



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS

PERFIL DE EXPRESIÓN DE MICRORNAS EN EL
TUMOR DE WILMS CON ANAPLASIA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:
DRA. ANALLELY LUNA HERNANDEZ

DIRECTOR DE TESIS:
Dra. María del Pilar Eguía Aguilar



Ciudad de México, Febrero de 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS



DRA. MARÍA DEL PILAR EGUÍA AGUILAR
JEFE DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DEPARTAMENTO DE
PATOLOGÍA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL DEL
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Dedicado a la persona más fuerte que conozco: a mí y a todos los que me hicieron ser
quien soy.

“No ores por una vida fácil, ruega por tener fuerza para soportar una difícil.”

Bruce Lee

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1. Desarrollo de riñón normal.....	6
2.2. Nefroblastoma (tumor de Wilms).....	8
2.2.1. Características clínicas	8
2.2.2. Patología.....	8
2.2.3. Histogénesis.....	9
3. ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO	10
3.1 Vía del WT1/ β -catenina en el desarrollo del tumor de Wilms.....	10
3.2 Cambios epigenéticos asociados al desarrollo del tumor de Wilms	10
3.3 Sistema de microRNAs y desarrollo del tumor de Wilms.....	11
3.4 Analisis de PCR en tiempo real por el método comparativo de C_T	13
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
6. JUSTIFICACIÓN.....	15
7. OBJETIVOS	15
8. HIPOTESIS	16
9. MATERIAL Y METODOS.....	16
10. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES	18
11. PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO.....	19
12. CONSIDERACIONES ETICAS	19
13. RESULTADOS.....	20
14. DISCUSION	31
15. CONCLUSION	33
16. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	33
17. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	33
18. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
19. ANEXOS.....	35

1. RESUMEN

El siguiente estudio responde a la pregunta de investigación: ¿Hay un grupo de microRNA característico en el tumor de Wilms con anaplasia? ¿Dichas alteraciones pueden reflejar un comportamiento biológico distinto? **OBJETIVO:** Determinar el perfil de expresión de microRNAs en pacientes con tumor de Wilms con anaplasia para conocer la relevancia de los microRNAs en el tumor de Wilms con anaplasia y describir un grupo de microRNAs que constituyan biomarcadores potenciales. **METODOLOGÍA:** Se determinó la expresión de microRNA mediante PCR en tiempo real utilizando la cuantificación relativa, se procesó la información en el programa estadístico SSPS versión 22 y se presentó la información en gráficos y tablas realizados en Microsoft Excel 2010. **RESULTADOS:** 12 pacientes, 6 con tumor de Wilms con anaplasia y 6 sin anaplasia, la estadística descriptiva de las características de pacientes y tumor concuerda con literatura, los microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia que se encontraron fueron: miR 10a, miR10b, miR17, miR106a, miR-149, miR-196b, miR-218, miR-342-3p, miR345, miR-708, miR-661, miR-766, miR-183 y miR-1208. **CONCLUSIONES:** El estudio de los microRNAs asociados a tumor de Wilms han mostrado una menor sobreexpresión e incluso subexpresión en pacientes con anaplasia en comparación a los que no la tienen. Se encontraron 15 microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia: miR 10a, miR10b, miR17, miR106a, miR-149, miR-196b, miR-218, miR-342-3p, miR345, miR-708, miR-661, miR-766, miR-183 y miR-1208.

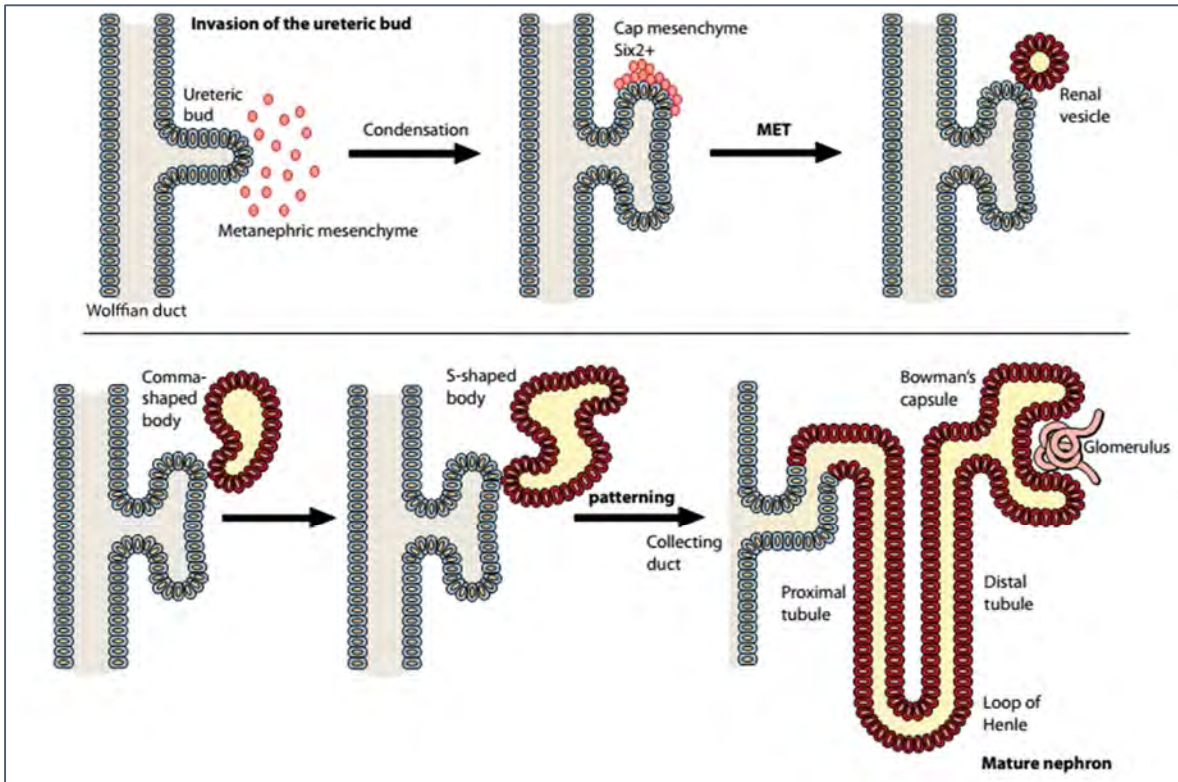
2. INTRODUCCIÓN

Las neoplasias en la edad pediátrica son en su mayoría de origen no epitelial y las principales en esta categoría son las neoplasias de origen linfóide, sin embargo las neoplasias sólidas también son un rubro importante que afectan a este grupo etario. En particular el nefroblastoma es la neoplasia renal más frecuente y constituye el 6% de las neoplasias pediátricas afectando a uno de cada 10 000 niños¹, la edad de presentación oscila entre 1-4 años con una ligera prevalencia en mujeres. Se puede presentar en forma esporádica o hereditaria, algunos tumores presentan cariotipo normal, pero más del 50% presentan deleciones del brazo corto del cromosoma 11. El 10% de estos tumores se asocian a síndromes dismórficos y solo el 5% de ellos son de presentación bilateral. Son el resultado de un desarrollo anormal de los riñones, posiblemente alrededor de la etapa de transición mesenquimal a epitelial en el inicio de la nefrogénesis. Los análisis histológicos y transcriptómicos de los tumores de Wilms han demostrado que son un

grupo heterogéneo de tumores que podrían originarse en diferentes etapas del desarrollo. Existen factores que conceden características de mal pronóstico uno de ellos es la anaplasia la cual consiste en tres características histológicas: hiperchromasia nuclear, agrandamiento nuclear y mitosis multipolares².

2.1. Desarrollo de riñón normal

El riñón deriva del mesodermo para-axial, de la placa lateral y de la fusión de tres estructuras: pronefros, mesonefros y metanefros, el riñón definitivo deriva directamente del metanefros. El riñón metanéfrico se desarrolla a partir de la semana 5 de gestación y continua hasta la semana 36, a partir del mesodermo intermedio (IM), el cual da lugar a tres tipos de células y estructuras que formarán el riñón: el conducto Wolffiano, las células mesenquimales six2-positivas que formarán las nefronas y las células Foxd1-positivas que darán lugar a las células del estroma. Las señales del mesénquima metanéfrico inducen el nacimiento de la yema ureteral que será el primordio del uréter, las células que forman el mesénquima están marcadas por Six2 y son las células progenitoras de nefronas. La condensación del mesénquima es necesaria para la nefrogenia y esto se da cuando las células mesenquimatosas se agregan alrededor de las puntas de la yema ureteral, posterior a esto se hace la remodelación de la vesícula y al final se adquiere la forma de “s” y es cuando se concreta la unión del blastema mesenquimático y el brote ureteral y con esto se comienza la ramificación del brote. Cada una de estas partes expresará transportadores específicos para permitir el correcto funcionamiento de la nefrona. Además, desde una etapa temprana en el proceso de modelado, los precursores de podocitos se pueden encontrar en el extremo más proximal de la nefrona³. Junto con la invasión de células endoteliales y mesangiales y las células que forman la cápsula de Bowman, eventualmente formarán el glomérulo, en el que los podocitos maduros realizan las funciones de filtración. A medida que este programa nefrogénico se ejecuta, la yema ureteral seguirá creciendo y ramificándose y cada vez que se forman nuevas puntas de brotes se repite el proceso de inducción y comienzan a formarse nuevas nefronas, se conectan a la yema y se forman patrones para formar una nefrona funcional (figura 1). La naturaleza repetitiva de la ramificación y la inducción rendirá 1 millón de nefronas en un riñón humano y el patrón de ramificación centrífuga también conducirá a una arquitectura tisular con nefronas viejas en el interior y más jóvenes en el exterior de la corteza⁴.



Hohenstein P., Hastie N., LINKng microRNAs kidney development, and Wilms tumors. GENES & DEVELOPMENT (2015) 28:923-925.

Figura 1. Representación esquemática del desarrollo del riñón.

Hay una interacción de varios tipos celulares en la que intervienen factores de transcripción, factores de crecimiento, proteasas, receptores de genes, moléculas de adhesión y componentes de la matriz extracelular, de todos ellos destacan los que son punto de control en este proceso como GDNF- c- RET y cascada de GDNFR del receptor alfa, se describió como un gen que promueve la sobrevivencia de las neuronas dopaminérgicas y actualmente se sabe que es importante para el crecimiento del brote ureteral, se expresa principalmente en el conducto de Wolf y después en las puntas de las ramificaciones ureterales; Los factores de transcripción Pax 2 y Pax 8 participan determinando el linaje de las primeras células embrionarias renales, inducción del riñón metanéfrico, y diferenciación de la nefrona. Pax-2 se expresa en el conducto mesonéfrico, en el brote ureteral y en el mesénquima metanéfrico; Pax-8 se distribuye igual que Pax-2 y además en vesículas renales y en los cuerpos en forma de "s". En tumores renales ambos genes se han encontrado sobre-expresados promoviendo proliferación y plasticidad celular⁵. WT1 es un gen supresor de tumor que actúa como factor de transcripción de las células del mesénquima que inducen el brote uretral, su expresión es necesaria para el desarrollo de los túbulos mesonéfricos caudales; las mutaciones en este

en particular se han asociado con tumores de Wilms y con el síndrome de Denys-Drash; la familia de genes Wnt contribuye a la diferenciación del mesénquima durante el desarrollo, de esta familia específicamente el Wnt-4 está implicado en el desarrollo renal glomerular, el Wnt-11 participa en la ramificación del brote ureteral; Emx 2 y BF2 son factores de transcripción, el Emx es un homeobox que está implicado en la ramificación del uréter y el BF2 se expresa inicialmente en las células del mesénquima; TGF-B1 es un factor de crecimiento que se expresa en el mesénquima metanefrico³.

2.2. Nefroblastoma (tumor de Wilms)

Es el tumor renal primario más frecuente en la infancia y la cuarta neoplasia pediátrica maligna más frecuente. Alrededor del 5 % de los nefroblastomas surgen en ambos riñones de forma simultánea o metácrona. La biología molecular de este tumor ilustra varios aspectos importantes de las neoplasias infantiles como son la relación entre la organogénesis y la oncogénesis, teoría de los dos golpes, papel de las lesiones premalignas y las posibilidades de tratamiento que pueden influir de manera importante en el pronóstico y evolución⁶.

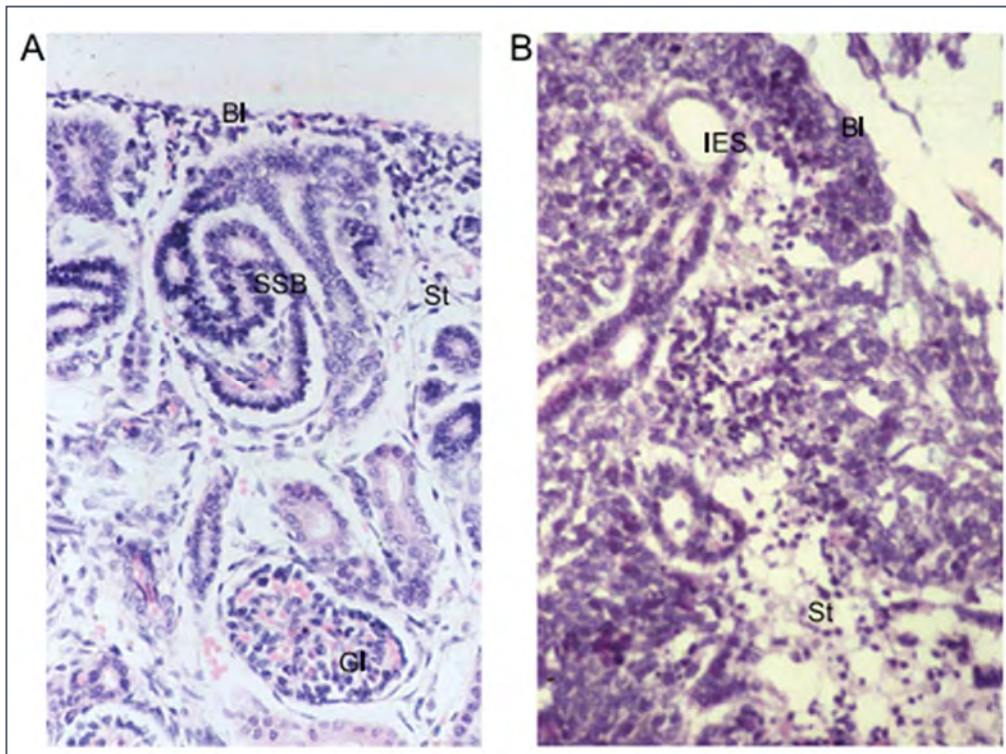
2.2.1. Características clínicas

Las principales características clínicas que se presentan en niños por orden de frecuencia son masa abdominal (75%), dolor abdominal (25%), hematuria microscópica (24%), fiebre (22%) y hematuria macroscópica (18%). En los estudios de imagen se realiza ultrasonido abdominal, telerradiografía de tórax, tomografía computarizada con doble contraste; la tomografía computarizada es el estudio de elección, ya que da el diagnóstico de certeza en el 82% de los casos; se deben realizar además estudios moleculares y genéticos en busca de WT1, WT2, WT3 Y P53⁶.

2.2.2. Patología.

El tumor de Wilms tiende a presentarse como una masa abdominal, solitaria, bien circunscrita, solo el 10% de los tumores son bilaterales o multicéntricos; al corte el tumor es sólido, homogéneo, blando, marrón a gris, con focos de hemorragia y formación de quistes y necrosis. Microscópicamente el tumor de Wilms recapitula la diferenciación nefrogénica normal, pero mientras que las neuronas en desarrollo normales están bellamente estructuradas, las estructuras nefrogénicas en los tumores de Wilms están desorganizadas, se caracteriza por que presenta diferentes momentos de la nefrogénesis, la presentación clásica es trifásica en la que se encuentran las células con diferenciación blastemal, estromal y epitelial (Imagen 2), el porcentaje de cada uno de los componentes

es variable, es muy raro encontrar elementos heterólogos tales como epitelio escamoso o mucinoso, músculo liso, tejido adiposo, cartílago, tejido osteoide y neurogénico. Solo el 10% de estos tumores presentan características de anaplasia la cual se define por tres características específicas que es la presencia de núcleos grandes, hipercromáticos, pleomorficos y mitosis multipolares, esta característica es de mal pronóstico y se asocia con mutaciones de p53₇.



