con metilación diferencial significativamente afectados por la mutación de POLR3A, reveló una variedad de categorías funcionales alteradas como la estructura celular, vías de señalización, desarrollo y dinámicas de membrana. Esta observación sugiere que los cambios observados en la metilación del ADN en SWR podría ser un evento potencialmente contribuyente de las alteraciones en diversas funciones celulares comunes durante el proceso de envejecimiento normal y, por lo tanto, podría

desempeñar un papel causal en el desarrollo de fenotipos anormales asociados al envejecimiento.

No obstante, para comprender completamente el impacto de la metilación en diferentes genes y procesos celulares, se requiere realizar una evaluación específica de cada gen y su función a nivel celular. De tal forma, es esencial llevar a cabo análisis proteómicos para investigar el efecto de la variación específica de la mutación de POLR3A en el patrón de metilación y su asociado con cambios en la expresión de proteínas. Un estudio comparativo entre el metiloma y el transcriptoma permitirá adicionalmente determinar de manera precisa cómo la metilación influye en la expresión génica y, en última instancia, en la síntesis de proteínas.

Relojes epigenéticos

Los datos obtenidos en la Tabla 4 sugieren que la omisión de CpG no es un factor determinante en la estimación de la edad biológica, adicionalmente en la Tabla 5 se evidencia que la estimación de la edad biológica es acertada con la edad biológica de los individuos control tanto en 6 y 25 años.

El análisis de la edad epigenética a través del reloj epigenético de Horvath, desarrollado como un predictor multitejido de la edad independiente de los cambios asociados a la composición celular sanguínea, reveló en la muestra SWR6 que los 353 sitios CpG estimaban adecuadamente la edad biológica de los individuos en concordancia con su edad cronológica. Sin embargo, en el caso de la muestra SWR25, se propone que la aceleración de la edad está vinculada a procesos senescentes, lo que sugiere una posible conexión entre la aceleración de la edad epigenética y los procesos fisiológicos asociados al envejecimiento celular (Horvath, 2013)

Con respecto al reloj de Hannum utiliza selectivamente 71 sitios CpG estratégicamente posicionados cerca de genes vinculados al envejecimiento. Este estimador de edad está diseñado para muestras de sangre de adultos, lo que resulta en estimaciones sesgadas al aplicarse a niños y tejidos no sanguíneos. Además, se ve afectado por cambios

relacionados con la edad en la composición sanguínea (Dutta et al., 2023). En el caso de SWR6, se observa una leve aceleración en la edad biológica de los individuos, lo que pone de manifiesto sus limitaciones en la determinación de la edad infantil. Por otro lado, en las muestras SWR25, este reloj epigenético demostró una estimación de la edad biológica más cercana a la edad cronológica de las muestras.

La aplicación del reloj epigenético de Levine, que establece una conexión entre la edad del individuo, su expectativa de vida y su estado de salud, revela que en las muestras SWR6 se observa una aceleración significativa en la edad estimada en comparación con la edad cronológica del individuo. Según la literatura, esta aceleración es un indicador de procesos de senescencia, deterioro de la salud y una alta tasa de mortalidad. Por otro lado, en el caso de SWR25 se evidencia una desaceleración en la edad biológica, lo que sugiere que el estado de las CpG de la muestra presenta una débil correlación con la edad biológica debido a la metilación heterogénea generada por la edad y el patrón de metilación influenciado por la mutación de POLR3A (Z. Liu et al., 2020).

En el reloj epigenético de Wu asociado a 111 genes que toma en cuenta los datos de metilación en muestras de niños, se reporta que la aceleración coincide con las estimaciones del reloj epigenético en la cual establece que la metilación en niños acelera posterior a los 11 años. Adicionalmente, el estimativo de Wu también señala que las metilación CpG seleccionadas evidencian una edad negativa en asociación a patologías como Parkinson o Alzheimer que están estrechamente relacionadas con hipermetilación de genes (Wu et al., 2019)

En relación al reloj epigenético vinculado a la longitud de los telómeros, se observa que la aceleración del envejecimiento en el grupo SWR6 está asociada con la limitación de este método para determinar la edad biológica en muestras de infantes. Por otro lado, en el grupo SWR25 se evidencia una desaceleración en el proceso de envejecimiento, la cual está vinculada a la reducción de los telómeros, un rasgo molecular característico del síndrome SWR. Estos hallazgos sugieren la relevancia de la longitud de los telómeros en

la determinación del envejecimiento biológico en el contexto del síndrome SWR. (Báez-Becerra et al., 2020b; Weidner et al., 2014).

Conclusiones

- 1) La mutación puntual en POLR3A tiene un efecto significativo en el perfil de metilación de regiones y genes específicos. Esta mutación genera una tendencia de los genes a una expresión anormal de genes, lo que a su vez conlleva a cambios en las dinámicas moleculares y la manifestación de fenotipos específicos de SWR.
- 2) La metilación de ADN producto de las mutaciones específicas de POLR3A pueden afectar regiones específicas del gen como islas; plataformas, playas y plataformas que pueden incidir en la generación de fenotipos específicos.
- 3) La metilación en el ADN del SWR no influye en enzimas metilasas y demetilasas.
- 4) La metilación anormal de genes está directamente asociada a procesos celulares generales como transducción de señales y moléculas de adhesión celular las cuales inciden en la senescencia y el desarrollo.
- 5) La mutación específica de POLR3A genera un patrón de metilación de ADN de genes codificantes puede tener más incidencia en la regulación de la Transcripción a partir de Pol II como ocurre en SWR25
- 6) La metilación anormal de genes por parte de la mutación de POLR3A incide principalmente en funciones moleculares asociadas a membrana como unión de glicoproteínas, unión de iones y cationes y actividades de composición estructural de la matriz extracelular.
- 7) La metilación de ADN producto de la mutación de POLR3A incide en la membrana plasmática y sus componentes integrales, además de tener incidencia en las estructuras celulares nerviosas.
- 8) Los valores de metilación de las islas CpG de las muestras SWR no permiten estimar la edad biológica mediante relojes epigenéticos. La metilación anormal de CpG específicas y el efecto aditivo de la edad interfieren con la medición.
- 9) El estudio del SWR y sus implicaciones genéticas ofrece una oportunidad única para comprender los procesos fisiopatológicos del envejecimiento humano. La identificación del gen y de la vía metabólica asociada con este síndrome probablemente contribuirá a un

nuevo conocimiento sobre la fisiopatología del envejecimiento humano, lo que podría tener implicaciones significativas en la investigación sobre el envejecimiento en general.

10) Para complementar esta investigación se sugiere llevar a cabo análisis proteómicos y epigenéticos adicionales para determinar cómo la variación específica de la mutación de POLR3A afecta el patrón de metilación y la expresión de ARN y proteínas.

Referencias Bibliográficas:

1. Anton, L., Brown, A. G., Bartolomei, M. S., & Elovitz, M. A. (2014). Differential Methylation of Genes Associated with Cell Adhesion in Preeclamptic Placentas. *PLOS ONE*, 9(6), 100148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100148>
2. Aquino, E. M., Benton, M. C., Haupt, L. M., Sutherland, H. G., Griffiths, L. R. G., & Lea, R. A. (2018). Current Understanding of DNA Methylation and Age-related Disease. *OBM Genetics*, 2(2), 1–1. <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1802016>
3. Arboleda, G., Morales, L. C., Quintero, L., & Arboleda, H. (2011). Neonatal progeroid syndrome (Wiedemann-Rautenstrauch syndrome): Report of three affected sibs. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 155(7), 1712–1715. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34019>
4. Atzmon, G. (2015). Longevity genes: a blueprint of ageing. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* 0065-2598 (Vol. 847, Issue Chapter 159). http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-0-387-73657-0_159%5Cnpapers2://publication/doi/10.1007/978-0-387-73657-0_159
5. Báez-Becerra, C. T., Valencia-Rincón, E., Velásquez-Méndez, K., Ramírez-Suárez, N. J., Guevara, C., Sandoval-Hernandez, A., Arboleda-Bustos, C. E., Olivos-Cisneros, L., Gutiérrez-Ospina, G., Arboleda, H., & Arboleda, G. (2020a). Nucleolar disruption, activation of P53 and premature senescence in POLR3A-mutated Wiedemann-Rautenstrauch syndrome fibroblasts. *Mechanisms of Ageing and Development*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111360>
6. Báez-Becerra, C. T., Valencia-Rincón, E., Velásquez-Méndez, K., Ramírez-Suárez, N. J., Guevara, C., Sandoval-Hernandez, A., Arboleda-Bustos, C. E., Olivos-Cisneros, L., Gutiérrez-Ospina, G., Arboleda, H., & Arboleda, G. (2020b). Nucleolar disruption, activation of P53 and premature senescence in POLR3A-mutated Wiedemann-Rautenstrauch syndrome fibroblasts. *Mechanisms* [Http://www.bases.unal.edu.co/subjects/databases.php?letter=allof ageing and](http://www.bases.unal.edu.co/subjects/databases.php?letter=allof%20ageing%20and)

- Development*, 192(September). <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111360>
7. Bergsma, T., & Rogaeva, E. (2020). DNA Methylation Clocks and Their Predictive Capacity for Aging Phenotypes and Healthspan. *Neuroscience Insights*, 15, 263310552094222. <https://doi.org/10.1177/2633105520942221>
 8. Berridge, M. J. (2012). Calcium signalling remodelling and disease. *Biochemical Society Transactions*, 40(2), 297–309. <https://doi.org/10.1042/BST20110766>
 9. Bezprozvanny, I. (2019). Calcium hypothesis of neurodegeneration – an update. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 520(4), 667. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2019.10.016>
 10. Borsig, L., & Läubli, H. (2019). Cell Adhesion During Tumorigenesis and Metastasis. *Encyclopedia of Cancer*, 307–314. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64991-7>
 11. Calvanese, V., Lara, E., Kahn, A., & Fraga, M. F. (2009). The role of epigenetics in aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews*, 8(4), 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.03.004>
 12. Carvalho, T. S., & Lussi, A. (2017). Age-related morphological, histological and functional changes in teeth. *Journal of Oral Rehabilitation*, 44(4), 291–298. <https://doi.org/10.1111/joor.12474>
 13. Chen, B. H., Marioni, R. E., Colicino, E., Peters, M. J., Ward-Caviness, C. K., Tsai, P.-C., Roetker, N. S., Just, A. C., Demerath, E. W., Guan, W., Bressler, J., Fornage, M., Studenski, S., Vandiver, A. R., Moore, A. Z., Tanaka, T., Kiel, D. P., Liang, L., Vokonas, P., ... Horvath, S. (2016). DNA methylation-based measures of biological age: meta-analysis predicting time to death. *Aging*, 8(9), 1844–1865. <https://doi.org/10.18632/aging.101020>
 14. Chen, M., Fang, Y., Liang, M., Zhang, N., Zhang, X., Xu, L., Ren, X., Zhang, Q., Zhou, Y., Peng, S., Yu, J., Zeng, J., & Li, X. (2023). The activation of mTOR signalling modulates DNA methylation by enhancing DNMT1 translation in hepatocellular carcinoma. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/S12967-023-04103-9/FIGURES/8>
 15. Choukrallah, M. A., & Matthias, P. (2014). The interplay between chromatin and

- transcription factor networks during B cell development: Who pulls the trigger first? *Frontiers in Immunology*, 5(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00156>
16. Daniel, F. I., Cherubini, K., Yurgel, L. S., De Figueiredo, M. A. Z., & Salum, F. G. (2011). The role of epigenetic transcription repression and DNA methyltransferases in cancer. *Cancer*, 117(4), 677–687. <https://doi.org/10.1002/cncr.25482>
17. Dutta, S., Goodrich, J. M., Dolinoy, D. C., & Ruden, D. M. (2023). Biological Aging Acceleration Due to Environmental Exposures: An Exciting New Direction in Toxicogenomics Research. *Genes 2024, Vol. 15, Page 16*, 15(1), 16. <https://doi.org/10.3390/GENES15010016>
18. Fennell, L., Dumenil, T., Wockner, L., Hartel, G., Nones, K., Bond, C., Borowsky, J., Liu, C., McKeone, D., Bowdler, L., Montgomery, G., Klein, K., Hoffmann, I., Patch, A. M., Kazakoff, S., Pearson, J., Waddell, N., Wirapati, P., Lochhead, P., ... Whitehall, V. (2019). Integrative Genome-Scale DNA Methylation Analysis of a Large and Unselected Cohort Reveals 5 Distinct Subtypes of Colorectal Adenocarcinomas. *Cmgh*, 8(2), 269–290. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.04.002>
19. Funes, S. C., Fernández-Fierro, A., Rebolledo-Zelada, D., Mackern-Oberti, J. P., & Kalergis, A. M. (2021). Contribution of Dysregulated DNA Methylation to Autoimmunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11892. <https://doi.org/10.3390/ijms222111892>
20. Gilbert, H. T. J., & Swift, J. (2019). The consequences of ageing, progeroid syndromes and cellular senescence on mechanotransduction and the nucleus. *Experimental Cell Research*, 378(1), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.03.002>
21. Gonzalo, S., Kreienkamp, R., & Askjaer, P. (2017). Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome: a premature aging disease caused by LMNA gene mutations. *Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.06.007>.Hutchinson-Gilford
22. Guastafierro, T., Bacalini, M. G., Marcoccia, A., Gentilini, D., Pisoni, S., Di Blasio, A. M., Corsi, A., Franceschi, C., Raimondo, D., Spanò, A., Garagnani, P., & Bondanini, F. (2017). Genome-wide DNA methylation analysis in blood cells from patients with Werner syndrome. *Clinical Epigenetics*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13148-017-0389-4>

- 23.** Han, Y., Yan, C., Fishbain, S., Ivanov, I., & He, Y. (2018). Structural visualization of RNA polymerase III transcription machineries. *Cell Discovery*, *4*(1), 40.
<https://doi.org/10.1038/s41421-018-0044-z>
- 24.** Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Zhang, L., Hughes, G., Sada, S., Klotzle, B., Bibikova, M., Fan, J.-B., Gao, Y., Deconde, R., Chen, M., Rajapakse, I., Friend, S., Ideker, T., & Zhang, K. (2013). Genome-wide Methylation Profiles Reveal Quantitative Views of Human Aging Rates. *Molecular Cell*, *49*(2), 359–367.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.016>
- 25.** Hennekam, R. C. M. (2020). Pathophysiology of premature aging characteristics in Mendelian progeroid disorders. *European Journal of Medical Genetics*, *63*(11), 104028.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2020.104028>
- 26.** Hiraide, T., Nakashima, M., Ikeda, T., Tanaka, D., Osaka, H., & Saitsu, H. (2020). Identification of a deep intronic POLR3A variant causing inclusion of a pseudoexon derived from an Alu element in Pol III-related leukodystrophy. *Journal of Human Genetics*, *65*(10), 921–925. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-0786-y>
- 27.** Hodjat, M., Khan, F., & Saadat, K. A. S. M. (2020). Epigenetic alterations in aging tooth and the reprogramming potential. *Ageing Research Reviews*, *63*(July), 101140.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101140>
- 28.** Horvath, S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology*, *14*(10), R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>
- 29.** Hu, S., Wu, J., Chen, L., & Shan, G. (2012). Signals from noncoding RNAs: Unconventional roles for conventional pol III transcripts. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, *44*(11), 1847–1851.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.07.013>
- 30.** Huidobro, C., Fernandez, A. F., & Fraga, M. F. (2013). Aging epigenetics: Causes and consequences. *Molecular Aspects of Medicine*, *34*(4), 765–781.
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.06.006>
- 31.** Illumina. (2021). *MethylationEPIC v1.0 LIMS Product Descriptor File* (p. 50).
- 32.** Irizarry, R. A., Ladd-Acosta, C., Wen, B., Wu, Z., Montano, C., Onyango, P., Cui, H.,

- Gabo, K., Rongione, M., & Webster, M. (2009). Genome-wide methylation analysis of human colon cancer reveals similar hypo-and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. *Nature Genetics*, *41*(2), 178.
<https://doi.org/10.1038/ng.298>.Genome-wide
- 33.** Ito, S., D'Alessio, A. C., Taranova, O. V., Hong, K., Sowers, L. C., & Zhang, Y. (2010). Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature*, *466*(7310), 1129–1133. <https://doi.org/10.1038/nature09303>
- 34.** Ito, T., Kubiura-Ichimarui, M., Murakami, Y., Bogutz, A. B., Lefebvre, L., Suetake, I., Tajima, S., & Tada, M. (2022). DNMT1 regulates the timing of DNA methylation by DNMT3 in an enzymatic activity-dependent manner in mouse embryonic stem cells. *PLOS ONE*, *17*(1), e0262277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262277>
- 35.** Jay, A. M., Conway, R. L., Thiffault, I., Saunders, C., Farrow, E., Adams, J., & Toriello, H. V. (2016). Neonatal progeroid syndrome associated with biallelic truncating variants in POLR3A. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, *170*(12), 3343–3346.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37960>
- 36.** Jeltsch, A., Ehrenhofer-Murray, A., Jurkowski, T. P., Lyko, F., Reuter, G., Ankri, S., Nellen, W., Schaefer, M., & Helm, M. (2017). Mechanism and biological role of Dnmt2 in Nucleic Acid Methylation. *RNA Biology*, *14*(9), 1108–1123.
<https://doi.org/10.1080/15476286.2016.1191737>
- 37.** Ji, Y., Xie, Y., Zhang, M., Zhou, J., Peng, L., Zheng, Y., & Shu, S. (2023). Role of SATB2 5' Untranslated Region Promoter Methylation in Formation of Non-syndromic Cleft Palate Only. *Eurasian Journal of Medicine and Oncology*, *7*(2), 165–173.
<https://doi.org/10.14744/ejmo.2023.41377>
- 38.** Jin, B., & Robertson, K. D. (2013). DNA methyltransferases, DNA damage repair, and cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *754*, 3–29.
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9967-2_1
- 39.** Kabacik, S., Lowe, D., Fransen, L., Leonard, M., Ang, S.-L., Whiteman, C., Corsi, S., Cohen, H., Felton, S., Bali, R., Horvath, S., & Raj, K. (2022). The relationship between epigenetic age and the hallmarks of aging in human cells. *Nature Aging*, *2*(6), 484–493.