Hohenstein P., Hastie N., LINKng microRNAs kidney development, and Wilms tumors. GENES & DEVELOPMENT (2015) 28:923-925.

Figura 2. Los tumores de Wilms semejan a los riñones fetales. (A) Riñón fetal humano (18 semanas de gestación) que muestra blastema (mesénquima metanéfrico), diferenciación epitelial (cuerpo en forma de S), estroma y un glomérulo maduro. (B) Un tumor de Wilms trifásico que muestra los tres tipos de células: blastema, epitelio y estroma. (Bl) Blastema; (SSB) cuerpo en forma de S; (St) estroma; (Gl) glomérulo; (IES) estructura epitelial inmadura.

2.2.3. Histogénesis

La lesión precursora de este tumor es la presencia de restos nefrogénicos y se observan en el parénquima renal adyacente aproximadamente en el 40% de los tumores unilaterales y esta frecuencia aumenta hasta casi el 100% en los tumores bilaterales, el aspecto de estos restos es desde formas expansivas (restos hiperplásicos), restos

escleróticos y algunas veces restos de glomérulos y túbulos inmaduros, es importante mencionar su hallazgo ya que aumenta el riesgo de presentar tumor contralateral⁸.

3. ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

3.1 Vía del WT1/ β -catenina en el desarrollo del tumor de Wilms

La asociación del tumor de Wilms con determinados síndromes como WAGR, Denys-Drash, Perlman y Beckwith-Widemann tienen una tasa que va del 95% en WAGR a 5% en Beckwith-Widemann. Se han asociado mutaciones en el gen WT1 en pacientes con tumor de Wilms asociado a síndromes y en el 20% de los casos esporádicos⁹. Recientes estudios han demostrado que dependiendo de la línea celular usada, WT1 puede actuar como gen activador y represor. La expresión y función de WT1 en el desarrollo del riñón ha sido ampliamente estudiado, así, se ha observado su expresión temprana en bajos niveles en el mesodermo intermedio y tardía en el mesénquima metanéfrico. Estos niveles de expresión se encuentran incrementados significativamente en las células del mesénquima condensado alrededor del botón ureteral, lo cual sugiere que también juegan un papel importante en la diferenciación de estas células. En el riñón maduro la expresión de WT1 se encuentra restringida a los podocitos glomerulares. Wnt es un mediador crítico que es requerido por MET durante la formación de las nefronas, su vía de señalización juega un papel importante en el desarrollo de diversos procesos que incluyen proliferación, diferenciación, adhesión y polaridad celular, formación de patrones y la morfogénesis. Una mutación de pérdida de la función de WT1 resulta en la disminución de Wnt4 y por tanto bloqueo en sus funciones de diferenciación lo cual eventualmente lleva a la transformación y desarrollo del tumor de Wilms sobre todo en aquellos que contienen estroma predominantemente^{10,11}.

Análisis genéticos moleculares han indicado que aproximadamente el 20% de los tumores de Wilms esporádicos contienen una mutación o delección en WT1. Se ha observado además que cerca del 15% tienen mutaciones en el gen de β -catenina. Cerca del 80% de los tumores de Wilms con mutación en WT1 tienen también mutaciones en β -catenina lo que sugiere que la función conjunta de estos dos genes^{12,13}.

3.2 Cambios epigenéticos asociados al desarrollo del tumor de Wilms

Cambios epigenéticos que incluyen metilación del DNA, modificaciones post-transcripcionales de histonas y remodelación de la cromatina tienen efectos importantes

en la expresión de genes y afectan el crecimiento células, su diferenciación y desarrollo. La desregulación de estas modificaciones epigenéticas se han visto implicadas en la formación de varios tipos de cáncer.

La metilación del factor II de crecimiento parecido a insulina (IGF₂) se encuentra asociado a un subgrupo de pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann y aproximadamente 70% de pacientes con tumor de Wilms tienen una pérdida de impresión en 11p15 y muestran expresión bialélica del gen IGF₂. Múltiples investigaciones han encontrado que anomalías de esta región como metilación anormal, disomía uniparental paterna, microdeleciones y microinserciones están asociadas al tumor de Wilms¹⁴.

3.3 Sistema de microRNAs y desarrollo del tumor de Wilms

Los microRNAs son RNAs no codificantes pequeños (20-25 nucleótidos) que regulan negativamente la expresión de genes a nivel postranscripcional. Su rol biológico fue revelado en un inicio durante un tamizaje de mutaciones con pérdida e la función en el desarrollo de la larva *Caenorhabditis elegans*. El cual revela que los genes que codifican microRNAs lin-4 y let-7 del control del desarrollo por modulación de la expresión de otros genes a nivel post-transcripcional.

El rol crítico potencial de los microRNAs en los procesos de desarrollo ha llevado a un esfuerzo extenso por examinar su expresión durante el desarrollo del riñón usando tanto microarreglos como secuenciación de última generación. Algunos microRNAs que se han encontrado específicamente en el desarrollo del riñón incluyen miR-19a/b, miR-31, miR-146a, miR-192, miR-194, miR-204, miR-215, miR-216, and miR-886; comparados con los del riñón maduro miR-192, miR-215, and miR-194 tienen perfiles de expresión significativamente bajos independientemente del subtipo de tumor de Wilms, mientras miR-141 and miR-200c muestran una expresión significativamente baja en los tipo blastema y los mixtos. Otros estudios han demostrado que otro grupo de microRNAs (miR-17.5p, miR-18a, miR-19b, miR-92, and miR-20a) están sobrerregulados en el tumor de Wilms comparados con otros tipos de tumores y el tejido renal normal. Se han encontrado familias específicas de microRNAs tal como miR302/367 cercanas o en combinación con mir-200c, mir-302s y mir-369s que tienen la habilidad de reprogramar células somáticas induciéndolas a células pluripotentes. Vale la pena investigar si y como estos microRNAs participan en el desarrollo del tumor de Wilms con anaplasia y sin anaplasia¹⁵.

Un estudio del año 2014 estableció que miR-143-3p se encuentra incrementado en el tumor de Wilms comparado con otros grupos de tumores ($p=0.003$), y miR-129-5p también puede sobreexpresarse en la mayoría de los casos con alteración MYCN-NB/NB₁₆.

Otro estudio de 2013 analizó el perfil de microRNA como predictor de respuesta a quimioterapia en tumores de Wilms encontrándose un total de 29 microRNAs que fueron diferencialmente significativos expresados entre grupos de riesgo intermedio y alto en el postratamiento, 7 de los 29 microRNAs fueron además expresados en el pretratamiento de caasos de riesgo intermedio comparados con riesgo altos. Estas alteraciones de microRNA incluyen baja expresión de miR-193a.5p, miR-27a, sobreexpresión de miR-438.5p, miR-628.5p, miR-590.5p, miR-302^a y miR-367₁₇.

Hablando específicamente de la sobreexpresión de miR-181a, hay estudios que revelan que éste puede tener efectos tumorigenos en pacientes con carcinoma renal de células claras mediante la inhibición de KLF6, se ha relacionado además con leucemia linfoblástica aguda, cáncer de colon, mama y páncreas pero se desconoce su papel específico en el tumor de Wilms. En un estudio se obtuvieron muestras tumorales de 42 pacientes con carcinoma renal de células claras y se usó PCR en tiempo real para determinar su expresión, se observó que se regula positivamente en células tumorales en comparación con el tejido normal adyacente y otros tejidos normales; además se observó que se asocia a diversos aspectos de las características tumorales como tamaño, necrosis tumoral, y estadificación TNM; en el estudio se pudo concluir que las células tumorales sobreexpresan miR-181a, lo cual conduce a la aceleración del ciclo celular y la inhibición de la apoptosis mediante la supresión de KLF6. Los autores concluyeron que estos resultados revelan un papel molecular novedoso de este microRNA en la tumorigénesis del carcinoma renal de células claras indicando que puede ser un objetivo terapéutico potencial₁₈.

El miR-10a pertenece a una familia muy conservada y que ha despertado el interés en muchos grupos de investigación debido a su localización, la coexpresión y la regulación del gen HOX. Hablando específicamente de su relación con el cáncer, es un hecho bien establecido que está desregulado en varios tipos de cáncer incluyendo el de origen hematológico, en SNC, sistema gastrointestinal y en carcinoma renal de células claras metastásico teniendo en general una tendencia hacia niveles elevados, lo que sugiere un

potencial oncogénico en la mayoría de los tipos de células, sin embargo su papel en el tumor de Wilms con anaplasia no ha sido descrito¹⁹.

3.4 Analisis de PCR en tiempo real por el método comparativo de C_T

La cuantificación de los niveles de expresión génica se ha convertido en un elemento básico de la mayoría de los laboratorios de biología molecular, al medir la cantidad de ARN celular uno puede determinar en qué medida se está expresando ese gen particular. Para muchos genes, los niveles de expresión cambian drásticamente de gen a gen, de célula a célula o durante diversas condiciones experimentales. Algunos ejemplos de estudios de expresión génica cuantitativa incluyen: como una validación de niveles de proteína, como una validación de la extensión de la transcripción de un gen, estudiar la diferencia en la expresión de un gen en el estado enfermo en comparación con el estado normal, cambio en la expresión génica durante la diferenciación o el desarrollo celular, cambio en la expresión de células que están expuestas a una sustancia química (como un fármaco, toxina, hormona o citoquina), cuantificación de la expresión del gen de ARN no codificante, validación de la efectividad del ARN de interferencia pequeño u oligonucleótidos antisentido o como herramienta de diagnóstico.

El RT-PCR en tiempo real es una herramienta poderosa para cuantificar la expresión génica. El punto final cuantitativo para la PCR en tiempo real es el ciclo umbral (C_T). La C_T se define como el ciclo de PCR en el que la señal fluorescente del colorante informador cruza un umbral arbitrariamente colocado. Al presentar los datos como C_T , uno asegura que la PCR se encuentra en la fase exponencial de amplificación. El valor numérico de la C_T está inversamente relacionado con la cantidad de ampliación en la reacción, es decir, cuanto menor es la C_T , mayor es la cantidad de ampliación. Existen dos métodos diferentes para presentar la expresión génica cuantitativa: la cuantificación absoluta que calcula el número de copias del gen usualmente relacionado a la señal de PCR con una curva estándar; y la cuantificación relativa que presenta los datos del gen de interés relativo a algún calibrador o gen de control interno. Se requiere una cuantificación absoluta cuando se desea una cantidad precisa de ampliación, por ejemplo, el cálculo de la carga viral, su desventaja incluye el mayor esfuerzo para generar curvas estándar y además a menudo es innecesario presentar datos como número absoluto de copias y la expresión relativa será suficiente, por ejemplo, si un tratamiento aumenta la expresión de un gen particular de 10 000 a 50 000 copias por célula, es suficiente informar los datos como un aumento de cinco veces en la expresión génica.

Para la expresión génica relativa se han desarrollado varios métodos. El método de corrección de la eficiencia calcula la relación de expresión relativa de las eficiencias de PCR en tiempo real y el CT, datos de PCR en tiempo real se han analizado por los métodos de ajuste de curvas sigmoideas que se ajustan a los datos experimentales a una ecuación y los resultados en la predicción de la eficiencia de la PCR empírica y una estimación del número de copias inicial de la amplificación. Otro método para presentar datos cuantitativos de PCR en tiempo real es el método comparativo de CT o $2^{-\Delta\Delta CT}$, el cual hace varias suposiciones, incluyendo que la eficiencia de la PCR cercana a 1 y la eficiencia de PCR del gen objetivo es similar al gen de control interno.

Existen ventajas y desventajas en cada uno de los métodos para analizar datos relativos de PCR en tiempo real. Una ventaja del método de corrección de eficiencia es que la eficiencia de PCR de los genes de control interno y objetivo se incluye en la ecuación y, por lo tanto, las diferencias en la eficiencia entre el control objetivo y el interno se tendrán en cuenta en el cálculo. Los modelos sigmoidales de ajuste de curvas tienen la ventaja de que no es necesario calcular la eficiencia de PCR mediante un experimento separado y se estima durante el análisis. Las ventajas del método comparativo de CT incluyen la facilidad de uso y la capacidad de presentar datos como doble cambio en la expresión. Las desventajas del método comparativo de CT incluyen las suposiciones de que la eficiencia de PCR debe mantenerse o la PCR debe optimizarse aún más. Las desventajas del modelo cinético simulado incluyen el uso del análisis de regresión no lineal para los cálculos. Además, recientemente se demostró que los problemas relacionados con el ajuste de la parte de la curva donde la señal de fluorescencia está oculta en la banda de ruido pueden dar cuenta de estimaciones sesgadas de la eficiencia de amplificación. Una desventaja del método de corrección de la eficacia incluye que la eficacia de los genes diana y de control debe determinarse para cada experimento. Esto no es práctico al realizar el perfil de muchos cientos de genes mediante PCR en tiempo real.

La mayoría de los instrumentos de PCR en tiempo real están equipados con una configuración de placa de 96 o de 384 pocillos. Por lo tanto, la PCR en tiempo real se puede usar como "arreglos de baja densidad". Aunque PCR nunca generará el rendimiento que se logra mediante los microarreglos, la PCR tiene la ventaja de una sensibilidad sin igual. Existen situaciones en las que uno puede querer perfilar varios cientos de genes y, por esta razón, la PCR en tiempo real es ideal. Una aplicación es en los microRNAs, de los cuales actualmente existen unos 530 en humanos y 440 de ratón.

Perfilar microRNAs maduros usando PCR en tiempo real configurada en placas de reacción de 384 pocillos y un ensayo como TAqMan miRNA assays es un método conveniente para generar datos de alta calidad en varios cientos de microRNAs²⁰.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tumor de Wilms es el tumor abdominal más frecuente en la edad pediátrica, la variante histológica con anaplasia representa el 10% de los tumores renales y es considerado una variante diferente del tumor de Wilms con resistencia al tratamiento y pronóstico pobre. Las vías moleculares involucradas en esta variante se encuentran poco estudiadas, su diagnóstico se basa en características histológicas específicas, lo que sugiere una naturaleza genética diferente a la variante sin anaplasia. En los tumores renales la alteración en la expresión de los microRNAs se considera una herramienta potencial para el pronóstico y diagnóstico, además se considera que puede definir subtipos tumorales dentro de una misma entidad. Las diferencias en su expresión pueden reflejar alteración en diferentes vías moleculares y puede delinear un mecanismo de regulación post-transcripcional poco explorado en el tumor de Wilms con anaplasia y sin anaplasia.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- ¿Hay un grupo de microRNA característico en el tumor de Wilms con anaplasia?
- ¿Dichas alteraciones pueden reflejar un comportamiento biológico distinto?

6. JUSTIFICACIÓN

El pronóstico de supervivencia de los pacientes con tumor de Wilms es de aproximadamente 90% dependiendo del estadio clínico, el cual disminuye a 63% si el tumor se presenta después de los 5 años de edad, cuando la presencia de anaplasia es más frecuente. La expresión de microRNAs específicamente en el tipo con anaplasia es un campo no explorado, sin embargo existen estudios que han mostrado la participación de microRNAs en la patología del tumor de Wilms sin subtipo específico. En el tumor de Wilms con anaplasia se pretende determinar el perfil de expresión de microRNAs y comparar con respecto al perfil en el tumor de Wilms sin anaplasia.

7. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar el perfil de expresión de microRNAs en pacientes con tumor de Wilms con anaplasia para estudiar la relevancia de los microRNAs en el tumor de Wilms con anaplasia y describir un grupo de microRNAs que constituyan biomarcadores potenciales.