<https://doi.org/10.1038/s43587-022-00220-0>

40. Kipling, D., Davis, T., Ostler, E. L., & Faragher, R. G. A. (2004). What Can Progeroid Syndromes Tell Us About Human Aging? *Science*, *305*(5689), 1426–1431.
<https://doi.org/10.1126/science.1102587>
41. Kling, T., & Carén, H. (2019). Methylation Analysis Using Microarrays: Analysis and Interpretation. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1908, Issue July, pp. 205–217). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9004-7_14
42. Koval, A. P., Veniaminova, N. A., & Kramerov, D. A. (2011). Additional box B of RNA polymerase III promoter in SINE B1 can be functional. *Gene*, *487*(2), 113–117.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.08.001>
43. Kuzmina, N. S., Lapteva, N. S., & Rubanovich, A. V. (2016). Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environmental Research*, *146*, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.12.008>
44. Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., Fitzhugh, W., Funke, R., Gage, D., Harris, K., Heaford, A., Howland, J., Kann, L., Lehoczky, J., Levine, R., McEwan, P., ... Chen, Y. J. (2001). Erratum: Initial sequencing and analysis of the human genome: International Human Genome Sequencing Consortium (Nature (2001) 409 (860-921)). *Nature*, *412*(6846), 565–566. <https://doi.org/10.1038/35087627>
45. Lee, K.-A., Flores, R. R., Jang, I. H., Saathoff, A., & Robbins, P. D. (2022). Immune Senescence, Immunosenescence and Aging. *Frontiers in Aging*, *3*.
<https://doi.org/10.3389/fragi.2022.900028>
46. Levine, M. E., Lu, A. T., Quach, A., Chen, B. H., Assimes, T. L., Bandinelli, S., Hou, L., Baccarelli, A. A., Stewart, J. D., Li, Y., Whitsel, E. A., Wilson, J. G., Reiner, A. P., Aviv, A., Lohman, K., Liu, Y., Ferrucci, L., & Horvath, S. (2018). An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *AGING*, *10*(4). www.aging-us.com
47. Liu, N., Yang, R., Shi, Y., Chen, L., Liu, Y., Wang, Z., Liu, S., Ouyang, L., Wang, H., Lai, W., Mao, C., Wang, M., Cheng, Y., Liu, S., Wang, X., Zhou, H., Cao, Y., Xiao, D., & Tao, Y. (2020). The cross-talk between methylation and phosphorylation in lymphoid-specific

- helicase drives cancer stem-like properties. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2020 5:1, 5(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00249-w>
48. Liu, Z., Leung, D., Thrush, K., Zhao, W., Ratliff, S., Tanaka, T., Schmitz, L. L., Smith, J. A., Ferrucci, L., & Levine, M. E. (2020). Underlying features of epigenetic aging clocks in vivo and in vitro. *Aging Cell*, 19(10). <https://doi.org/10.1111/ace1.13229>
49. Loeza-Loeza, J., Beltran, A. S., & Hernández-Sotelo, D. (2020). Dnmts and impact of cpg content, transcription factors, consensus motifs, lncrnas, and histone marks on dna methylation. In *Genes* (Vol. 11, Issue 11, pp. 1–19). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes11111336>
50. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell*, 153(6), 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
51. Luo, R., Bai, C., Yang, L., Zheng, Z., Su, G., Gao, G., Wei, Z., Zuo, Y., & Li, G. (2018). Correction to: DNA methylation subpatterns at distinct regulatory regions in human early embryos (*Open Biology* (2018) 8 (180131) DOI: 10.1098/rsob.180131). *Open Biology*, 8(12), 1–9. <https://doi.org/10.1098/rsob.180215>
52. Magalingam, K. B., Somanath, S. D., & Radhakrishnan, A. K. (2023). A Glimpse into the Genome-wide DNA Methylation Changes in 6-hydroxydopamine-induced In Vitro Model of Parkinson's Disease. *Experimental Neurobiology*, 32(3), 119–132. <https://doi.org/10.5607/en22035>
53. Melo dos Santos, L. S., Trombetta-Lima, M., Eggen, B. J. L., & Demaria, M. (2024). Cellular senescence in brain aging and neurodegeneration. In *Ageing Research Reviews* (Vol. 93). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102141>
54. Millan, J., Lesarri, A., Fernández, J. A., & Martínez, R. (2021). Exploring Epigenetic Marks by Analysis of Noncovalent Interactions. *ChemBioChem*, 22(2), 408–415. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000380>
55. Minnerop, M., Kurzwelly, D., Wagner, H., Soehn, A. S., Reichbauer, J., Tao, F., Rattay, T. W., Peitz, M., Rehbach, K., Giorgetti, A., Pyle, A., Thiele, H., Altmüller, J., Timmann, D., Karaca, I., Lennarz, M., Baets, J., Hengel, H., Synofzik, M., ... Schüle, R. (2017). Hypomorphic mutations in POLR3A are a frequent cause of sporadic and recessive

- spastic ataxia. *Brain*, 140(6), 1561–1578. <https://doi.org/10.1093/brain/awx095>
56. Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
57. Morris, T., Stirling, L., Feber, A., & Teschendorff, A. (2024). *Package ‘ChAMP’*.
58. Muse, M. E., Titus, A. J., Salas, L. A., Wilkins, O. M., Mullen, C., Gregory, K. J., Schneider, S. S., Crisi, G. M., Jawale, R. M., Otis, C. N., Christensen, B. C., & Arcaro, K. F. (2020). Enrichment of CpG island shore region hypermethylation in epigenetic breast field cancerization. *Epigenetics*, 15(10), 1093–1106. <https://doi.org/10.1080/15592294.2020.1747748>
59. Nelson, R. (2019). POLR3A Identified as Major Locus for Autosomal Recessive Wiedemann-Rautenstrauch Syndrome: New findings show “compelling evidence” that POLR3A mutations underlie the etiology of autosomal-recessive WRS. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 179(2), 146–147. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61040>
60. Panja, S., Hayati, S., Epsi, N. J., Parrott, J. S., & Mitrofanova, A. (2018). Integrative (epi) Genomic Analysis to Predict Response to Androgen-Deprivation Therapy in Prostate Cancer. *EBioMedicine*, 31, 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.04.007>
61. Paolacci, S., Bertola, D., Franco, J., Mohammed, S., Tartaglia, M., Wollnik, B., & Hennekam, R. C. (2017). Wiedemann–Rautenstrauch syndrome: A phenotype analysis. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 173(7), 1763–1772. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38246>
62. Paolacci, S., Li, Y., Agolini, E., Bellacchio, E., Arboleda-Bustos, C. E., Carrero, D., Bertola, D., Al-Gazali, L., Alders, M., Altmuller, J., Arboleda, G., Beleggia, F., Bruselles, A., Ciolfi, A., Gillessen-Kaesbach, G., Krieg, T., Mohammed, S., Muller, C., Novelli, A., ... Hennekam, R. C. (2018). Specific combinations of biallelic POLR3A variants cause Wiedemann-Rautenstrauch syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 55(12), 837–846. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105528>
63. Park, J. L., Lee, Y. S., Kunkeaw, N., Kim, S. Y., Kim, I. H., & Lee, Y. S. (2017). Epigenetic regulation of noncoding RNA transcription by mammalian RNA polymerase