Objetivos específicos:

- Conocer la edad, sexo, signos y síntomas clínicos, lateralidad y localización del tumor de cada grupo
- Comparar el perfil de expresión de microRNAs en pacientes con tumor de Wilms con anaplasia, Wilms sin anaplasia y riñón no neoplásico mediante arreglos de baja densidad. La meta es demostrar diferencias en la expresión de los microRNAs en cada grupo. La duración de esta etapa es de 6 meses y corresponde a la etapa 1.
- Seleccionar un grupo de microRNAs con cambios significativos en su expresión y confirmar en un número mayor de casos. La meta es demostrar la relevancia de los microRNAs y relacionar con las características clinicopatológicas de cada paciente para definir su posible papel como biomarcadores. La duración es de 1 año y corresponde a la etapa 2 y 3.
- Determinar las principales moléculas blanco de los microRNAs alterados. La meta es conocer la función de sus moléculas blanco para explicar los cambios que se observan en el tumor de Wilms con anaplasia a diferencia de lo que ocurre con los que no tienen anaplasia. La duración es de 6 meses y corresponde a la etapa 3.

8. HIPOTESIS

Existen microRNAs que son característicos del tumor de Wilms con anaplasia y que pueden contribuir a establecer un comportamiento biológico más agresivo, a diferencia de lo observado en la variedad de Wilms sin anaplasia y riñón sin alteraciones. Esta información permitirá proponer microRNAs que participen en la patología de este tumor.

9. MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio

- Descriptivo, transversal y retrospectivo.

Criterios de inclusión

- Muestras de tejido incluidos en parafina o congelado, con diagnóstico de tumor de Wilms con y sin anaplasia.
- Muestras con 80 % de tejido libre de necrosis con patrón histológico íntegro.

Criterios de exclusión

- Muestras con >20 % de necrosis, y patrón histológico no apto y se sustituirán con casos de años anteriores.
- Muestras con material genético insuficiente (la alternativa es elegir otras muestras de años anteriores para seguir manteniendo el tamaño de muestra propuesto)

Tamaño de la muestra a estudiar

- Por conveniencia. Se incluirán 6 tumores de Wilms con anaplasia, 6 tumores de Wilms sin anaplasia y 12 controles (tejido renal adyacente al tumor).

Procedimiento

- Todos los casos serán revisados por tres patólogos, uno quien emitió el diagnóstico y dos revisores más. Los tumores de Wilms se dividirán entre los que no tienen anaplasia y los que tengan anaplasia. En este último caso, el tejido en donde se identifique anaplasia será de donde se extraerá el RNA.
- Se seleccionarán 6 casos con tumor de Wilms con anaplasia, 6 sin anaplasia y como control en cada caso se incluyó riñón no neoplásico adyacente al tumor, por lo que se incluyeron en total 12 controles.
- En cada caso, a partir del bloque de parafina se realizaron 4 cortes de 10 micras cada uno y se colocaron en microtubos de 1.5 ml. Material en el que se realizó procesamiento para desparafinar que consistió en:
 - Eliminar parafina agregando 1 mL de xilol y agitar en vortex, incubar por 5 minutos a 45°C y repetir.
 - Eliminar xilol realizando tres lavados con 1 mL de etanol absoluto y agitar en cada ocasión. Centrifugar 1 minuto y decantar.
 - Abrir los tubos para que se evapore el etanol y agregar la mezcla de digestión que consiste en 15µL de la enzima proteinasa K y 335µL de

buffer de digestión, posteriormente se colocó el tubo en incubación en un termoblock a 45°C de 24 a 48 hrs, agitando ocasionalmente.

- Para la extracción de RNA total se utilizó el reactivo trizol. Se realizó tratamiento con DNAsa en todas las muestras. Se determinó la concentración y pureza del RNA total de cada muestra en un Nanodrop-1000 (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA) y se incluyeron las que tuvieron una relación de A260/A280 de 1.7 a 2.1.
- A continuación se realizó la reacción de transcriptasa reversa con 200ng de RNA total usando el kit TaqMan microRNA reverse transcription kit (Applied Biosystem, Manasas Ca) en un volumen total de 10µl.
- Se realizará un perfil de expresión de microRNA mediante arreglos de baja densidad en termociclador Quant Stud™ 7 flex System. Dichos valores
- fueron normalizados con el control endógeno U6 snRNA-001973.
- Se realizó una cuantificación relativa mediante el método Ct comparativo ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Los valores de expresión de los microRNAs se compararon contra los valores de expresión de los controles (tejido renal normal) y el resultado se representó como el número de veces que la expresión se encontró alterada, para ello se tomaron en cuenta los siguientes parámetros: expresión aumentada cuando el número de veces fue mayor o igual a dos en el tumor en comparación con el control, expresión baja cuando el número de veces fue dos veces menos en el tumor, en comparación con el control; se consideró expresión sin cambios cuando el número de veces fue menor de dos y mayor de menos dos.

10. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medición
Edad	Tiempo transcurrido entre el nacimiento y la presentación del tumor	El consignado en el estudio de patología	Cuantitativa discreta	Meses
Sexo	Fenotipo de los	El consignado	Cualitativa	Femenino o

	pacientes	en el expediente	nominal	masculino
Cuadro clínico	Signos o síntomas de presentación	Consignado en el expediente	Cualitativa nominal	Tumor abdominal, dolor abdominal y fiebre.
Localización tumoral	Localización espacial en el riñón y lateralidad	Derecho, izquierdo, bilateral, central o en polos.	Cualitativa nominal	Derecho, izquierdo o bilateral, polo inferior, superior o central
Tipo de histología	Aspecto histológico del tumor	Mediante estudio histológico determinar el tipo	Cualitativa nominal	Sin anaplasia, con anaplasia.
Expresión de microRNA	Valor de expresión en PCR	Medición con PCR mediante arreglos de baja densidad	Cuantitativa continua	Número de veces que se expresa el microRNA

11. PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó el método de cuantificación relativa mediante la fórmula $2^{-\Delta\Delta C_t}$, de esta forma se obtuvieron valores sobre el número de veces que la expresión se encontró aumentada en los tumores con anaplasia y sin anaplasia. Se analizaron los datos mediante el programa computacional SPSS 22 con las variables de estudio y se presentó la información en cuadros y gráficos con el programa Microsoft Excel 2010. Para el mapa de calor se utilizó el programa Multiexperiment Viewer 4.9.0.

12. CONSIDERACIONES ETICAS

De acuerdo a la declaración 23 de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, la Investigación médica que se va a realizar respetará el derecho a la autodeterminación, la

intimidad y la confidencialidad de la información personal de los pacientes incluidos en la investigación cambiando su número de biopsia por número de caso. De igual forma se tomarán toda clase de precauciones para resguardar la confidencialidad de su información personal para reducir al máximo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.

De acuerdo al código de Núremberg y por la naturaleza del estudio, no se requiere la firma de un consentimiento informado voluntario ya que no se llevará a cabo ninguna actividad que interfiera con la evolución natural de la enfermedad en estudio y tampoco se causará sufrimiento ni físico ni mental al individuo en cuestión, además el estudio está justificado por la finalidad de obtenerse resultados provechosos para el beneficio de la sociedad basándose en resultados previos de literatura internacional, el sujeto será protegido manteniendo en anonimato y discreción todos los datos que se obtendrán de su expediente clínico y de laboratorio.

Además este estudio está basado en las pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos las cuales se basan en los principios éticos generales que incluyen el respeto por las personas, el principio de beneficencia y no maleficencia, la justicia explicada como la obligación ética de tratar a cada persona de acuerdo con lo que se considera moralmente correcto y apropiado haciendo especial referencia a la protección de los derechos y bienestar de las personas vulnerables.

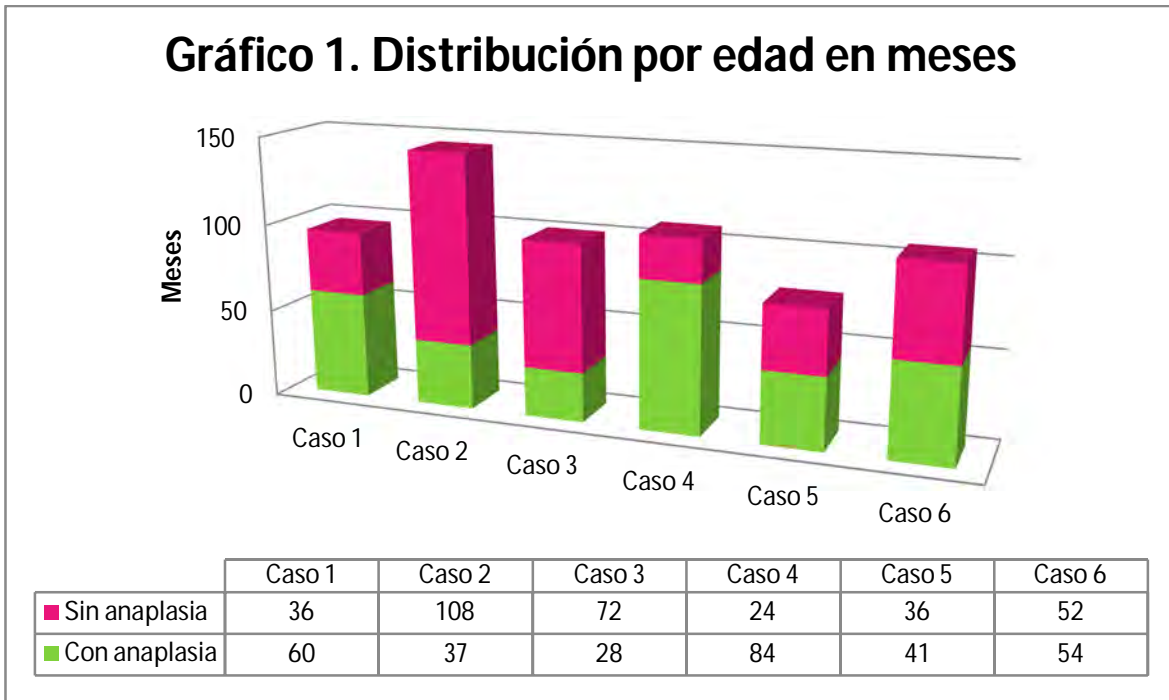
Es importante mencionar que por la naturaleza del estudio, el riesgo para el paciente es mínimo.

De igual manera éste estudio no conlleva cualquier propósito de lucro de ninguna de las partes involucradas.

13. RESULTADOS

Se revisaron en total 12 casos de tumor de Wilms, 6 de ellos con anaplasia y 6 sin anaplasia. El rango de edad fue de 24 meses (sin anaplasia) a 108 meses (con anaplasia) en el total de los casos con promedio de 52.66 meses (± 24.93), el promedio de edad en tumores con anaplasia fue de 50.6 meses (± 20.01) y en tumores sin anaplasia de 54.6 meses (± 30.9) (Gráfico 1).

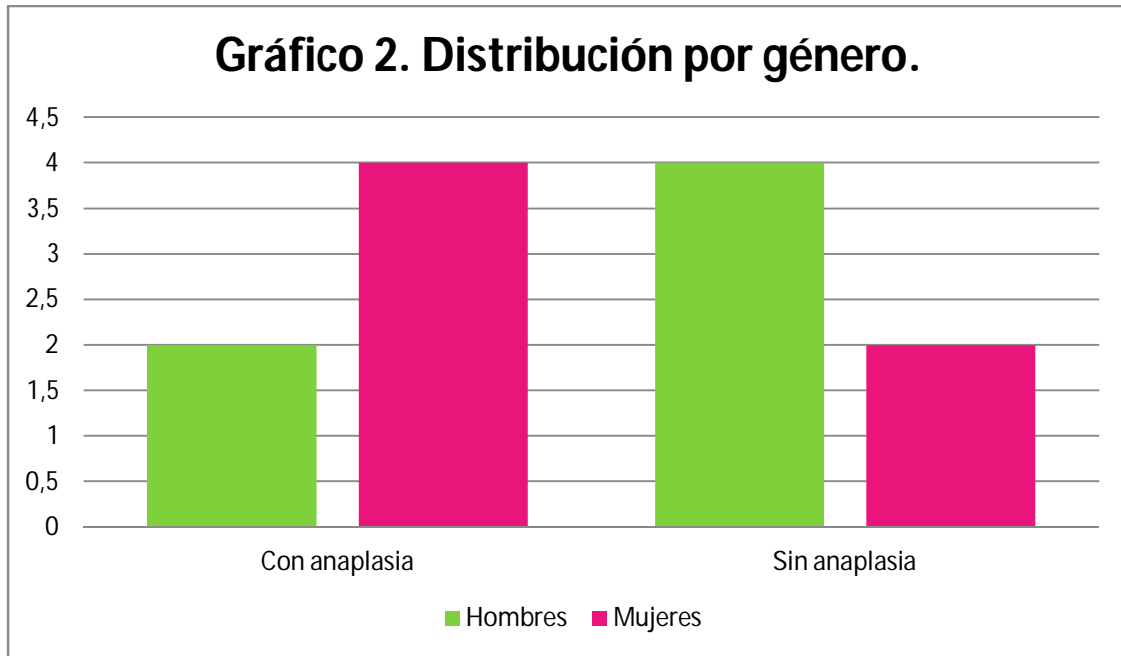
Gráfico 1. Distribución por edad en meses



Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

La mitad del total de los casos son pacientes femeninos y la otra mitad son masculinos, la distribución de hombres y mujeres es de 2:1 para los tumores con anaplasia e inverso para los tumores sin anaplasia (Gráfico 2).

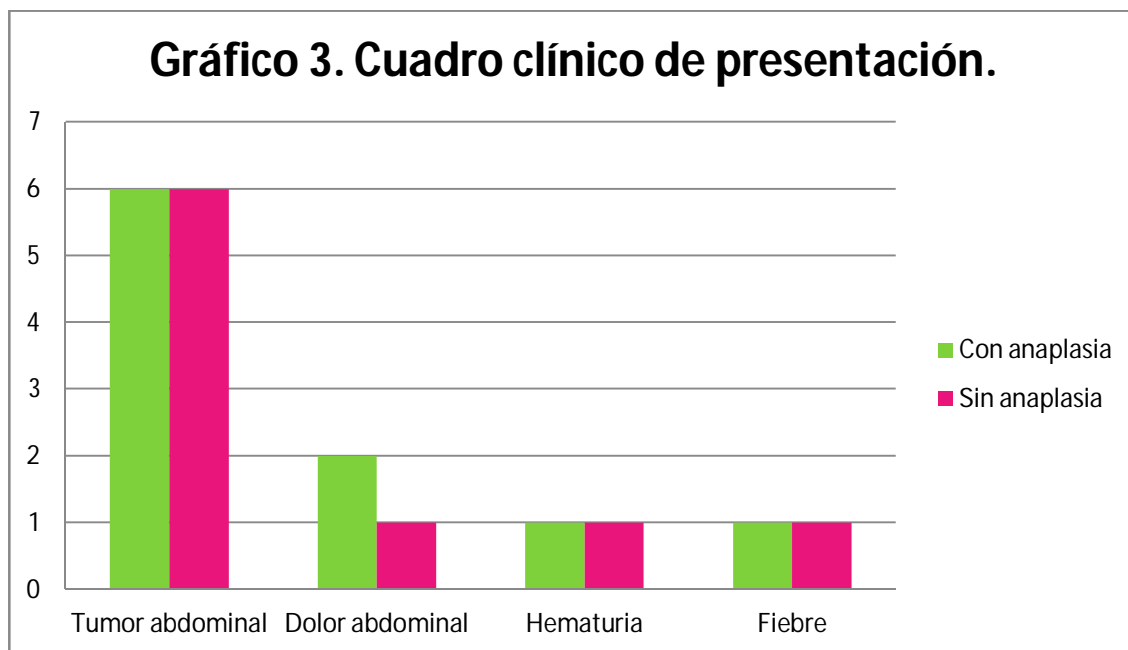
Gráfico 2. Distribución por género



Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

En cuanto a los datos clínicos, todos los pacientes se presentaron con presencia de tumor abdominal (100%), seguido por dolor (25%), tanto hematuria como fiebre se presentaron en el 16.6% de los pacientes, la distribución por tipo histológico se muestra en el gráfico 3.