- III. *Epigenomics*, 9(2), 171–187. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0108>
64. Proud, C. G. (2019). Phosphorylation and Signal Transduction Pathways in Translational Control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 11(7).
<https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A033050>
65. Puig, N., & Agrelo, R. (2012). From aging to cancer: a DNA methylation journey. *Ageing Research*, 3(1), 4. <https://doi.org/10.4081/ar.2012.e4>
66. Rautenstrauch, T., Snigula, F., Krieg, T., Gay, S., & Müller, P. K. (1977). Progeria: A cell culture study and clinical report of familial incidence. *European Journal of Pediatrics*, 124(2), 101–111. <https://doi.org/10.1007/BF00477545>
67. Reale, A., Tagliatesta, S., Zardo, G., & Zampieri, M. (2022). Counteracting aged DNA methylation states to combat ageing and age-related diseases. *Mechanisms of Ageing and Development*, 206(June), 111695. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111695>
68. Sakaki, M., Ebihara, Y., Okamura, K., Nakabayashi, K., Igarashi, A., Matsumoto, K., Hata, K., Kobayashi, Y., & Maehara, K. (2017). Potential roles of DNA methylation in the initiation and establishment of replicative senescence revealed by array-based methylome and transcriptome analyses. *PLoS ONE*, 12(2).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171431>
69. Saneyasu, T., Fukuzo, S., Kitashiro, A., Nagata, K., Honda, K., & Kamisoyama, H. (2019). Central administration of insulin and refeeding lead to the phosphorylation of AKT, but not FOXO1, in the hypothalamus of broiler chicks. *Physiology and Behavior*, 210(August), 112644. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112644>
70. Schmauck-Medina, T., Molière, A., Lautrup, S., Zhang, J., Chlopicki, S., Madsen, H. B., Cao, S., Soendenbroe, C., Mansell, E., Vestergaard, M. B., Li, Z., Shiloh, Y., Opresko, P. L., Egly, J. M., Kirkwood, T., Verdin, E., Bohr, V. A., Cox, L. S., Stevnsner, T., ... Fang, E. F. (2022). New hallmarks of ageing: a 2022 Copenhagen ageing meeting summary. *Aging*, 14(16), 6829–6839. <https://doi.org/10.18632/AGING.204248>
71. Silver, B. B., & Nelson, C. M. (2018). The Bioelectric Code: Reprogramming Cancer and Aging From the Interface of Mechanical and Chemical Microenvironments. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00021>

- 72.** Spangle, J. M., Roberts, T. M., & Zhao, J. J. (2017). The emerging role of PI3K/AKT-mediated epigenetic regulation in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1868*(1), 123. <https://doi.org/10.1016/J.BBCAN.2017.03.002>
- 73.** Stasenko, D. V., Tatosyan, K. A., Borodulina, O. R., & Kramerov, D. A. (2023). Nucleotide Context Can Modulate Promoter Strength in Genes Transcribed by RNA Polymerase III. *Genes*, *14*(4), 802. <https://doi.org/10.3390/genes14040802>
- 74.** Tahiliani, M., Koh, K. P., Shen, Y., Pastor, W. A., Bandukwala, H., Brudno, Y., Agarwal, S., Iyer, L. M., Liu, D. R., Aravind, L., & Rao, A. (2009). Conversion of 5-Methylcytosine to 5-Hydroxymethylcytosine in Mammalian DNA by MLL Partner TET1. *Science*, *324*(5929), 930–935. <https://doi.org/10.1126/science.1170116>
- 75.** Temel, S. G., Ergoren, M. C., Manara, E., Paolacci, S., Tuncel, G., Gul, S., & Bertelli, M. (2020). Unique combination and in silico modeling of biallelic POLR3A variants as a cause of Wiedemann–Rautenstrauch syndrome. *European Journal of Human Genetics*, *28*(12), 1675–1680. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0673-1>
- 76.** Visone, R., Bacalini, M. G., Franco, S. Di, Ferracin, M., Colorito, M. L., Pagotto, S., Laprovitera, N., Licastro, D., Marco, M. Di, Scavo, E., Bassi, C., Saccenti, E., Nicotra, A., Grzes, M., Garagnani, P., Laurenzi, V. De, Valeri, N., Mariani-Costantini, R., Negrini, M., ... Veronese, A. (2019a). DNA methylation of shelf, shore and open sea CpG positions distinguish high microsatellite instability from low or stable microsatellite status colon cancer stem cells. *Epigenomics*, *11*(6), 587–604. <https://doi.org/10.2217/epi-2018-0153>
- 77.** Visone, R., Bacalini, M. G., Franco, S. Di, Ferracin, M., Colorito, M. L., Pagotto, S., Laprovitera, N., Licastro, D., Marco, M. Di, Scavo, E., Bassi, C., Saccenti, E., Nicotra, A., Grzes, M., Garagnani, P., Laurenzi, V. De, Valeri, N., Mariani-Costantini, R., Negrini, M., ... Veronese, A. (2019b). DNA methylation of shelf, shore and open sea CpG positions distinguish high microsatellite instability from low or stable microsatellite status colon cancer stem cells. *Epigenomics*, *11*(6), 587–604. <https://doi.org/10.2217/epi-2018-0153>
- 78.** Wambach, J. A., Wegner, D. J., Patni, N., Kircher, M., Willing, M. C., Baldrige, D., Xing, C., Agarwal, A. K., Vergano, S. A. S., Patel, C., Grange, D. K., Kenney, A., Najaf, T., Nickerson, D. A., Bamshad, M. J., Cole, F. S., & Garg, A. (2018). Bi-allelic POLR3A

Loss-of-Function Variants Cause Autosomal-Recessive Wiedemann-Rautenstrauch Syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 103(6), 968–975.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.10.010>

- 79.** Wan, R., Srikaram, P., Guntupalli, V., Hu, C., Chen, Q., & Gao, P. (2023). *Cellular senescence in asthma: from pathogenesis to therapeutic challenges*. www.thelancet.com
- 80.** Wang, Q., Xiong, F., Wu, G., Liu, W., Chen, J., Wang, B., & Chen, Y. (2022). Gene body methylation in cancer: molecular mechanisms and clinical applications. *Clinical Epigenetics*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13148-022-01382-9>
- 81.** Wang, Y., Huang, W., Zheng, S., Wang, L., Zhang, L., & Pei, X. (2024). Construction of an immune-related risk score signature for gastric cancer based on multi-omics data. *Scientific Reports*, 14(1), 1422. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52087-3>
- 82.** Weidner, C., Lin, Q., Koch, C., Eisele, L., Beier, F., Ziegler, P., Bauerschlag, D., Jöckel, K.-H., Erbel, R., Mühleisen, T., Zenke, M., Brümmendorf, T., & Wagner, W. (2014). Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites. *Genome Biology*, 15(2), R24. <https://doi.org/10.1186/gb-2014-15-2-r24>
- 83.** Welsh, H., Batalha, C. M. P. F., Li, W., Mpye, K. L., Souza-Pinto, N. C., Naslavsky, M. S., & Parra, E. J. (2023). A systematic evaluation of normalization methods and probe replicability using infinium EPIC methylation data. *Clinical Epigenetics*, 15(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01459-z>
- 84.** Wu, X., Chen, W., Lin, F., Huang, Q., Zhong, J., Gao, H., Song, Y., & Liang, H. (2019). DNA methylation profile is a quantitative measure of biological aging in children. *Aging*, 11(22), 10031–10051. <https://doi.org/10.18632/aging.102399>
- 85.** Xiao, F.-H., Wang, H.-T., & Kong, Q.-P. (2019). Dynamic DNA Methylation During Aging: A “Prophet” of Age-Related Outcomes. *Frontiers in Genetics*, 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00107>
- 86.** Xie, W., Baylin, S. B., & Easwaran, H. (2019). *DNA methylation in senescence, aging and cancer Origin of cancer epigenome from cycling aging cells* (Vol. 6, Issue 2). www.impactjournals.com/oncoscience/

87. Yadav, M. L., & Mohapatra, B. (2018). Intergenic. *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, 1–5. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_64-1
88. Yen, B. L., Hwa, H. L., Hsu, P. J., Chen, P. M., Wang, L. T., Jiang, S. S., Liu, K. J., Sytwu, H. K., & Yen, M. L. (2020). Hla-g expression in human mesenchymal stem cells (Mscs) is related to unique methylation pattern in the proximal promoter as well as gene body dna. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms21145075>
89. Yuan, T., Jiao, Y., de Jong, S., Ophoff, R. A., Beck, S., & Teschendorff, A. E. (2015). An Integrative Multi-scale Analysis of the Dynamic DNA Methylation Landscape in Aging. *PLoS Genetics*, 11(2), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004996>
90. Yukawa, Y. (2023). *Plant Molecular Biology Lab*. <https://www.nsc.nagoya-cu.ac.jp/~yyuk/e-index.html>
91. Zane, L., Sharma, V., & Misteli, T. (2014). Common features of chromatin in aging and cancer: cause or coincidence? *Trends in Cell Biology*, 24(11), 686–694. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.07.001>
92. Zhang, Y., Wang, Y., Luo, M., Xu, F., Lu, Y., Zhou, X., Cui, W., & Miao, L. (2019). Elabela protects against podocyte injury in mice with streptozocin-induced diabetes by associating with the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Peptides*, 114(February), 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.04.005>
93. Zouali, M. (2021). DNA methylation signatures of autoimmune diseases in human B lymphocytes. *Clinical Immunology*, 222, 108622. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108622>
94. Zuo, S., Shi, G., Fan, J., Fan, B., Zhang, X., Liu, S., Hao, Y., Wei, Z., Zhou, X., & Feng, S. (2021). Identification of adhesion-associated DNA methylation patterns in the peripheral nervous system. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(1). <https://doi.org/10.3892/ETM.2020.9479>

Tabla adicional 1. Genes significativamente metilados de muestras SWR6 y SWR25.