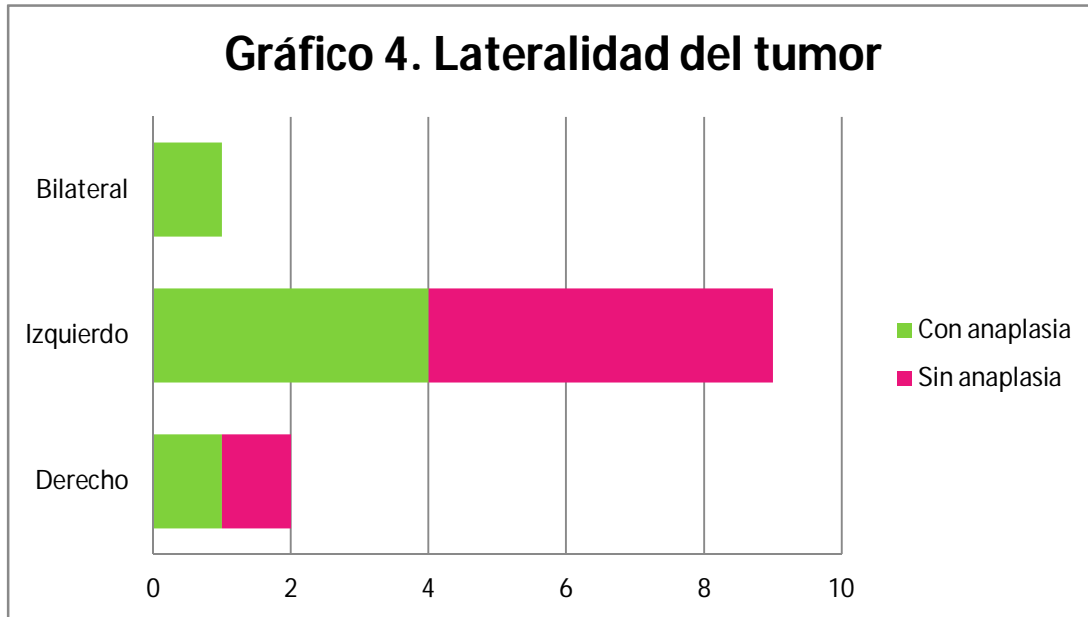
Gráfico 3. Cuadro clínico de presentación



Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

El 75% de los tumores se encontraron en el riñón izquierdo, el 16.6% en el riñón derecho y solo un caso (8.3%) fue bilateral, la distribución por tipo histológico se muestra en el gráfico 4.

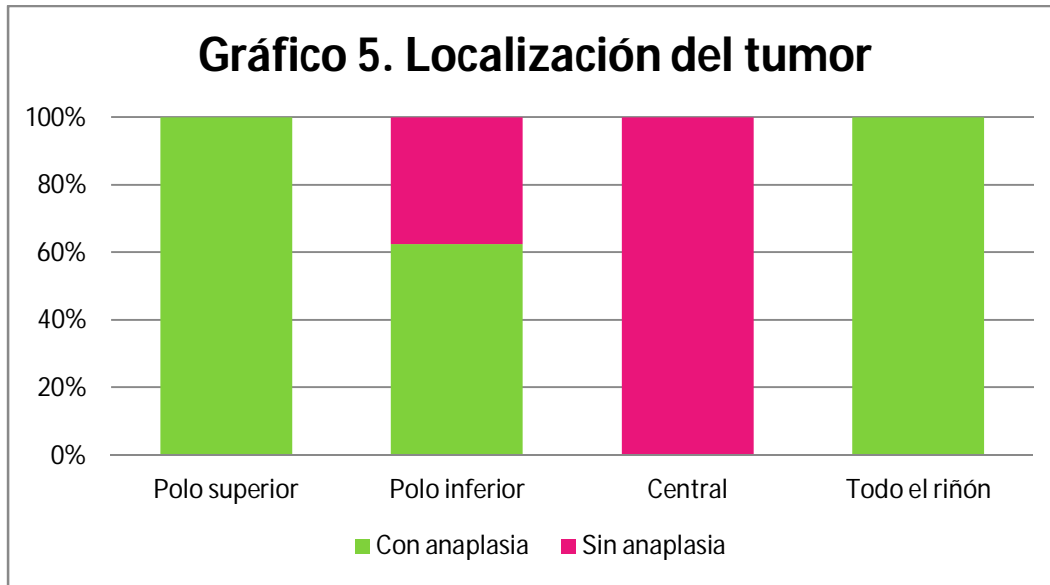
Gráfico 4. Lateralidad del tumor



Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

La localización del tumor más frecuente fue el polo inferior con 8 casos (66.6%), dos casos en el polo superior (16.6%), un caso en zona central (8.3%) y un caso abarcó ambos polos y región central (8.3%), la distribución por tipo histológico se muestra en el gráfico 5.

Gráfico 5. Localización del tumor



Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

En los pacientes con anaplasia el peso promedio del riñón fue de 880.8 g (± 646.6 g), el eje mayor midió en promedio 10.9 cm (± 4.9 cm), 4 casos presentaron infiltración al seno renal, invasión a la capsula e infiltración vascular, sólo un paciente tuvo tumor en límite quirúrgico, no hubo infiltración a ganglios linfáticos perirrenales y un paciente se presentó con metástasis pulmonares. En los pacientes sin anaplasia el peso promedio fue de 834.1 g (± 338.5 g), el eje mayor midió en promedio 13 cm (± 4.5 cm), 4 casos presentaron infiltración al seno renal, 5 con invasión a la capsula y 3 con infiltración vascular, ningún paciente tuvo tumor en límite quirúrgico, tres pacientes tuvieron infiltración a ganglios linfáticos perirrenales y dos pacientes se presentaron con implantes peritoneales.

En cuanto a la expresión de microRNA, se utilizaron dos placas para cada caso, las cuales contienen 750 microRNAs en total. Los casos de tumor de Wilms con anaplasia sobreexpresaron 58 microRNAs (véase anexo A) y los tumores sin anaplasia sobreexpresaron 184 microRNAs (véase anexo B) como muestra la figura 3.

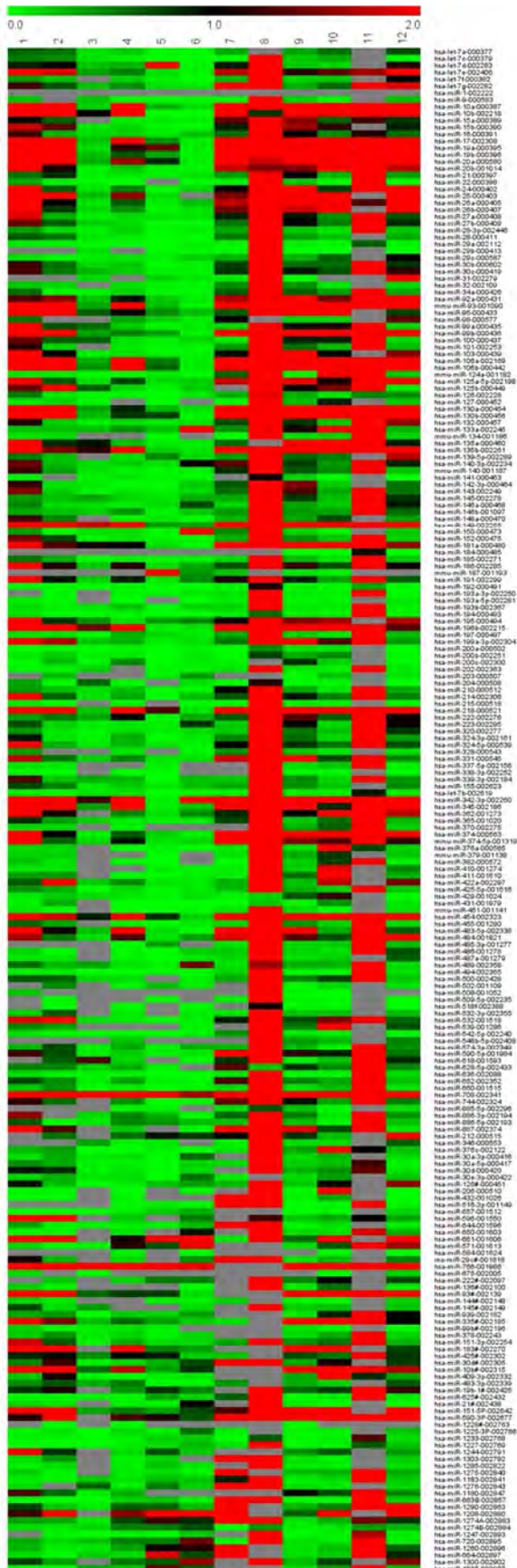


Figura 3. Mapa de calor mostrando datos de la cuantificación relativa ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) en los tumores de Wilms con anaplasia (6-12). La escala de color muestra en verde microRNAs con baja expresión, en negro microRNAs sin cambio en su expresión y en rojo microRNA con alta expresión.

Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental

La sobreexpresión de los microRNAs más prevalentes (mayor o igual al 50% de los casos) en tumores de Wilms con anaplasia fue comparada con la expresión en los tumores de Wilms sin anaplasia (tabla 1). Se observó que existen 15 microRNAs sobreexpresados más prevalentes en tumores con anaplasia, 11 (73.3%) sobreexpresados en el 50% de los casos, 2 (26.6%) sobreexpresados en el 66.6% de los casos y otros dos en el 83.3% de los casos. Así se observa que los mismos microRNA se encuentran sobreexpresados también en casi la totalidad de los casos de tumores de Wilms sin anaplasia (Gráfico 6 y 7) pero con diferencias en cuanto al número de veces que se encuentran expresados, viéndose una pérdida de la expresión importante en el grupo con anaplasia (Gráfico 8).

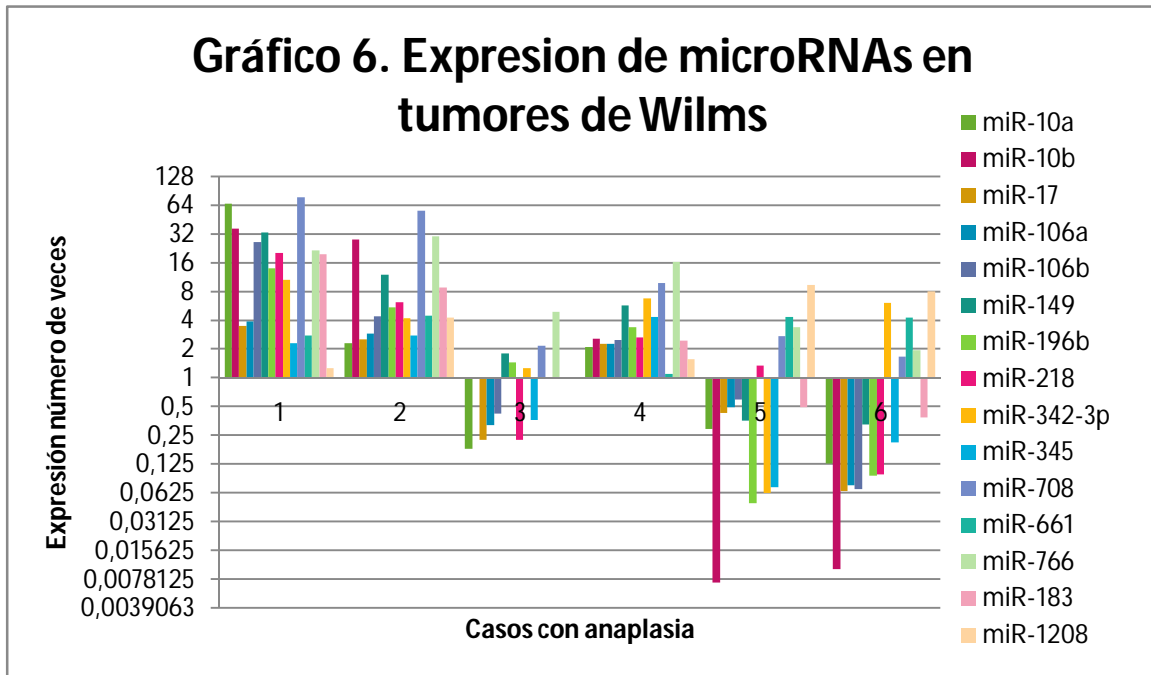
Tabla 1. Sobreexpresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia y su comparación con tumores de Wilms sin anaplasia. En rojo se observan los valores mayores de 2 (número de veces)(Datos de $2^{-\Delta\Delta Ct}$)

Target Name	Con anaplasia						Sin anaplasia					
	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
hsa-miR-10a-000387	66.9435953	2.29950141	0.18129103	2.11725029	0.29189494	0.12668329	18.5300439	12.5217969	21.2658462	10.0038091	50.6054324	6.07547001
hsa-miR-10b-002218	36.676211	28.2960039	1.00573718	2.58528481	0.00724123	0.00992036	16.9560588	0.79127858	13.7538526	6.13280257	261.048988	9.52972492
hsa-miR-17-002308	3.51023067	2.541736	0.2244611	2.28546103	0.43123399	0.06508119	4.86163704	5.56668642	6.01611072	3.9548912	136.189767	5.99579144
hsa-miR-106a-002169	3.89193208	2.92521652	0.32051155	2.26591511	0.49720917	0.07523535	5.34195609	5.36625392	6.55002755	3.84288057	168.701863	5.58228131
hsa-miR-106b-000442	26.4708998	4.45224171	0.42111547	2.48485649	0.59609401	0.06917501	5.00913985	21.9585504	20.6852245	5.94234383	161.292795	8.44734727
hsa-miR-149-002255	33.4947724	12.0305853	1.81320979	5.72414288	0.35894631	0.32822327	17.1890612	87.9611962	15.2961019	5.12562254	375.210749	13.4449288
hsa-miR-196b-002215	13.9683342	5.51691556	1.46305609	3.37724838	0.04859419	0.09551602	2.01861965	3.13521648	3.10621102	2.79667642	56.6531804	1.37774787
hsa-miR-218-000521	20.2440384	6.20940968	0.22556516	2.6436736	1.34295574	0.09741442	36.0943349	70.087434	13.3304463	4.9382464	300.963687	9.16242253
hsa-miR-342-3p-002260	10.7395127	4.24707087	1.27679528	6.77584175	0.06274829	6.14090272	3.18873592	32.3212851	14.4615184	4.57173742	37.2189368	8.23609185
hsa-miR-345-002186	2.30612012	2.78080292	0.36445807	4.35398019	0.0721361	0.21168729	4.02962718	8.90048351	4.05669235	0.8351006	373.040605	2.97651428
hsa-miR-708-002341	78.0626993	56.719455	2.17743222	9.87430268	2.72154242	1.67081782	41.2623224	137.958191	53.736859	43.0542457	1010.62174	10.8858262
hsa-miR-661-001606	2.79596762	4.480324	#VALOR!	1.10697975	4.33845435	4.28873042	0.07938969	74.5283667	0.58735464	4.28902266	#VALOR!	4.25124222
hsa-miR-766-001986	21.633107	30.4813847	4.95880978	16.485433	3.38130493	1.94346036	#VALOR!	#VALOR!	23.3799565	19.5008655	1217.48013	47.8803029
hsa-miR-183#-002270	19.6266282	8.87209067	#VALOR!	2.44717157	0.49729588	0.38830123	#VALOR!	#VALOR!	10.5325651	8.09297047	#VALOR!	0.72545079
hsa-miR-1208-002880	1.26041287	4.30645816	#VALOR!	1.5640959	9.43603313	8.04316264	18939251.4	#VALOR!	0.61921194	3.26848707	#VALOR!	10.3854791

Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

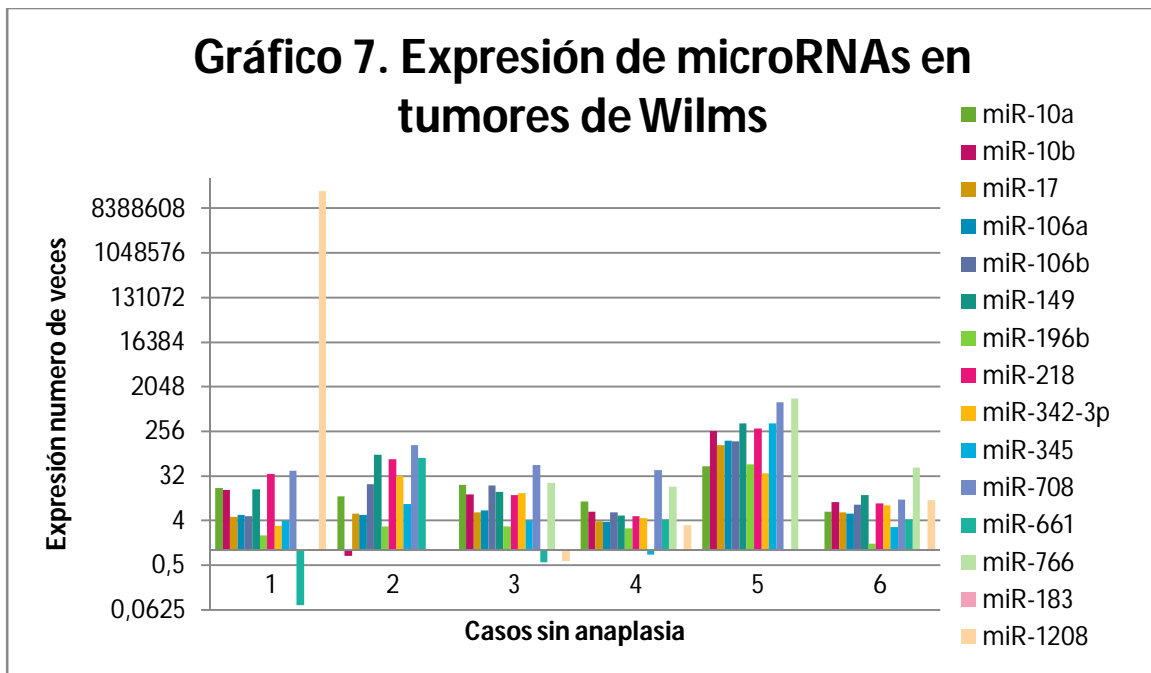
Los microRNAs que mostraron diferencias notables entre ambos grupos (con anaplasia y sin anaplasia), en cuanto a prevalencia y abundancia fueron: miR-10a, miR-10b, miR-17, miR-106a, miR-106b, miR-149, miR-196b, miR-218, miR-342-3p, miR-345, miR-708, miR-661, miR-766, miR-183 y miR-1208.

Gráfico 6. Sobreexpresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia.



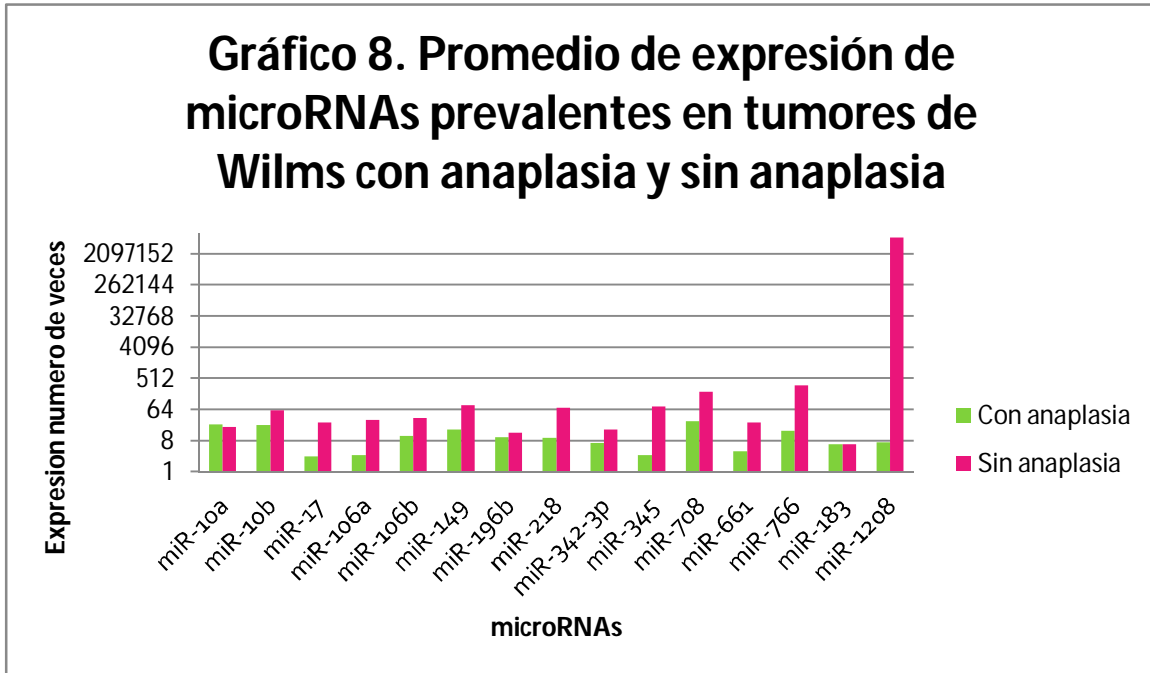
Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

Gráfico 7. Expresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia en tumores sin anaplasia.



Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

Gráfico 8. Promedio de expresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia y sin anaplasia.



Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

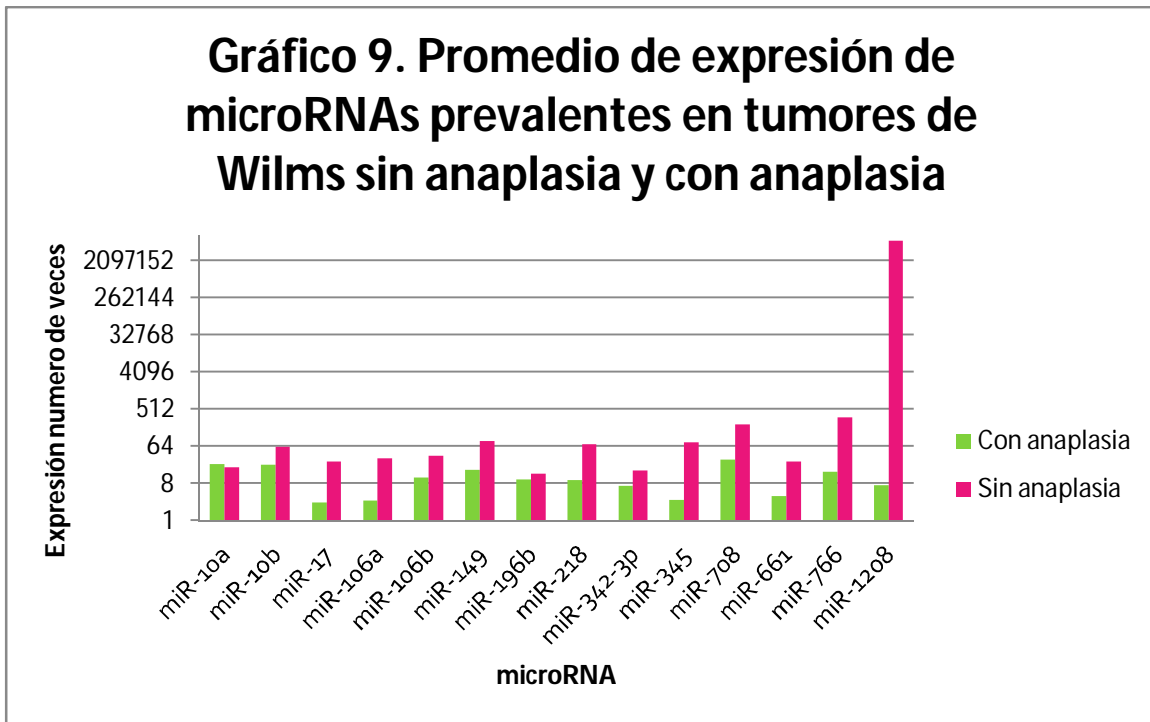
Por otro lado, la sobreexpresión de los microRNAs más prevalentes (mayor o igual al 50% de los casos) en tumores de Wilms sin anaplasia fue comparada con la expresión de los tumores de Wilms con anaplasia (tabla 2). Se observó que existen 49 microRNAs sobreexpresados más prevalentes en tumores sin anaplasia, 20 (40.8%) sobreexpresados en el 50% de los casos, 7 (14.2%) sobreexpresados en el 66.6% de los casos, 5 (10.2%) en el 83.3% de los casos y 17 (34.6%) en el 100% de los casos. Así se observa que 14 de los microRNA que se encuentran sobreexpresados en tumores de Wilms sin anaplasia se encuentran prevalentemente sobreexpresados también en tumores de Wilms sin anaplasia, sin embargo se observa aún la diferencia en el número de veces promedio que se expresan registrándose disminución de la expresión en tumores de Wilms con anaplasia (Gráfico 9).

Tabla 2. Sobreexpresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms sin anaplasia y su comparación con tumores de Wilms con anaplasia. En rojo se muestran valores mayores de 2 (número de veces, datos de $2^{-\Delta\Delta Ct}$).

Target Name	Con anaplasia						Sin anaplasia					
	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
hsa-let-7g-002282	1.25489494	0.66868592	0.23802917	0.43128401	0.10849625	0.06920303	2.39752312	11.390873	0.29888373	0.56683581	3.82083072	1.8896682
hsa-miR-10a-000387	66.9435953	2.29950141	0.18129103	2.11725029	0.29189494	0.12668329	18.5300439	12.5217969	21.2658462	10.0038091	50.6054324	6.07547001
hsa-miR-10b-002218	36.676211	28.2960039	1.00573718	2.58528481	0.00724123	0.00992036	16.9560588	0.79127858	13.7538526	6.13280257	261.048988	9.52972492
hsa-miR-17-002308	3.51023067	2.541736	0.2244611	2.28546103	0.43123399	0.06508119	4.86163704	5.56668642	6.01611072	3.9548912	136.189767	5.99579144
hsa-miR-19a-000395	24.7010661	6.85989854	0.12660092	1.18373849	1.43751082	0.05367947	25.6239667	47.8383599	14.2670383	17.4831896	104.582304	11.4283832
hsa-miR-19b-000396	7.83751471	3.90608536	0.23079845	0.66609417	0.3560369	0.039763	8.39461726	17.6346716	6.14707158	4.34858747	135.714478	3.57128302
hsa-miR-20a-000580	7.40255763	3.3503654	0.30312649	1.64297647	0.83093912	0.06216767	8.65490095	1.80974937	8.79011228	9.56978786	13.4750706	7.75290435
hsa-miR-24-000402	2.54491801	0.6207001	0.10657913	0.48488523	0.00299622	0.16159731	1.0789435	28.1976757	2.04822077	0.75356726	17.7045121	2.05358399
hsa-miR-25-000403	19.7534547	2.55919057	0.24530224	1.59133256	0.12195699	# VALOR!	1.47477636	46.4489753	13.4890867	3.6192398	# VALOR!	4.95628427
hsa-miR-26a-000405	5.90083293	1.03864609	0.09221351	0.62660451	0.06924058	0.24065332	1.782261	13.6424521	2.87793776	1.98438484	1.32002066	3.12516392
hsa-miR-26b-000407	3.81681777	0.75428472	0.14167533	0.41961414	0.04308689	0.11748251	1.46610536	9.53758112	1.82362215	2.40052091	# VALOR!	2.9682004
hsa-miR-92a-000431	1.32629747	1.56454778	0.21238825	0.89249378	0.19794423	0.07846869	1.71094701	6.21556685	2.34951179	1.50693661	22.5720642	2.18057746
hsa-miR-95-000433	3.49730441	2.21359509	0.62690607	1.02717864	0.45658172	0.26625262	0.63187031	8.6325156	2.90454488	2.05754812	# VALOR!	0.71639189
hsa-miR-99b-000436	4.18982655	5.09947566	0.35803492	0.47042966	0.35375847	0.05826083	2.87660893	10.9829337	3.31468952	2.18147476	18.4341821	3.36177514
hsa-miR-106a-002169	3.89193208	2.92521652	0.32051155	2.26591511	0.49720917	0.07523535	5.34195609	5.36625392	6.55002755	3.84288057	168.701863	5.58228131
hsa-miR-106b-000442	26.4708998	4.45224171	0.42111547	2.48485649	0.59609401	0.06917501	5.00913985	21.9585504	20.6852245	5.94234383	161.292795	8.44734727
hsa-miR-125a-5p-002198	2.85198648	0.64510617	0.12438161	0.71038885	0.13252331	0.168048	1.79813564	17.4566235	1.95458183	1.09335726	8.97105868	5.56027771
hsa-miR-130a-000454	14.1629892	2.32653211	0.35834683	0.85883493	0.28192667	0.11669721	5.26009326	52.0575447	8.69253263	6.25044507	28.0118571	4.95902837
hsa-miR-130b-000456	10.4445216	7.47746488	0.24743154	0.77318453	0.73386804	0.02223033	2.38352869	69.1812528	4.82727153	3.42457708	120.432229	3.17591354
hsa-miR-133a-002246	0.23201494	0.25048062	0.23797866	0.42193621	0.24365415	1.99403263	0.42316918	137.040186	1.12449137	32.6235473	4.44530535	0.29838369
hsa-miR-135a-000460	10.44885038	0.83376809	0.90215329	0.23795561	0.0589689	0.07175256	0.57250582	# VALOR!	2.14927235	2.7001589	34.9364423	0.88378226
hsa-miR-135b-002261	33.363048	1.48690238	1.18298769	3.51453279	0.1775245	0.09119713	3.58446141	6.63617172	15.3178263	29.7717735	105.18424	3.80043558
hsa-miR-149-002255	33.4947724	12.0305853	1.81320979	5.72414288	0.35894631	0.32822327	17.1890612	87.9611962	15.2961019	5.12562254	375.210749	13.4449288
hsa-miR-181a-000480	8.19505123	1.34774734	1.07174559	1.01715935	0.12598872	0.02810497	6.51433214	64.0810863	7.88763163	3.5999064	182.205868	1.6043687
hsa-miR-196b-002215	13.9683342	5.51691556	1.46305609	3.37724838	0.04859419	0.09551602	2.01861965	3.13521648	3.10621102	2.79667642	56.6531804	1.37774787
hsa-miR-199a-3p-002304	7.06234976	1.71622098	0.22583709	0.28669273	0.06543054	0.11718132	0.52149284	59.0142676	2.15446814	1.34532453	18.919904	0.38293285
hsa-miR-218-000521	20.2440384	6.20940968	0.22556516	2.6436736	1.34295574	0.09741442	36.0943349	70.087434	13.3304463	4.9382464	300.963687	9.16242253
hsa-miR-331-000545	1.75316034	0.5287307	0.15540734	0.46120908	0.11406012	0.10056697	1.82395812	20.1587825	2.37329459	0.70471259	41.5042649	0.46464398
hsa-miR-342-3p-002260	10.7395127	4.24707087	1.27679528	6.77584175	0.06274829	6.14090272	3.18873592	32.3212851	14.4615184	4.57173742	37.2189368	8.23609185
hsa-miR-345-002186	2.30612012	2.78080292	0.36445807	4.35398019	0.0721361	0.21168729	4.02962718	8.90048351	4.05669235	0.8351006	373.040605	2.97651428
hsa-miR-362-001273	3.30872612	1.131372	# VALOR!	0.46799847	0.11995094	0.45590215	0.83112185	42.9683685	1.01819341	3.15506814	45.8523132	1.76543031
hsa-miR-374-000563	2.55667478	0.98772088	0.04817953	0.63237349	0.17329836	0.05316106	3.52723937	42.4970387	2.22667872	2.02760398	11.7271214	2.3224633
hsa-miR-454-002323	6.04085364	1.85822371	0.88213365	3.37717175	0.81468798	0.17124925	10.0772289	3.81180096	3.94774914	3.27592538	3.73604945	5.54367965
hsa-miR-483-5p-002338	3.44551109	1.09203015	0.25472617	2.09360585	0.13039295	0.0188207	3.42359094	32.0183401	4.46916633	0.32643807	886.533355	0.6263202
hsa-miR-484-001821	1.65258038	0.52080061	0.12043916	1.33249366	0.09740905	0.36147165	1.88083421	15.8520949	1.36874017	0.69281962	53.4467067	7.77730671
hsa-miR-590-5p-001984	1.27531396	0.69606661	0.06427944	0.18315928	0.04539245	0.08408162	2.07933792	21.7250527	1.19933038	0.8777188	5.83799475	0.5402365
hsa-miR-708-002341	78.0626993	56.719455	2.17743222	9.87430268	2.72154242	1.67081782	41.2623224	137.958191	53.736859	43.0542457	1010.62174	10.8858262
hsa-miR-887-002374	2.66554949	1.33981583	# VALOR!	0.21559725	# VALOR!	0.02237854	5.59758178	19.8518013	1.89264351	0.70583336	559.41976	0.10047577
hsa-miR-516-3p-001149	# VALOR!	# VALOR!	# VALOR!	0.01585532	0.07217343	0.02140693	472148.988	2146.78026	0.00727137	0.02002682	3.62206108	0.05004956
hsa-miR-199a-001606	2.79596762	4.480324	# VALOR!	1.10697975	4.33845435	4.28873042	0.07938969	74.5283667	0.58735464	4.28902266	# VALOR!	4.25124222
hsa-miR-766-001986	21.633107	30.4813847	4.95880978	16.485433	3.38130493	1.94346036	# VALOR!	# VALOR!	23.3799565	19.5008655	1217.48013	47.8803029
hsa-miR-93f-002139	4.60574829	2.28908688	0.58770958	0.76358426	0.74541849	0.13043554	# VALOR!	# VALOR!	6.33484005	2.53431793	63.3125598	5.06347689
hsa-miR-335f-002185	4.38598299	1.50107309	0.26143394	0.58554446	0.37010199	0.1821005	0.10989557	# VALOR!	3.08309944	2.11264916	21.7211979	1.00845368
hsa-miR-10b#-002315	4.94331162	3.80567489	0.56451816	1.78510566	0.37489186	0.7767878	# VALOR!	# VALOR!	2.92630864	2.46167895	12.5137567	1.71149678
hsa-miR-151-5p-002642	6.64105592	2.71989205	0.33150899	0.51105007	0.3717408	0.71408597	1.31146025	90.0353695	2.54417458	3.34411378	# VALOR!	2.13161674
hsa-miR-590-3p-002677	1.15926994	3.73998267	# VALOR!	1.29689139	1.13129787	0.67109333	26.7214269	236.704542	5.82722746	7.63940003	47.2226838	3.22690639
hsa-miR-663b-002857	0.03510499	0.0075627	0.01806606	0.18806667	0.21946486	0.05197904	38.9006674	4.93010562	0.0169332	0.03515272	2.42697762	0.18077766
hsa-miR-1290-002863	0.73327342	0.22102454	0.07284174	0.62839215	0.59356297	0.25718428	65191394	# VALOR!	0.30692227	0.48219674	151.287896	2.98747472
hsa-miR-1208-002880	1.26041287	4.30645816	# VALOR!	1.5640959	9.43603313	8.04316264	18939251.4	# VALOR!	0.61921194	3.26848707	# VALOR!	10.3854791

Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

Gráfico 9. Promedio de expresión de microRNAs prevalentes en tumores de Wilms sin anaplasia y con anaplasia.



Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

Se han encontrado microRNAs específicos para tumor de Wilms los cuales se encuentran expresados como muestra la tabla 3. Lo que se observa es que estos microRNAs se encuentran expresados en menor cantidad de veces e incluso subexpresados en los casos de tumor de Wilms con anaplasia. Es el caso del miR-10a, miembro de una familia compleja que se encuentra en estudio y que se ha observado sobreexpresado en el carcinoma renal de células claras, en el caso del tumor de Wilms se observa en promedio con la misma sobreexpresión tanto en tumores con anaplasia como sin anaplasia. El miR-181a, un microRNA sobreexpresado en carcinoma renal de células claras se encuentra sobreexpresado en el tumor de Wilms sin anaplasia y subexpresado en el que si presenta anaplasia.

Tabla 3. microRNAs específicos estudiados en tumor de Wilms

	Con anaplasia					
Target Name	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
hsa-miR-18a-002422	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!
hsa-miR-19b-000396	7.83757471	3.90608536	0.23079845	0.66609417	0.3560369	0.039763
hsa-miR-20a-000580	7.40255763	3.3503654	0.30312649	1.64297647	0.83093912	0.06216767
hsa-miR-27a-000408	1.87805244	0.30132822	0.05699884	0.11916997	0.10908769	0.11360583
hsa-miR-141-000463	0.05682898	#¡VALOR!	0.05278225	0.08715978	0.03231337	0.02421058
hsa-miR-192-000491	0.04039443	0.02974112	0.00652826	0.0400683	0.00178963	0.02206459
hsa-miR-193a-5p-002281	0.07785669	0.02811248	#¡VALOR!	0.00227944	#¡VALOR!	0.01010916
hsa-miR-194-000493	0.0983017	0.0247405	0.01713269	0.03543097	0.00480949	0.01396382
hsa-miR-200c-002300	0.0262495	0.24894004	0.03269503	0.45156546	0.01024839	0.07261673
hsa-miR-215-000518	0.07984858	0.02438876	#¡VALOR!	0.03855116	#¡VALOR!	0.03288988
hsa-miR-367-000555	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!
hsa-miR-590-5p-001984	1.27531396	0.69606661	0.06427944	0.18315928	0.04539245	0.08408162
hsa-miR-628-5p-002433	0.48571817	0.47483383	0.1619329	0.31442026	0.05172976	#¡VALOR!
	Sin anaplasia					
Target Name	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
hsa-miR-18a-002422	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!
hsa-miR-19b-000396	8.39461726	17.6346716	6.14707158	4.34858747	135.714478	3.57128302
hsa-miR-20a-000580	8.65490095	1.80974937	8.79011228	9.56978786	13.4750706	7.75290435
hsa-miR-27a-000408	0.86086038	62.4669794	0.92279312	0.42265721	16.715548	0.68299709
hsa-miR-141-000463	#¡VALOR!	1.06943601	0.1693724	0.02405673	#¡VALOR!	0.00546521
hsa-miR-192-000491	0.04272471	1.12557338	0.04443372	0.03298334	0.33357752	0.02622976
hsa-miR-193a-5p-002281	0.07517925	8.59235822	0.03488263	0.04328415	#¡VALOR!	0.09341952
hsa-miR-194-000493	0.07338336	0.5709321	0.06856984	0.04331879	5.54520628	0.05180202
hsa-miR-200c-002300	0.02789167	#¡VALOR!	0.79908543	0.17047864	#¡VALOR!	0.02199446
hsa-miR-215-000518	0.01847587	3.66070115	0.07185301	0.05813459	#¡VALOR!	0.03671907
hsa-miR-367-000555	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!	#¡VALOR!
hsa-miR-590-5p-001984	2.07933792	21.7250527	1.19933038	0.8777188	5.83799475	0.5402365
hsa-miR-628-5p-002433	1.35316877	0.22580841	0.79116809	0.44374884	29.1989076	0.46686194

Fuente: Hospital infantil de México Federico Gómez. Departamento de patología clínica y experimental.

14. DISCUSION

Según la literatura revisada la edad de presentación oscila entre los 1-4 años de edad₁, los resultados obtenidos muestran una edad promedio de 52.66 meses (\pm 24.93).

Según la literatura hay una ligera prevalencia en mujeres₁, en nuestros casos la mitad de los pacientes son hombres y la mitad mujeres.

Las principales características clínicas encontradas son masa abdominal (75%), dolor abdominal (25%), hematuria microscópica (24%), fiebre (22%) y hematuria macroscópica (18%)₆, en nuestros casos se encontraron porcentajes muy cercanos, todos los pacientes

se presentaron con tumor abdominal (100%), seguido por dolor (25%), tanto hematuria como fiebre se presentaron en el 16.6% de los pacientes.

Según lo reportado, solo el 5% de los tumores de Wilms se presentan bilateralmente⁶, en nuestro caso el 75% de los tumores se encontraron en el riñón izquierdo, el 16.6% en el riñón derecho y solo un caso (8.3%) fue bilateral.

La localización del tumor más frecuente fue el polo inferior con 8 casos (66.6%), dos casos en el polo superior (16.6%), un caso en zona central (8.3%) y un caso abarcó ambos polos y región central (8.3%), la literatura marca que el 10% son multicéntricos⁷.

En cuanto a las características del tumor en pacientes con anaplasia comparados con los pacientes sin anaplasia, hubo un peso promedio mayor (880.8 g), un paciente tuvo tumor presente en límite quirúrgico y uno se presentó con metástasis pulmonares, el resto de las características como longitud mayor, infiltración al seno renal, la capsula renal e infiltración vascular no tuvieron cambios significativos.

Los microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia que se encontraron fueron: miR 10a, miR10b, miR17, miR106a, miR-149, miR-196b, miR-218, miR-342-3p, miR345, miR-708, miR-661, miR-766, miR-183 y miR-1208-.

Según la literatura, se han encontrado microRNAs asociados a tumor de Wilms, los cuales se pueden encontrar sobreexpresados o subexpresados. En la comparación con los resultados obtenidos en nuestro estudio se encuentra que los microRNAs estudiados específicamente para tumores de Wilms se encuentran expresados en menor número de veces e incluso sub-expresados en pacientes con anaplasia confirmándose un patrón de expresión de microRNAs diferentes en este tipo histológico.

Dos microRNAs no estudiados en el tumor de Wilms pero que se sobreexpresan en el carcinoma renal de células claras tienen un comportamiento importante en este trabajo. El caso es del miR-10a, miembro de una familia importante sobreexpresada en diversos tipos de cáncer, en este caso se observa igualmente sobreexpresado en tumores con anaplasia y sin anaplasia. El miR-181a se encuentra sobreexpresado en tumores de Wilms sin anaplasia y subexpresado aquellos que si muestran anaplasia. Ambos microRNAs son buenos candidatos para estudio más a fondo en el Tumor de Wilms.

15. CONCLUSION

Los datos de edad, sexo, lateralidad, localización y cuadro clínico encontrados en nuestro estudio concuerdan mayoritariamente con lo reportado en la literatura.

Algunas características propias del tumor que le confieren mayor riesgo al paciente fueron encontrados con mayor frecuencia en tumores con anaplasia comparados con los que no la presentan.

El estudio de los microRNAs asociados a tumor de Wilms han mostrado una menor sobreexpresión e incluso subexpresión en pacientes con anaplasia en comparación a los que no la tienen.

En este trabajo nos enfocamos principalmente en los microRNAs con expresión alta, sin embargo los que disminuyen su expresión son también relevantes.

Se encontraron 15 microRNAs prevalentes en tumores de Wilms con anaplasia: miR 10a-00387, miR10b-002218, miR17-002308, miR106a-000442, miR-149-002255, miR-196b-002215, miR-218-000521, miR-342-3p-002260, miR345-002186, miR-708-002341, miR-661-001606, miR-766-001986, miR-183-002270 y miR-1208-002880.

16. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Que no se localicen bloques de parafina y laminillas teñidas con hematoxilina-eosina.
- Que el material presente 90% o más de necrosis
- Muestras con material genético insuficiente
- Expediente clínico no localizable

17. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Cronograma de actividades del protocolo de investigación

	Semestre			
	1	2	3	4
Obtención de insumos	x			
Inclusión de pacientes	x			
Estandarización de la técnica	x			
Arreglos de baja densidad	x			

Análisis de los arreglos y selección de microRNAs relevantes	x
Presentación de resultados	x
Elaboración de manuscrito	x
Publicación	x

18. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hohenstein P., Pritchard-Jones K., The yin and yang of kidney development and Wilms Tumors. *GENES & DEVELOPMENT* (2014) 29:467–482.
2. Stocker T. Dehner L. *Pediatric Pathology*. Philadelphia. 2016. 4 edición. Lippincott Williams and Wilkins. 815-820.
3. Cherñawsky D, Sequeira M., Gómez A. Bases moleculares del desarrollo renal. *Arch.Latin.Nefr.Ped. Virginia USA*, 2002; 2(1):13-29.
4. Hohenstein P., Hastie N., LINKng microRNAs kidney development, and Wilms tumors. *GENES & DEVELOPMENT* (2015) 28:923-925.
5. Sharma R. Pax genes in renal development, disease and regeneration. *Sem Cell & Develop Biol.* (2015),4-37. doi 10.1016/j.semcdb.2015.09.016.
6. Kumar V., Abbas A., Aster J., Robbins y Cotran *Patología Estructural y Funcional*. 9ª edición.: Ed. Elsevier, España 2015.
7. Rosai J., Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology*. 11th ed.: Ed. Mosby Elsevier, USA, 2011.
8. Junghanns A., Wittig A. -Woehlecke C. Wilms tumor gene single nucleotide polymorphism rs16754 predicts a favorable outcome in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015.:1-8.
9. Haber D., Buckler A., Glaser T., et al., An internal deletion within an 11p13 zinc finger gene contributes to the development of Wilms' tumor, *Cell* 61 (1990) 1257–1269.
10. Wodarz A., Nusse R., Mechanisms of Wnt signaling in development, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 14 (1998) 59–88.
11. Miller R., McCrea P., Wnt to build a tube: contributions of Wnt signaling to epithelial tubulogenesis, *Dev. Dyn.* 239 (2010) 77–93.
12. Koesters R., Ridder R., Kopp-Schneider A., et al., Mutational activation of the betacatenin proto-oncogene is a common event in the development of Wilms' tumors, *Cancer Res.* 59 (1999) 3880–3882
13. Huff V., Wilms tumor genetics, *Am. J. Med. Genet.* 79 (1998) 260–267.

14. Baylin B., Jones P., A decade of exploring the cancer epigenome — biological and translational implications, *Nat. Rev. Cancer* 11 (2011) 726–734.
15. Tian F., Yourek G., Shi X., Yang Y. The development of Wilms tumor: From WT1 and microRNA to animal models. *Biochimica et Biophysica Acta* 1846 (2014) 180–187.
16. Murray MJ., >Raby KL., Saini HK., et al. Solid tumors of childhood display specific serum microRNA profiles. *Cancer epidemiol Biomarkers Prev.* (2015) 24(2): 350-360. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0669.
17. Watson JA, Bryan K., Williams R., Popov S., et al. miRNA profiles as a predictor of chemoresponsiveness in Wilms' Tumor Blastema. *PLoS ONE* 8(1):e53417. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0669.
18. Lei Z, Ma X, Li H, y col. La regulación al alza de miR-181a en el carcinoma de células renales de células claras se asocia con una menor expresión de KLF6, una proliferación celular potenciada, una transición acelerada del ciclo celular y una apoptosis disminuida. *Urol Oncol* . 2017 Oct 20. doi: 10.1016 / j.urolonc.2017.09.019
19. Tehler D, Høyland-Kroghsbo NM, Lund AH. The miR-10 microRNA precursor family. *RNA Biology.* 2011;8(5):728-734. doi:10.4161/rna.8.5.16324.
20. Schmittgen T., Livak K., Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. *Nature protocols.* (2008) 3.6:1101-1108.

19. ANEXOS

Anexo A. Amplificación de microRNAs en Tumores de Wilms con anaplasia.