SWR 6		SWR 25	
Genes	p-value	Genes	p-value
GNG8	8,55E-10	KALRN	1,26E-09
KLHDC7B	5,02E-09	OGN	4,18E-09
TMEM9	5,29E-09	KIR2DS4	5,66E-09
EIPR1	9,17E-09	SLC24A3	1,37E-08
TLE4	1,06E-08	SOX12	1,66E-08
APOA5	1,16E-08	DYSF	2,08E-08
PDXX	1,18E-08	GRID1	2,10E-08
SLC35B4	1,69E-08	DLGAP1	2,19E-08
AHRR	1,86E-08	AAMDC	2,50E-08
FBXW4	2,19E-08	ARID3B	2,56E-08
LRP5	2,24E-08	PRDM9	2,60E-08
DNAAF5	2,25E-08	NSF	2,80E-08
NADSYN1	2,55E-08	OMA1	3,25E-08
MIR26A2	2,67E-08	PSAPL1	3,85E-08
SNORA14B	2,88E-08	CSTPP1	5,23E-08
VCX3B	3,62E-08	UPF1	6,69E-08
HMG20B	3,65E-08	TMEM40	7,07E-08
SYT8	3,71E-08	PRR12	7,17E-08
SPPL2B	4,20E-08	CLMP	8,12E-08
ZNF879	4,40E-08	TTLL13	8,42E-08
ANO8	5,45E-08	ACO1	1,06E-07
UQCC1	6,05E-08	PRTFDC1	1,07E-07
LIN7B	6,07E-08	SNHG22	1,08E-07
DLGAP5	6,67E-08	ESYT2	1,11E-07
HSPB7	6,68E-08	C1QTNF7	1,13E-07
LOC100310782	8,60E-08	L3HYPDH	1,21E-07
HLA-DPA1	1,04E-07	MIR662	1,28E-07
OR12D3	1,04E-07	CDH13	1,31E-07
ZNF70	1,12E-07	ARHGEF10	1,38E-07
SNORD115-47	1,21E-07	ATP8B3	1,51E-07
OSBPL5	1,27E-07	CRHR2	1,63E-07
ATP10B	1,28E-07	MIR1268A	1,73E-07
IDUA	1,31E-07	TARS1	1,76E-07
B4GALT6	1,36E-07	WDR20	1,78E-07
PECAM1	1,51E-07	MYH10	1,99E-07
ESX1	1,70E-07	IFITM10	2,13E-07
RAB11FIP3	1,71E-07	SLC39A11	2,28E-07
MIR1268A	1,80E-07	CIAO3	2,33E-07
TERT	1,84E-07	KRT82	2,33E-07
RORA	1,93E-07	MED24	2,46E-07
SYNE2	1,96E-07	SESN1	2,53E-07
STMN2	1,99E-07	PCDHGA9	2,62E-07
UNC93A	2,07E-07	MINK1	2,64E-07
SLC26A1	2,28E-07	RCOR2	2,82E-07

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

PAK4	2,29E-07	FUCA1	2,85E-07
GTF2IRD2	2,45E-07	CEMIP	2,87E-07
DOCK10	2,46E-07	TMEM144	3,05E-07
COL23A1	2,61E-07	VAV2	3,07E-07
ELAVL4	2,63E-07	FSCN1	3,30E-07
FA2H	2,74E-07	PCDHGB5	3,40E-07
LRRCS7	2,86E-07	MIR1247	3,76E-07
NFASC	2,88E-07	MED4	3,81E-07
SMCO4	3,05E-07	ANKRD33B	3,84E-07
SLC15A2	3,06E-07	FRMPD1	3,86E-07
DTX2	3,51E-07	PTPRN2	3,87E-07
MCF2	3,58E-07	ARRDC4	3,98E-07
SERPINB2	3,98E-07	SEMA3E	4,01E-07
MMP16	4,06E-07	KLHL3	4,54E-07
HAUS7	4,21E-07	MPPED1	4,68E-07
AATF	4,52E-07	FDFT1	4,77E-07
CTDP1	4,60E-07	CCDC148	4,77E-07
NR3C2	4,72E-07	PKP2	4,83E-07
EBF1	4,72E-07	MYO5B	4,94E-07
H2AZ2	4,89E-07	ST3GAL6	5,13E-07
ZFYVE19	4,93E-07	CCDC144A	5,33E-07
FAM20C	4,98E-07	DNAH17	5,57E-07
CALU	4,99E-07	OXGR1	5,77E-07
COQ3	5,23E-07	SLX4	5,80E-07
CAMK1D	5,27E-07	FAM120B	6,18E-07
LINC01122	5,58E-07	PALM2AKAP2	6,20E-07
PLEKHM1	5,72E-07	DCAF12L2	6,32E-07
ABR	5,74E-07	EEFSEC	6,48E-07
PLXNA2	5,79E-07	VTRNA2-1	6,50E-07
RRM2B	6,12E-07	LOC643406	6,54E-07
DIDO1	6,14E-07	SCG5	6,56E-07
SAPCD1	6,16E-07	LRRCS20	6,72E-07
CYP2D6	6,22E-07	MAGI2	7,35E-07
APOL2	6,35E-07	LMF1	7,46E-07
PPP4R2	6,38E-07	UBXN2A	7,69E-07
RP1L1	6,47E-07	RNASE1	7,69E-07
MYADML	6,60E-07	PCDHA8	8,02E-07
CTSG	6,63E-07	SNORA14B	8,13E-07
SLC14A1	6,78E-07	SMOC1	8,18E-07
ITGB1BP1	6,82E-07	PCDHA7	8,37E-07
SOX5	6,85E-07	PCDHA6	8,39E-07
MAFG	7,08E-07	CLEC4C	8,41E-07
ZNF577	7,14E-07	PCDHA9	8,48E-07
RTL9	7,21E-07	CCDC68	8,52E-07
CTBP2	7,33E-07	DPF3	8,63E-07
MUC22	7,46E-07	NR3C2	8,68E-07
C2CD2L	7,50E-07	TEK	8,89E-07
SLC5A4	7,65E-07	HOPX	8,94E-07

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome
Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