Target Name	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
	0.866990	0.991387	0.229668	0.296225	2.677153	
hsa-let-7d-002283	93	94	38	07	71	0.036854
	2.149261	1.894250	0.351459	0.496894	0.109223	0.045261
hsa-let-7e-002406	39	55	54	89	68	28
hsa-miR-10a-000387	66.94359	2.299501	0.181291	2.117250	0.291894	0.126683
	53	41	03	29	94	29

hsa-miR-10b-002218	36.67621 1	28.29600 39	1.005737 18	2.585284 81	0.007241 23	0.009920 36
	3.510230		0.224461	2.285461	0.431233	0.065081
hsa-miR-17-002308	67	2.541736	1	03	99	19
hsa-miR-19a-000395	24.70106 81	6.859898 54	0.126600 92	1.183738 49	1.437510 82	0.053679 47
hsa-miR-19b-000396	7.837574 71	3.906085 36	0.230798 45	0.666094 17	0.356036 9	0.039763
hsa-miR-20a-000580	7.402557 63	3.350365 4	0.303126 49	1.642976 47	0.830939 12	0.062167 67
hsa-miR-20b-001014	3.341990 97	1.124336 98	0.052470 27	0.221389 8	0.066459 14	0.034559 27
	2.544918	0.620700	0.106579	0.484885	0.002996	0.161597
hsa-miR-24-000402	01	1	13	23	22	31
	19.75345	2.559190	0.245302	1.591332	0.121956	#jVALOR
hsa-miR-25-000403	47	57	24	56	99	!
hsa-miR-26a-000405	5.900832 93	1.038646 09	0.092213 51	0.626604 51	0.069240 58	0.240653 32
hsa-miR-26b-000407	3.816817 77	0.754284 72	0.141675 33	0.419614 14	0.043086 89	0.117482 51
	3.497304	2.213595	0.626906	1.027178	0.456581	0.266252
hsa-miR-95-000433	41	09	07	64	72	62
hsa-miR-99a-000435	2.524019 48	0.661338 57	0.569152 07	0.185068 06	0.020243 61	0.083731 17
hsa-miR-99b-000436	4.189826 55	5.099475 66	0.358034 92	0.470429 66	0.353758 47	0.058260 83
hsa-miR-103-000439	2.820343 79	0.984706 39	0.053592 15	0.117782 99	0.031425	0.039142 75
hsa-miR-106a-002169	3.891932 08	2.925216 52	0.320511 55	2.265915 11	0.497209 17	0.075235 35
hsa-miR-106b-000442	26.47089 98	4.452241 71	0.421115 47	2.484856 49	0.596094 01	0.069175 01
hsa-miR-125a-5p-002198	2.851986 48	0.645106 17	0.124381 61	0.710388 85	0.132523 31	0.168048

hsa-miR-125b-000449	1.453978 37	2.035585 07	0.619878 31	0.144100 08	0.034197 48	0.191134 57
hsa-miR-130a-000454	14.16298 92	2.326532 11	0.358346 83	0.858834 93	0.281926 67	0.116697 21
hsa-miR-130b-000456	10.44452 16	7.477464 88	0.247431 54	0.773184 53	0.733868 04	0.022230 33
hsa-miR-135a-000460	10.44850 38	0.833768 09	0.902153 29	0.237955 61	0.058968 9	0.071752 56
hsa-miR-135b-002261	33.36304 8	1.486902 38	1.182987 69	3.514532 79	0.177524 5	0.091197 13
hsa-miR-149-002255	33.49477 24	12.03058 53	1.813209 79	5.724142 88	0.358946 31	0.328223 27
hsa-miR-181a-000480	8.195051 23	1.347747 34	1.071745 59	1.017159 35	0.125988 72	0.028104 97
hsa-miR-186-002285	2.020011 81	1.149533 36	0.211645 87	1.188687 12	0.129036 37	0.327806 52
mmu-miR-187-001193	#jVALOR !	#jVALOR !	#jVALOR !	#jVALOR !	2.072337 43	0.403071 45
hsa-miR-191-002299	2.070721 92	0.916710 38	0.190826 66	0.873997 07	0.103082 2	0.458015 91
hsa-miR-195-000494	2.486904 67	0.782149 79	0.427465 61	0.104994 97	0.369794 84	0.458379 98
hsa-miR-196b-002215	13.96833 42	5.516915 56	1.463056 09	3.377248 38	0.048594 19	0.095516 02
hsa-miR-199a-3p-002304	7.062349 76	1.716220 98	0.225837 09	0.286692 73	0.065430 54	0.117181 32
hsa-miR-214-002306	3.321119 3	0.610163 64	0.093425 37	0.334423 11	0.007967 04	0.253708 09
hsa-miR-218-000521	20.24403 84	6.209409 68	0.225565 16	2.643673 6	1.342955 74	0.097414 42
hsa-miR-324-5p-000539	2.136825 3	0.309678 9	0.083019 23	0.260182 8	0.100468 44	0.040535 74
hsa-miR-342-3p-002260	10.73951 27	4.247070 87	1.276795 28	6.775841 75	0.062748 29	6.140902 72

hsa-miR-345-002186	2.306120 12	2.780802 92	0.364458 07	4.353980 19	0.072136 1	0.211687 29
hsa-miR-362-001273	3.308726 12	1.131372	#!	0.467998 47	0.119950 94	0.455902 15
hsa-miR-374-000563	2.555674 78	0.987720 88	0.048179 53	0.632373 49	0.173298 36	0.053161 06
hsa-miR-422a-002297	0.647103 28	2.040522 65	0.199916 02	0.443636 56	0.094296 4	0.091148 62
hsa-miR-454-002323	6.040853 64	1.858223 71	0.882133 65	3.377171 75	0.814687 98	0.171249 25
hsa-miR-483-5p-002338	3.445511 09	1.092030 15	0.254726 17	2.093605 85	0.130392 95	0.018820 7
hsa-miR-532-001518	1.871435 96	2.109934 87	0.114872 38	0.077326 89	0.012393 03	0.069287 11
hsa-miR-708-002341	78.06269 93	56.71945 5	2.177432 22	9.874302 68	2.721542 42	1.670817 82
hsa-miR-887-002374	2.665549 49	1.339815 83	#!	0.215597 25	#!	0.022378 54
hsa-miR-596-001550	4.333027 81	2.185312 41	#!	0.216984 88	#!	0.511798 47
hsa-miR-661-001606	2.795967 62	4.480324	#!	1.106979 75	4.338454 35	4.288730 42
hsa-miR-766-001986	21.63310 7	30.48138 47	4.958809 78	16.48543 3	3.381304 93	1.943460 36
hsa-miR-93#-002139	4.605748 29	2.289086 88	0.587709 58	0.763584 26	0.745418 49	0.130435 54
hsa-miR-335#-002185	4.385982 99	1.501073 09	0.261433 94	0.585544 46	0.370101 99	0.182100 5
hsa-miR-183#-002270	19.62662 82	8.872090 67	#!	2.447171 57	0.497295 88	0.388301 23
hsa-miR-10b#-002315	4.943311 62	3.805674 89	0.564518 16	1.785105 66	0.374891 86	0.776787 8
hsa-miR-151-5P-002642	6.641055 92	2.719892 05	0.331508 99	0.511050 07	0.371740 8	0.714085 97

hsa-miR-590-3P-002677	1.159269 94	3.739982 67	#jVALOR !	1.296891 39	1.131297 87	0.671093 33
hsa-miR-1244-002791	2.010492 63	0.794231 97	#jVALOR !	0.139432 71	0.662346 08	0.201660 78
hsa-miR-1208-002880	1.260412 87	4.306458 16	#jVALOR !	1.564095 9	9.436033 13	8.043162 64

Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Laboratorio de patología clínica y experimental

Anexo B. Amplificación de microRNAs en Tumores de Wilms sin anaplasia.

Target Name	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
hsa-let-7c-000379	0.030686 68	5.531976 97	0.206119 38	0.327550 4	#jVALOR !	0.033389 39
hsa-let-7d-002283	0.891167 42	13.88152 6	0.212003 43	0.158364 95	#jVALOR !	1.166639 53
hsa-let-7e-002406	1.761475 11	14.17859 82	1.191941 86	1.400689 59	1.665077 67	2.285390 7
hsa-let-7f-000382	0.277663 97	2.132582 97	0.170848 78	0.220963 05	#jVALOR !	0.996051 84
hsa-let-7g-002282	2.397523 12	11.39087 3	0.298883 73	0.566835 81	3.820830 72	1.889668 2
hsa-miR-9-000583	0.029700 08	2.071315 58	0.163221 08	0.029894 95	#jVALOR !	0.236613 59
hsa-miR-10a-000387	18.53004 39	12.52179 69	21.26584 62	10.00380 91	50.60543 24	6.075470 01
hsa-miR-10b-002218	16.95605 88	0.791278 58	13.75385 26	6.132802 57	261.0489 88	9.529724 92
hsa-miR-15a-000389	1.395723 5	26.85512 85	1.583947 11	0.615001 06	1.276407 56	0.791185 51
hsa-miR-15b-000390	0.860613 44	2.202846 23	1.606596 7	1.199358 94	#jVALOR !	0.86903 0.86903
hsa-miR-16-000391	0.561136 62	4.536552 06	1.001614 79	0.434452 3	1.146947 36	0.566078 54
hsa-miR-17-002308	4.861637 04	5.566686 42	6.016110 72	3.954891 2	136.1897 67	5.995791 44

hsa-miR-19a-000395	25.62396 67	47.83835 99	14.26703 83	17.48318 96	104.5823 04	11.42838 32
hsa-miR-19b-000396	8.394617 26	17.63467 16	6.147071 58	4.348587 47	135.7144 78	3.571283 02
hsa-miR-20a-000580	8.654900 95	1.809749 37	8.790112 28	9.569787 86	13.47507 06	7.752904 35
hsa-miR-20b-001014	1.782339 55	1.507567 86	1.508771 6	2.530090 12	20.24754 05	1.754423 65
hsa-miR-21-000397	0.361695 75	184.8728 1	1.039402 56	0.269622 8	14.93398 67	0.358478 22
hsa-miR-22-000398	0.045539 07	97.99046 31	0.215472 56	0.030633 29	20.93646 46	0.008409 8
hsa-miR-24-000402	1.078943 5	28.19767 57	2.048220 77	0.753567 26	17.70451 21	2.053583 99
hsa-miR-25-000403	1.474776 36	46.44897 53	13.48908 67	3.619239 8	#jVALOR !	4.956284 27
hsa-miR-26a-000405	1.782261	13.64245 21	2.877937 76	1.984384 84	1.320020 66	3.125163 92
hsa-miR-26b-000407	1.466105 36	9.537581 12	1.823622 15	2.400520 91	#jVALOR !	2.968200 4
hsa-miR-27a-000408	0.860860 38	62.46697 94	0.922793 12	0.422657 21	16.71554 8	0.682997 09
hsa-miR-27b-000409	0.527553 83	21.73917 42	0.986943 37	0.482166 21	9.450218 44	0.822189 47
hsa-miR-28-3p-002446	0.334992 65	39.88296 6	0.214953 96	0.103574 35	8.295097 52	0.208629 41
hsa-miR-28-000411	0.511111 91	8.434509 74	0.360370 25	0.236288 96	#jVALOR !	0.316092 59
hsa-miR-29a-002112	0.029769 93	72.02149 16	0.057829 79	0.029417 61	0.600403 6	0.035745 96
hsa-miR-29b-000413	0.037276 79	32.26682 04	0.012716 85	0.005593 91	#jVALOR !	0.001831 31
hsa-miR-29c-000587	0.307522 41	269.3878 74	0.296972 75	0.602247 61	#jVALOR !	1.028242 82

hsa-miR-30b-000602	0.725834 69	5.640201 51	0.575331 95	0.578519 82	5.147346 1	0.795998 12
hsa-miR-30c-000419	0.792977 97	7.153966 21	0.924470 51	0.673188 94	4.676489 19	1.235911 85
hsa-miR-31-002279	0.071950 02	3.586561 94	0.024549 08	#jVALOR !	#jVALOR !	5.285401 16
hsa-miR-32-002109	0.431430 05	5.329373 54	0.420266 53	0.093320 99	#jVALOR !	0.145340 09
hsa-miR-34a-000426	0.626594 9	348.3412 83	0.611675 51	0.379040 78	22.26880 7	0.330195 01
hsa-miR-92a-000431	1.710947 01	6.215566 85	2.349511 79	1.506936 61	22.57206 42	2.180577 46
hsa-miR-95-000433	0.631870 31	8.632515 6	2.904544 88	2.057548 12	#jVALOR !	0.716391 89
hsa-miR-99a-000435	0.166132 07	59.43902 79	0.934690 14	1.136138 83	18.09790 8	0.159778 15
hsa-miR-99b-000436	2.876608 93	10.98293 37	3.314689 52	2.181474 76	18.43418 21	3.361775 14
hsa-miR-100-000437	0.062672 14	36.70917 32	0.858814 19	0.858985 1	9.852367 79	0.149250 08
hsa-miR-101-002253	0.393068 47	61.27756 68	0.564492 42	0.268499 68	7.661448 17	0.262791 61
hsa-miR-103-000439	0.939532 29	6.701795 3	2.225314 18	0.968286 38	#jVALOR !	1.511576 75
hsa-miR-106a-002169	5.341956 09	5.366253 92	6.550027 55	3.842880 57	168.7018 63	5.582281 31
hsa-miR-106b-000442	5.009139 85	21.95855 04	20.68522 45	5.942343 83	161.2927 95	8.447347 27
hsa-miR-125a-5p-002198	1.798135 64	17.45662 35	1.954581 83	1.093335 17	8.971058 68	5.560277 71
hsa-miR-125b-000449	#jVALOR !	210.5076 76	1.059927 88	1.484560 42	33.94219 87	0.077996 55
hsa-miR-127-000452	0.013636 08	34.52739 21	0.253859 9	0.865814 98	#jVALOR !	0.215396 22

hsa-miR-130a-000454	5.260093 26	52.05754 47	8.692532 63	6.250445 07	28.01185 71	4.959028 37
hsa-miR-130b-000456	2.383528 69	69.18125 28	4.827271 53	3.424577 08	120.4322 29	3.175913 54
hsa-miR-132-000457	0.682652 25	24.23835 25	0.778945 3	0.198356 83	24.75574 69	1.594852 11
hsa-miR-133a-002246	0.423169 18	137.0401 86	1.124491 37	32.62354 73	4.445305 35	0.298383 69
hsa-miR-135a-000460	0.572505 82	#jVALOR!	2.149272 35	2.700158 9	34.93644 23	0.883782 26
hsa-miR-135b-002261	3.584461 41	6.636171 72	15.31782 63	29.77177 35	105.1842 4	3.800435 58
hsa-miR-139-5p-002289	0.365275 93	114.5061 16	0.590955 91	0.494581 38	#jVALOR !	1.721661 16
hsa-miR-140-3p-002234	1.384866 67	22.99231 22	0.749604 74	0.401771 07	15.21715 15	0.844281 84
hsa-miR-142-3p-000464	0.641968 72	594.2417 47	1.512251 05	0.194262 54	#jVALOR !	0.548454 8
hsa-miR-143-002249	0.554925 26	70.63465 14	1.296388 87	0.319361 67	2.027762 51	0.537579 33
hsa-miR-145-002278	0.329792 48	14.26594 36	0.762565 91	0.257431 36	2.497175 77	0.786386 41
hsa-miR-146a-000468	0.161539 73	109.4557 33	0.367297 78	0.218611 93	12.81837 03	0.882529 43
hsa-miR-146b-001097	0.399687 48	18.04495 55	0.382304 75	0.363924 49	4.652945 31	0.587048 78
hsa-miR-148a-000470	0.282612 76	25.52900 44	0.361148 63	0.683172 76	#jVALOR !	0.366052 73
hsa-miR-149-002255	17.18906 12	87.96119 62	15.29610 19	5.125622 54	375.2107 49	13.44492 88
hsa-miR-150-000473	0.442025 72	366.5860 33	0.164847 12	0.040108 33	#jVALOR !	0.207372 33
hsa-miR-152-000475	0.303337 89	36.95863 13	0.417481 2	0.220822 19	59.66136 19	0.184766 23