PCDH12	7,66E-07	PGGHG	8,98E-07
SLA	7,72E-07	TOMM20	9,05E-07
NXN	7,92E-07	SLC45A1	9,58E-07
MAMDC2-AS1	8,22E-07	B3GALT1	9,74E-07
MUC4	8,26E-07	SPOP	1,01E-06
CAT	8,41E-07	APOA5	1,02E-06
DCHS1	8,47E-07	ERGIC1	1,04E-06
MCTP2	8,59E-07	NUCB2	1,06E-06
RPL17	8,72E-07	LUZP1	1,06E-06
MPPED1	8,76E-07	CACNA1C	1,07E-06
ZC3H3	9,11E-07	CCND3	1,08E-06
CNN2	9,12E-07	VILL	1,08E-06
IQCJ-SCHIP1	9,19E-07	MYO7A	1,09E-06
MAST2	9,31E-07	SLC12A5	1,11E-06
PPP2R2C	9,64E-07	PCDHA4	1,15E-06
SCARA5	9,94E-07	ATP1B2	1,16E-06
EIF4E3	1,00E-06	OLFM1	1,18E-06
FOXL2NB	1,01E-06	DNAH2	1,18E-06
LURAP1L-AS1	1,03E-06	ABCC4	1,23E-06
VDAC1	1,03E-06	LGR6	1,28E-06
PALM2AKAP2	1,05E-06	ETFB	1,31E-06
HOXD4	1,06E-06	LINC01483	1,31E-06
FASN	1,10E-06	PYROXD2	1,31E-06
TMEM266	1,11E-06	SUCLG2	1,32E-06
HERC5	1,13E-06	TANC1	1,32E-06
GALNT1	1,17E-06	NR5A2	1,33E-06
TOMM40	1,17E-06	FABP1	1,36E-06
ZNF286A	1,18E-06	DENND4C	1,36E-06
BTN3A3	1,19E-06	RGMA	1,37E-06
CDSN	1,20E-06	PCDHA5	1,37E-06
AOAH	1,21E-06	DENND2A	1,39E-06
HLA-C	1,22E-06	SSBP3	1,41E-06
STON1-GTF2A1L	1,22E-06	PCDHA1	1,44E-06
ZNF543	1,26E-06	PCDHA3	1,48E-06
PSORS1C1	1,26E-06	UPF3A	1,48E-06
NLRC5	1,28E-06	CSMD2	1,55E-06
PTPRN2	1,30E-06	ZNF234	1,56E-06
SPTB	1,33E-06	PCDHA2	1,58E-06
CIZ1	1,34E-06	SPRED2	1,61E-06
SCHIP1	1,34E-06	PARVA	1,65E-06
ARRB1	1,37E-06	TGFBR3	1,67E-06
IGSF21	1,38E-06	ZEB2	1,67E-06
FUT2	1,38E-06	CAPN1	1,68E-06
CPA6	1,38E-06	RORA	1,68E-06
RXFP2	1,40E-06	HOXD10	1,73E-06
CBX5	1,41E-06	CRYBG3	1,78E-06
SH3GLB2	1,47E-06	NINJ2	1,81E-06
PI3	1,50E-06	PIGQ	1,83E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

STAG3L5P-PVRIG2P-PILRB	1,50E-06	SMARCD1	1,83E-06
DNAJB6	1,54E-06	POLR2J	1,84E-06
PXK	1,56E-06	SCARNA16	1,90E-06
KCNQ5	1,58E-06	MEG8	1,95E-06
SLC47A2	1,58E-06	FAR2	1,96E-06
CEACAM21	1,61E-06	ZNF423	2,01E-06
PLAGL1	1,61E-06	CKMT2	2,01E-06
A4GNT	1,63E-06	KDF1	2,05E-06
VIPR2	1,66E-06	TULP4	2,06E-06
CCDC62	1,68E-06	PHOX2B	2,10E-06
OSGIN1	1,68E-06	ADCY2	2,11E-06
PVRIG	1,72E-06	KRTAP12-3	2,11E-06
XAGE5	1,72E-06	ZNF324B	2,12E-06
CNTN5	1,73E-06	SLCO4A1	2,21E-06
MBOAT1	1,80E-06	CRAMP1	2,23E-06
OXGR1	1,86E-06	BAIAP2L1	2,26E-06
TEX30	1,87E-06	KCNAB1	2,27E-06
URAD	1,92E-06	ALPK2	2,38E-06
NGEF	1,95E-06	LOC101928273	2,39E-06
TP53RK	1,96E-06	NMUR1	2,40E-06
IRAG1	1,97E-06	SH3RF3	2,45E-06
TCF7L1	1,99E-06	GLRA1	2,48E-06
GZMM	2,03E-06	CYP2A7	2,48E-06
ACOT11	2,04E-06	CCDC88B	2,53E-06
WVOX	2,08E-06	FAM114A2	2,55E-06
SMCO2	2,09E-06	GOT2	2,60E-06
DLGAP2	2,11E-06	MT1A	2,60E-06
C1orf94	2,11E-06	IQSEC1	2,63E-06
ACSBG1	2,13E-06	SORCS2	2,63E-06
KCND2	2,15E-06	IFIT1	2,69E-06
DNAH8	2,17E-06	CASS4	2,71E-06
TANC1	2,18E-06	MKKS	2,77E-06
NWD1	2,19E-06	COL4A2	2,79E-06
HDAC4	2,19E-06	KLHL29	2,83E-06
ZDHHC14	2,21E-06	FOXK2	2,84E-06
SLC4A8	2,22E-06	CATIP	2,87E-06
NAT10	2,29E-06	ATG9B	2,89E-06
EXOC3L4	2,30E-06	RSF1	2,97E-06
ATP10D	2,32E-06	LIAS	3,03E-06
TRIOBP	2,33E-06	LHFPL5	3,10E-06
TNFRSF17	2,36E-06	MED27	3,10E-06
C1orf127	2,37E-06	CGB1	3,13E-06
GPC5	2,39E-06	DPYSL2	3,17E-06
GEMIN4	2,41E-06	DUSP22	3,24E-06
RUBCNL	2,42E-06	NOP9	3,29E-06
SORCS2	2,42E-06	B4GALT1	3,32E-06
DOK5	2,43E-06	TBC1D14	3,37E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome
Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

ADARB2	2,44E-06	KCNA6	3,38E-06
ULK4	2,45E-06	CNTNAP2	3,39E-06
LINC02584	2,48E-06	CARMIL1	3,47E-06
FMO2	2,51E-06	EGFLAM	3,50E-06
ZBTB7C	2,58E-06	KLHL17	3,52E-06
ABCA1	2,58E-06	ZNF708	3,54E-06
C4orf50	2,59E-06	OR51G1	3,54E-06
HLA-B	2,60E-06	ZNF608	3,56E-06
GAS8	2,62E-06	GRHL3	3,60E-06
HCG4	2,62E-06	IGDCC4	3,61E-06
SBNO1	2,62E-06	MIR548F1	3,61E-06
PIK3R5	2,63E-06	MID2	3,69E-06
PLA1A	2,66E-06	OR51A7	3,71E-06
CTXND1	2,68E-06	CPNE9	3,72E-06
LINC01121	2,70E-06	OPCML	3,73E-06
TTLL6	2,71E-06	DCC	3,74E-06
ZNF570	2,72E-06	CTC1	3,75E-06
EPPIN-WFDC6	2,73E-06	SLC66A2	3,77E-06
SULT1C2	2,73E-06	CROCC	3,78E-06
BMPR1B	2,74E-06	NXN	3,80E-06
B2M	2,74E-06	OSBPL1A	3,81E-06
FAT1	2,75E-06	FBXL13	3,83E-06
DDAH1	2,79E-06	LMBRD2	3,83E-06
NAV2	2,79E-06	PRPH	3,84E-06
ZDHHC11	2,81E-06	FKBP6	3,87E-06
ANKLE2	2,96E-06	SLC16A8	3,87E-06
CALML5	2,98E-06	FCRLA	3,88E-06
BRI3BP	3,02E-06	PIK3AP1	3,90E-06
TSPAN4	3,03E-06	ENKD1	3,91E-06
YJU2	3,03E-06	KCNK9	3,94E-06
MYCBP	3,03E-06	TOM1	3,94E-06
BLM	3,04E-06	HLA-DRB1	3,98E-06
RCAN3	3,05E-06	PDE11A	4,00E-06
ADORA2A-AS1	3,11E-06	UMODL1	4,01E-06
TPO	3,14E-06	MIR487B	4,02E-06
SERPINB6	3,23E-06	NRXN3	4,15E-06
SLC9C1	3,24E-06	WWP2	4,16E-06
OCA2	3,26E-06	MYO7B	4,20E-06
RANBP9	3,27E-06	PDE4B	4,24E-06
BRDT	3,30E-06	KRTAP10-4	4,28E-06
SNRNP25	3,31E-06	ZFAT	4,29E-06
FEZ2	3,33E-06	SH3BP5L	4,36E-06
GRB10	3,34E-06	INHBC	4,40E-06
HLA-DMA	3,35E-06	MAL2	4,45E-06
SHC1	3,35E-06	MICA	4,48E-06
TPSD1	3,41E-06	DIPK1B	4,58E-06
TAF5	3,41E-06	CYB5R1	4,60E-06
CTNNA2	3,41E-06	RIMS3	4,62E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome
Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