hsa-miR-181a-000480	6.514332 14	64.08108 63	7.887631 63	3.599906 4	182.2058 68	1.604368 7
hsa-miR-185-002271	0.146347 88	31.24187 33	0.279773 79	0.113196 73	38.96111 39	0.210229 41
hsa-miR-186-002285	0.676245 01	55.67205 02	1.260350 75	0.683540 01	16.71078 63	1.073936 2
hsa-miR-191-002299	1.128616 23	45.97467 53	0.863796 79	0.372038 14	42.38255 97	0.637625 52
hsa-miR-193a-3p-002250	0.101149 24	19.85803 12	0.056484 88	0.052032 87	22.31514 62	0.014900 97
hsa-miR-193a-5p-002281	0.075179 25	8.592358 22	0.034882 63	0.043284 15	#jVALOR !	0.093419 52
hsa-miR-193b-002367	0.162231 67	20.41668 03	0.072230 62	0.071677 41	8.469164 04	0.054707 96
hsa-miR-194-000493	0.073383 36	0.570932 1	0.068569 84	0.043318 79	5.545206 28	0.051802 02
hsa-miR-195-000494	1.087533 32	101.0103 27	1.538995 6	1.686537 55	#jVALOR !	1.697829 68
hsa-miR-196b-002215	2.018619 65	3.135216 48	3.106211 02	2.796676 42	56.65318 04	1.377747 87
hsa-miR-197-000497	0.325474 56	7.948461 85	0.188738 63	0.099621 76	15.93149 24	0.256866 27
hsa-miR-199a-3p-002304	0.521492 84	59.01426 76	2.154468 14	1.345324 53	18.91990 4	0.382932 85
hsa-miR-202-002363	0.090246 78	12.52317 94	0.074815 63	0.053370 75	22.43259 79	0.075034 64
hsa-miR-210-000512	1.059841 48	10.90424 61	0.354136 32	0.112123 89	110.4323 15	0.328201 26
hsa-miR-214-002306	0.639953 61	25.94569 71	0.902616 53	0.494128 34	74.56250 23	0.495629 54
hsa-miR-215-000518	0.018475 87	3.660701 15	0.071853 01	0.058134 59	#jVALOR !	0.036719 07
hsa-miR-218-000521	36.09433 49	70.08743 4	13.33044 63	4.938246 4	300.9636 87	9.162422 53

hsa-miR-222-002276	0.652387 34	19.47845 32	1.36489	0.622812 42	24.73010 08	1.052681 4
hsa-miR-223-002295	0.205722 54	173.2908 74	1.018139 79	0.157104 29	4.958298 42	1.074454 8
hsa-miR-320-002277	0.204765 05	58.56644 33	0.540113 31	0.236293 02	36.72224 78	0.800839 29
hsa-miR-324-3p-002161	0.455390 69	63.03951 27	0.562101 87	0.140264 22	71.75015 93	0.395585 09
hsa-miR-324-5p-000539	1.006669 21	18.76583 41	0.791602 29	0.522274 01	15.69618 78	0.681452 95
hsa-miR-328-000543	0.422781 37	2.440961 63	0.203937 35	0.113438 38	#jVALOR !	0.140655 02
hsa-miR-331-000545	1.823958 12	20.15878 25	2.373294 59	0.704712 59	41.50426 49	0.464643 98
hsa-miR-337-5p-002156	#jVALOR !	11.39976 92	0.122907 45	0.226479 53	15.38270 3	0.062159 31
hsa-miR-338-3p-002252	#jVALOR !	3.523838 95	0.041104 83	0.032914 16	#jVALOR !	0.022542 73
hsa-miR-339-3p-002184	0.201400 85	25.65295 75	0.462290 87	0.159680 98	123.1119 34	0.402050 11
hsa-miR-155-002623	0.322879 49	48.92338 37	0.417332 57	0.217131 3	#jVALOR !	0.462065 6
hsa-let-7b-002619	0.048817 41	8.333294 36	0.069781 66	0.045329 57	0.899738 43	0.060142 45
hsa-miR-342-3p-002260	3.188735 92	32.32128 51	14.46151 84	4.571737 42	37.21893 68	8.236091 85
hsa-miR-345-002186	4.029627 18	8.900483 51	4.056692 35	0.835100 6	373.0406 05	2.976514 28
hsa-miR-362-001273	0.831121 85	42.96836 85	1.018193 41	3.155068 14	45.85231 32	1.765430 31
hsa-miR-365-001020	0.727429 71	25.65035 75	0.194248 2	0.548665 98	19.83013 48	0.296992 64
hsa-miR-370-002275	#jVALOR !	55.73092 66	0.302822 19	0.608004 26	19.97667 55	0.184427 89

hsa-miR-374-000563	3.527239 37	42.49703 87	2.226678 72	2.027603 98	11.72712 14	2.322463 3
hsa-miR-376a-000565	0.103993 09	30.36316 72	0.103097 17	2.953443 79	0.688401 26	0.169807 59
hsa-miR-382-000572	0.018459 52	13.91436 05	0.185099 64	0.731181 23	10.66138 28	0.058178 48
hsa-miR-410-001274	0.060331 17	3.009135 78	0.166307 5	1.941967 97	#jVALOR !	0.470179 74
hsa-miR-411-001610	0.066777 69	22.80678 87	0.537607 05	3.265174 72	#jVALOR !	0.310360 25
hsa-miR-422a-002297	0.303006 08	35.47219 16	0.233313 27	1.749635 88	#jVALOR !	1.484422 34
hsa-miR-425-5p-001516	0.246571 22	12.95035 16	0.304138 8	0.173041 83	6.385074 32	0.213246 05
hsa-miR-454-002323	10.07722 89	3.811800 96	3.947749 14	3.275925 38	3.736049 45	2.543679 65
hsa-miR-455-001280	0.157693 36	36.21180 17	0.408118 14	0.174922 85	20.88640 62	0.153356 05
hsa-miR-483-5p-002338	3.423590 94	32.01834 01	4.469166 33	0.326438 07	886.5333 55	0.626320 2
hsa-miR-484-001821	1.880834 21	15.85209 49	1.368740 17	0.692819 62	53.44670 67	7.777306 71
hsa-miR-485-3p-001277	0.109652 3	4.221645 09	0.148040 57	0.189363 6	2.732264 02	0.255340 26
hsa-miR-486-001278	0.196298 02	22.24036 5	0.143652 39	0.128575 31	2.699130 28	0.673647 58
hsa-miR-487a-001279	0.146654 29	36.98046 28	0.114403 42	0.191846 21	#jVALOR !	0.642746 61
hsa-miR-489-002358	0.098764 2	1.603072 1	0.329714 95	0.312252 65	4.619744 52	0.142467 3
hsa-miR-494-002365	0.169640 24	67.53350 79	0.029898 64	0.029004 64	7.765088 97	0.124689 63
hsa-miR-500-002428	0.331700 65	14.89916 27	0.470315 38	0.726287 45	30.50957 75	0.224222 28

hsa-miR-502-001109	#jVALOR !	7.606101 44	0.042004 82	0.150743 09	#jVALOR !	0.105490 59
hsa-miR-508-001052	#jVALOR !	14.61609 11	0.023198 45	0.011929 27	#jVALOR !	#jVALOR !
hsa-miR-509-5p-002235	0.066271 01	3.670957 94	0.048518 8	0.014905 92	#jVALOR !	0.007060 36
hsa-miR-532-3p-002355	0.094993 27	6.182072 77	0.232289 44	0.224473 51	#jVALOR !	0.252043 67
hsa-miR-532-001518	0.853409 1	3.231182 32	0.692499 09	1.519177 83	11.12903 92	0.598919 62
hsa-miR-539-001286	#jVALOR !	13.31424 16	0.488987 97	3.386232 29	#jVALOR !	0.679007 71
hsa-miR-542-5p-002240	0.411678 15	3.728858 03	0.093354 13	0.071902 41	#jVALOR !	0.041851 17
hsa-miR-548b-5p-002408	#jVALOR !	145.1508 9	0.378621 56	0.274634 !	#jVALOR !	0.474568 27
hsa-miR-574-3p-002349	0.270443 13	43.24371 18	0.293417 69	0.066543 6	6.473519 7	0.440092 89
hsa-miR-590-5p-001984	2.079337 92	21.72505 27	1.199330 38	0.877718 8	5.837994 75	0.540236 5
hsa-miR-618-001593	0.784994 51	15.54711 54	0.052649 57	0.232565 85	24.52684 75	0.836610 64
hsa-miR-628-5p-002433	1.353168 77	0.225808 41	0.791168 09	0.443748 84	29.19890 76	0.466861 94
hsa-miR-636-002088	0.097423 58	5.102568 78	0.033409 22	0.032992 25	6.903717 15	0.142838 56
hsa-miR-652-002352	1.314869 75	14.15534 83	0.485221 3	0.340452 93	20.35239 65	0.253159 08
hsa-miR-660-001515	0.145024 87	8.479590 78	0.119440 38	0.253516 96	4.768347 27	0.109564 39
hsa-miR-708-002341	41.26232 24	137.9581 91	53.73685 9	43.05424 57	1010.621 74	10.88582 62
hsa-miR-744-002324	1.423266 99	17.92445 36	0.928035 65	0.360327 14	10.63959 99	0.494300 93

hsa-miR-886-3p-002194	0.584688 83	45.96727 06	0.486694 17	0.093286 52	13.67771 99	0.407105 11
hsa-miR-886-5p-002193	0.251943 45	19.62774 42	0.236259 59	0.051977 53	88.80143 63	0.237851 99
hsa-miR-887-002374	5.597581 78	19.85180 13	1.892643 51	0.705833 36	559.4197 6	0.100475 77
hsa-miR-212-000515	1.031082 94	20.68373 76	0.803209 14	0.242638 72	#jVALOR !	2.557642 62
hsa-miR-346-000553	0.053359 12	23.80151 68	0.139656 28	0.131335 63	#jVALOR !	0.619107 58
hsa-miR-376c-002122	0.075162 94	30.56735 22	0.355013 63	2.351509 99	1.019914 29	0.239855 94
hsa-miR-30a-3p-000416	#jVALOR !	8393.240 61	0.153379 53	0.288459 41	#jVALOR !	0.142973 04
hsa-miR-30a-5p-000417	0.127010 26	16.60276 22	0.167866 12	0.236110 51	1.261148 43	0.043313 78
hsa-miR-30d-000420	#jVALOR !	7.180369 14	0.295505 15	0.420220 45	1.391492 74	0.098034 34
hsa-miR-126#-000451	0.277604 71	22.67047 55	0.192342 47	0.945227 11	#jVALOR !	1.583464 76
hsa-miR-206-000510	#jVALOR !	227.1600 65	0.000678 35	13.47277 03	#jVALOR !	0.005499 96
hsa-miR-432-001026	7561128. 35	11253.57 32	0.050636 01	0.329971 82	#jVALOR !	0.002697 34
hsa-miR-516-3p-001149	472148.9 88	2146.780 26	0.007271 37	0.020026 82	3.622061 08	0.050049 56
hsa-miR-644-001596	1137428 90	45.07216 02	0.027665 44	0.108595 03	#jVALOR !	0.072821 04
hsa-miR-650-001603	#jVALOR !	1799.590 21	0.135964 33	0.100335 33	1.861908 58	0.283260 31
hsa-miR-661-001606	0.079389 69	74.52836 67	0.587354 64	4.289022 66	#jVALOR !	4.251242 22
hsa-miR-571-001613	#jVALOR !	#jVALOR! !	0.134904 31	0.647572 53	13.69829 82	1.648858 42

hsa-miR-766-001986	#jVALOR !	#jVALOR! 65	23.37995 65	19.50086 55	1217.480 13	47.88030 29
hsa-miR-222#-002097	#jVALOR !	121368.4 6	0.472144 5	1.037128 2	#jVALOR !	0.703463 07
hsa-miR-136#-002100	#jVALOR !	15736163 75	0.078958 06	0.530319 57	#jVALOR !	0.077238 24
hsa-miR-93#-002139	#jVALOR !	#jVALOR! 05	6.334840 05	2.534317 93	63.31255 98	5.063476 89
hsa-miR-145#-002149	#jVALOR !	23.79284 89	0.208968 99	0.247135 26	#jVALOR !	0.224073 12
hsa-miR-939-002182	#jVALOR !	#jVALOR! 13	0.105864 13	0.860813 58	8.407459 27	0.979455 29
hsa-miR-335#-002185	0.109895 57	#jVALOR! 44	3.083099 44	2.112649 16	21.72119 79	1.008453 68
hsa-miR-378-002243	#jVALOR !	#jVALOR! 68	0.141720 68	0.329249 54	18.51111 41	0.160302 77
hsa-miR-151-3p-002254	0.328829 68	35.15082 34	0.436457 91	0.539340 93	81.29797 09	0.283148 17
hsa-miR-183#-002270	#jVALOR !	#jVALOR! 51	10.53256 51	8.092970 47	#jVALOR !	0.725450 79
hsa-miR-425#-002302	0.214863 45	#jVALOR! 6	0.701237 6	0.517930 33	19.18834 64	0.797479 67
hsa-miR-30d#-002305	3290693. 61	4106908. 62	0.317009 32	1.103198 36	#jVALOR !	0.759006 85
hsa-miR-10b#-002315	#jVALOR !	#jVALOR! 64	2.926308 64	2.461678 95	12.51375 67	1.711496 78
hsa-miR-409-3p-002332	#jVALOR !	#jVALOR! 15	0.318770 15	2.095351 97	0.826231 26	0.341160 06
hsa-miR-19b-1#-002425	#jVALOR !	7.312935 98	0.572611 4	0.747663 29	93.46741 41	1.258721 65
hsa-miR-625#-002432	0.605518 6	34616993 5	0.012230 79	0.060164 74	6.917405 63	0.087642 74
hsa-miR-21#-002438	#jVALOR !	58212948 .5	0.064586 98	0.013180 79	#jVALOR !	0.005914 88

hsa-miR-151-5P-002642	1.311460 25	90.03536 95	2.544174 58	3.344113 78	#jVALOR !	2.131616 74
hsa-miR-590-3P-002677	26.72142 69	236.7045 42	5.827227 46	7.639400 03	47.22268 38	3.226906 39
hsa-miR-1227-002769	0.107528 65	3.316299 22	0.029898 87	0.035622 76	0.642246 79	0.218911 98
hsa-miR-1303-002792	2.266884 71	42039304 06	0.128222 8	0.048194 04	#jVALOR !	0.188565 02
hsa-miR-1285-002822	#jVALOR !	19221670 91	0.085181 67	0.063816 11	#jVALOR !	0.129030 02
hsa-miR-1275-002840	1292074 0.9	#jVALOR!	0.262887 44	0.292613 76	31.72940 98	0.324757 09
hsa-miR-1183-002841	0.861659 78	292.2730 96	0.059092 62	0.149300 35	24.87561 99	0.208031 4
hsa-miR-1276-002843	6.135965 01	140.6560 75	0.116498 35	0.088450 25	#jVALOR !	0.142483 44
hsa-miR-1180-002847	#jVALOR !	#jVALOR!	0.968639 73	0.683253 08	192.5711 53	0.450848 38
hsa-miR-663B-002857	38.90066 74	4.930105 62	0.016933 2	0.035152 72	2.426977 62	0.180777 66
hsa-miR-1290-002863	6519139 4	#jVALOR!	0.306922 27	0.482196 74	151.2878 96	2.987474 72
hsa-miR-1208-002880	1893925 1.4	#jVALOR!	0.619211 94	3.268487 07	#jVALOR !	10.38547 91
hsa-miR-1274A-002883	74.86023 14	709.0960 09	0.095662 86	0.298201 92	1.471080 8	0.787887 69
hsa-miR-1247-002893	#jVALOR !	10.77892 52	0.010243 32	0.038000 87	1.666652 22	0.061774 16
hsa-miR-720-002895	0.004924 71	19.22169 11	0.111547 25	0.094947 66	7.709845 77	0.079204 53
hsa-miR-1260-002896	5.381515 53	#jVALOR!	0.108687 57	0.248091 47	4.436566 59	0.622772 31
hsa-miR-664-002897	12431.68 7	#jVALOR!	0.117011 17	0.210449 58	10.02789 22	0.847768 75

hsa-miR-1300-002902	#¡VALOR	18.27576	0.269325	0.750172	#¡VALOR	1.550804
	!	58	54	26	!	79
hsa-miR-1825-002907	#¡VALOR		0.134124	0.407668	12.86599	0.260462
	!	#¡VALOR!	28	61	6	91

Fuente: Hospital Infantil de México Federico Gómez. Laboratorio de patología clínica y experimental