SNAR-G1	3,51E-06	PSMB9	4,62E-06
MYO1D	3,51E-06	LRSAM1	4,76E-06
POLR1HASP	3,52E-06	ATP2B2	4,79E-06
DIAPH3	3,56E-06	SRGAP3	4,80E-06
CCDC26	3,59E-06	XYLT1	4,89E-06
FSIP1	3,60E-06	DEFA5	4,89E-06
DBIL5P	3,62E-06	RHEB	4,92E-06
DCHS2	3,67E-06	KCNA5	4,95E-06
TXNRD1	3,69E-06	TRIM6	4,96E-06
LCLAT1	3,73E-06	SNX6	5,00E-06
ARHGEF4	3,74E-06	AJAP1	5,00E-06
KCNJ16	3,74E-06	PARD6G-AS1	5,01E-06
SETD9	3,79E-06	BANF2	5,04E-06
CASTOR3P	3,79E-06	NBPF9	5,12E-06
PDE4DIP	3,81E-06	ZNF71	5,16E-06
AGPAT4	3,85E-06	NAGS	5,19E-06
CIBAR1-DT	3,87E-06	LIMS1	5,21E-06
KCNJ6	3,87E-06	SLC12A7	5,25E-06
ALG1L2	3,90E-06	ALPG	5,25E-06
SORBS1	3,96E-06	PRDM2	5,28E-06
IQSEC3	3,98E-06	SLC2A1-DT	5,29E-06
APIP	4,03E-06	FRMPD2	5,30E-06
VOPP1	4,04E-06	ZNF28	5,31E-06
FOXP1	4,05E-06	NTM	5,33E-06
F7	4,06E-06	PASK	5,34E-06
CASZ1	4,08E-06	APP	5,35E-06
CD80	4,12E-06	SV2C	5,37E-06
PKP2	4,13E-06	TNXB	5,41E-06
WDFY2	4,15E-06	TEKT4	5,41E-06
PHF19	4,17E-06	SPECC1	5,46E-06
GNG7	4,21E-06	LINC00709	5,48E-06
ARHGAP17	4,21E-06	OGT	5,49E-06
TRIP13	4,22E-06	TMEM132C	5,52E-06
NXPH2	4,22E-06	PARD6G	5,59E-06
PDE3B	4,22E-06	PLPP4	5,62E-06
MOK	4,23E-06	CACNB4	5,73E-06
CTDSPL	4,28E-06	LAMB1	5,75E-06
BPIFA3	4,28E-06	SIDT2	5,75E-06
RETREG1	4,29E-06	KRTAP3-1	5,87E-06
FRMPD4	4,35E-06	MYCBP	5,88E-06
AFG3L2	4,37E-06	CYP2E1	5,89E-06
EN2	4,37E-06	AQP8	5,89E-06
CTIF	4,38E-06	DLG1	5,92E-06
LRG1	4,39E-06	CPT1C	5,98E-06
FAM24B	4,40E-06	DLC1	6,00E-06
HIVEP3	4,45E-06	OR2V1	6,03E-06
DNAJC1	4,47E-06	SPEG	6,05E-06
SLC66A1	4,50E-06	PCDHGB4	6,06E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

TMCO3	4,55E-06	TRIM6-TRIM34	6,08E-06
TENM1	4,56E-06	HLA-C	6,09E-06
HDHD5	4,56E-06	EYA2	6,11E-06
RBM22	4,59E-06	TJP2	6,13E-06
POLR3K	4,60E-06	TRAPPC12	6,26E-06
BMP1	4,66E-06	BRSK2	6,34E-06
SERPINE2	4,69E-06	CAST	6,35E-06
DHX37	4,70E-06	CDH6	6,36E-06
CLDN3	4,71E-06	GJA9	6,38E-06
APBB2	4,74E-06	ADGRE1	6,40E-06
PROZ	4,77E-06	ELMO1	6,51E-06
HAAO	4,78E-06	MYO9B	6,52E-06
MIR762HG	4,82E-06	FGF12	6,55E-06
PTPRA	4,90E-06	STOX2	6,57E-06
CAPN2	4,91E-06	OR2A5	6,58E-06
PCDHGB2	4,94E-06	ISM1	6,59E-06
CLPTM1	4,95E-06	LRP1	6,64E-06
OTOF	4,96E-06	ZNF662	6,72E-06
SNX21	5,07E-06	TEKT5	6,73E-06
CDC42EP3	5,08E-06	LINC01588	6,74E-06
LRIG1	5,09E-06	RECK	6,77E-06
LRRN2	5,12E-06	ARID3A	6,80E-06
PILRA	5,18E-06	CHMP4C	6,86E-06
CARD8	5,19E-06	XYLB	6,87E-06
MIR519A1	5,22E-06	FBN3	6,94E-06
ADCY3	5,29E-06	FLI1	6,95E-06
CAGE1	5,32E-06	HNRNPU	6,95E-06
VWDE	5,35E-06	CLTB	7,03E-06
TRAPPC9	5,37E-06	ZNF137P	7,06E-06
AGAP1	5,37E-06	SLX9	7,10E-06
AMOTL1	5,38E-06	BMPR1B	7,17E-06
DNAI2	5,39E-06	RNF44	7,19E-06
FAM30A	5,40E-06	INS-IGF2	7,23E-06
TPST1	5,40E-06	GLI4	7,24E-06
DAB2	5,46E-06	RHBDF1	7,31E-06
COL26A1	5,46E-06	COQ3	7,33E-06
PLPP4	5,52E-06	UPK3A	7,35E-06
MMEL1	5,56E-06	ZBTB20	7,38E-06
TEX29	5,57E-06	LOC101927078	7,38E-06
MBOAT7	5,60E-06	COL6A3	7,38E-06
LGR6	5,64E-06	PCDHA10	7,39E-06
SNX13	5,66E-06	RALYL	7,51E-06
RBMS3	5,72E-06	ZNF212	7,51E-06
RFPL2	5,73E-06	HPS5	7,52E-06
PDE2A	5,74E-06	TRIM13	7,55E-06
FZD1	5,75E-06	CHFR	7,55E-06
CERK	5,83E-06	GREB1	7,59E-06
MIR10B	5,84E-06	CNDP1	7,61E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

RBL1	5,84E-06	CCSER2	7,64E-06
WNK2	5,86E-06	MAILR	7,65E-06
ACE	5,86E-06	LOC101928371	7,66E-06
COG2	5,87E-06	PCDHGA8	7,67E-06
RADIL	5,87E-06	C10orf71	7,79E-06
STPG4	5,99E-06	HOOK1	7,86E-06
ADGRA1	6,03E-06	TRIML2	7,92E-06
MXRA8	6,03E-06	CECR7	7,93E-06
PIGQ	6,11E-06	TNK2	8,02E-06
LEPROT	6,15E-06	BIVM-ERCC5	8,12E-06
SLC16A3	6,17E-06	REREP3	8,19E-06
LOC101928371	6,21E-06	BCL2L1	8,19E-06
COL8A2	6,27E-06	BCL2L14	8,19E-06
IPCEF1	6,30E-06	STYXL2	8,19E-06
HCK	6,34E-06	LSM5	8,31E-06
KCNK7	6,38E-06	GALNT14	8,31E-06
TUB	6,39E-06	ARNT2	8,34E-06
PARP10	6,46E-06	TSSK2	8,37E-06
RPH3AL	6,50E-06	TMTC1	8,40E-06
PHACTR3	6,57E-06	IGF2BP2	8,47E-06
ABI3	6,57E-06	FMN1	8,53E-06
ANKRD36	6,60E-06	MAB21L4	8,64E-06
SNORD59A	6,63E-06	B3GNT3	8,66E-06
HLA-DRB6	6,71E-06	TMEM178A	8,66E-06
SLC23A2	6,81E-06	CACNA1G	8,70E-06
DGKZ	6,84E-06	SLC29A3	8,77E-06
RBFOX3	6,86E-06	PRDM16	8,80E-06
TUBB8	6,88E-06	TMEM120B	8,91E-06
CRIM1	6,91E-06	LTB4R	8,93E-06
CRMP1	6,94E-06	SBK2	9,02E-06
SPRED2	6,94E-06	TAX1BP3	9,06E-06
C13orf42	6,96E-06	UXS1	9,08E-06
FMNL2	6,98E-06	HCN2	9,10E-06
TBC1D14	6,99E-06	FHAD1	9,10E-06
RRM2	7,04E-06	HLA-DRB5	9,10E-06
ATG4D	7,05E-06	SLC44A4	9,24E-06
TSPEAR	7,08E-06	NKX1-2	9,34E-06
STX6	7,09E-06	MPPED2	9,38E-06
PAEP	7,14E-06	CYP2U1	9,39E-06
CCDC159	7,20E-06	RNU6-2	9,40E-06
RGPD5	7,25E-06	FDPS	9,42E-06
RGPD8	7,25E-06	LGALS8	9,42E-06
NOTCH4	7,28E-06	SYNE2	9,44E-06
SUCLA2	7,30E-06	PCSK9	9,70E-06
AP2A2	7,40E-06	NSMCE4A	9,75E-06
CORO1C	7,42E-06	SCN5A	9,76E-06
CASC21	7,45E-06	VSIG4	9,78E-06
C12orf75	7,52E-06	DLGAP5	9,85E-06

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

TRAF3	7,55E-06	SYT1	9,90E-06
C1QTNF7	7,58E-06	ASCC3	9,91E-06
ATP6V1B2	7,59E-06	ATP11A	9,97E-06
NPAS4	7,60E-06	MIR3163	1,00E-05
MAD1L1	7,65E-06	CDH3	1,01E-05
CYREN	7,68E-06	ANKRD6	1,02E-05
MARCHF3	7,72E-06	HMCN2	1,02E-05
GRK2	7,72E-06	CFAP47	1,03E-05
TRAF3IP2	7,75E-06	ZNF335	1,03E-05
HDHD5-AS1	7,77E-06	RFTN2	1,03E-05
SHC2	7,84E-06	SPATC1L	1,03E-05
ARHGEF37	7,86E-06	ARHGAP24	1,03E-05
ZNF583	7,86E-06	SEPTIN12	1,04E-05
STAT1	7,88E-06	VPS72	1,05E-05
L3HYPDH	7,92E-06	LRRC37BP1	1,05E-05
SUSD4	8,01E-06	ABR	1,05E-05
TRERF1	8,08E-06	LRFN2	1,06E-05
KCNA3	8,10E-06	DDX25	1,06E-05
CFAP77	8,17E-06	SLA	1,06E-05
GPAT4	8,19E-06	FZD8	1,06E-05
MBNL2	8,19E-06	RASA3	1,07E-05
CRADD	8,22E-06	CASP7	1,07E-05
INA	8,23E-06	KCNE3	1,08E-05
SP1	8,36E-06	SLC39A3	1,08E-05
FCRLA	8,42E-06	HMGB3	1,08E-05
ODF3L1	8,43E-06	RPS15	1,08E-05
CBR1	8,48E-06	IFT140	1,09E-05
CTDSP2	8,49E-06	LRRN1	1,09E-05
NOD1	8,53E-06	TET2	1,09E-05
OCSTAMP	8,56E-06	CD164	1,09E-05
TTLL13	8,57E-06	WDR74	1,10E-05
DNHD1	8,58E-06	SERPINA5	1,10E-05
TTC7A	8,58E-06	DANCR	1,10E-05
SRC	8,62E-06	SNORA26	1,10E-05
ACTN3	8,66E-06	MTF2	1,11E-05
OXR1	8,66E-06	FAM43B	1,11E-05
DEFB132	8,69E-06	AKR1B1	1,11E-05
N4BP1	8,73E-06	MED15	1,11E-05
LMTK2	8,75E-06	GFPT2	1,11E-05
KRTAP3-1	8,76E-06	TSPAN2	1,12E-05
HLA-DRA	8,82E-06	ACBD5	1,12E-05
CREB3L3	8,88E-06	GDF7	1,13E-05
SIAH3	8,89E-06	TMCO4	1,13E-05
MON1A	8,95E-06	HMX2	1,13E-05
ST18	8,98E-06	GRM4	1,14E-05
PRSS12	9,00E-06	AHRR	1,14E-05
LINC01565	9,04E-06	EPHB3	1,14E-05
ZBTB42	9,05E-06	MYT1L	1,14E-05

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

NUP210	9,07E-06	GPM6A	1,15E-05
SNCA	9,22E-06	RIMS1	1,16E-05
DLG1	9,24E-06	TUBAL3	1,18E-05
HPS4	9,27E-06	GLI3	1,21E-05
ENPP5	9,28E-06	BTNL2	1,22E-05
MCF2L2	9,28E-06	C13orf42	1,23E-05
MEPE	9,35E-06	MTHFD2	1,23E-05
CYP4F2	9,36E-06	TMEM205	1,23E-05
MXRA7	9,37E-06	C8A	1,23E-05
DPH1	9,42E-06	CLVS1	1,24E-05
DAOA	9,46E-06	GDPD2	1,25E-05
CD109	9,49E-06	SFTA2	1,25E-05
APOL3	9,54E-06	GK5	1,25E-05
SLC16A9	9,60E-06	CYS1	1,26E-05
UBASH3B	9,61E-06	AGTPBP1	1,26E-05
CSF2RB	9,61E-06	VOPP1	1,26E-05
KRTAP9-7	9,65E-06	AGXT	1,26E-05
AGER	9,68E-06	PXDN	1,27E-05
APOA1	9,75E-06	PRAC2	1,28E-05
EXOC3L1	9,78E-06	CNOT3	1,28E-05
OBI1	9,82E-06	PDCD6IPP2	1,29E-05
RGS12	9,91E-06	LINC00620	1,29E-05
PTPRU	9,95E-06	PLPPR4	1,29E-05
DNAH2	1,00E-05	DAXX	1,29E-05
SPRING1	1,00E-05	ACAN	1,30E-05
LCN6	1,01E-05	FMNL1	1,30E-05
TNFRSF8	1,01E-05	SHLD1	1,31E-05
MTHFD1L	1,01E-05	GPCPD1	1,31E-05
DNAJC5	1,02E-05	PCDHGC5	1,32E-05
USP44	1,03E-05	IZUMO1R	1,32E-05
PCDHGA5	1,03E-05	WDR18	1,32E-05
ATE1	1,04E-05	CHL1	1,32E-05
H3C2	1,04E-05	BLOC1S5	1,33E-05
TUBAL3	1,04E-05	PKD1L3	1,33E-05
CELF2	1,04E-05	HLA-DQA1	1,34E-05
PGAM2	1,04E-05	EYA4	1,34E-05
PRKN	1,04E-05	CAMTA2	1,35E-05
RGS9	1,05E-05	GLDC	1,36E-05
CD248	1,05E-05	A4GALT	1,36E-05
LINC01426	1,05E-05	FBLN5	1,36E-05
LRRN1	1,06E-05	NRXN1	1,36E-05
PRECSIT	1,06E-05	TSNARE1	1,37E-05
RIMS3	1,07E-05	LMO7	1,38E-05
IBA57	1,07E-05	SLC2A9	1,38E-05
ZNF783	1,08E-05	HLA-F	1,39E-05
GH2	1,08E-05	TCF7L1	1,39E-05
ZNF136	1,09E-05	TACSTD2	1,40E-05
TMC8	1,09E-05	GRAMD1B	1,41E-05

Estudio del Perfil de Metilación de ADN En Pacientes con Síndrome Progeroide Neonatal (Síndrome de Wiedemann-Rautenstrauch)

SLC1A2	1,09E-05	MCAM	1,41E-05
SLN	1,10E-05	MTOR	1,42E-05
ACER3	1,10E-05	CDK5R2	1,42E-05
ITPR3	1,11E-05	IL15RA	1,43E-05
GRIN2A	1,11E-05	GPR35	1,43E-05
PLA2G4E	1,11E-05	PDE4C	1,44E-05
DHX35	1,11E-05	PTPN20	1,45E-05
ANTXR2	1,12E-05	VENTX	1,45E-05
PIWIL4	1,12E-05	DISC1	1,46E-05
PIK3CD	1,12E-05	TSGA10	1,47E-05
SEPTIN6	1,12E-05	VSX1	1,47E-05
FSCN2	1,13E-05	GNRH2	1,47E-05
PRKG1-AS1	1,14E-05	PTDSS2	1,48E-05
LRR9	1,14E-05	EYS	1,50E-05
PC	1,14E-05	GSPT1	1,50E-05
CMTM7	1,15E-05	RUNX3	1,51E-05
C3orf33	1,15E-05	DNAH11	1,51E-05
TMEM140	1,16E-05	LPCAT1	1,51E-05
EPN2	1,16E-05	PRCP	1,52E-05
PCDHGB4	1,16E-05	MCEE	1,52E-05
C8orf44-SGK3	1,16E-05	CNTFR	1,53E-05
INPP4B	1,17E-05	MAP1A	1,53E-05
CASR	1,17E-05	CRABP1	1,53E-05
B4GALNT3	1,17E-05	ZNF468	1,53E-05
OR6W1P	1,17E-05	AGBL4	1,53E-05
SCN10A	1,17E-05	PRSS22	1,54E-05
SCPEP1	1,17E-05	TMEM204	1,54E-05
DHX58	1,18E-05	TRABD2B	1,54E-05
RETN	1,18E-05	APH1A	1,54E-05
ST7	1,18E-05	DMBX1	1,54E-05
COL5A3	1,18E-05	RNF39	1,55E-05
APOBEC3C	1,18E-05	LRRK1	1,55E-05
SGIP1	1,18E-05	WWC1	1,56E-05
OMA1	1,18E-05	ESS2	1,57E-05
HSD17B12	1,19E-05	HID1	1,57E-05
UCHL5	1,19E-05	ACTA1	1,57E-05