



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Asociación del polimorfismo rs4948488 del gen
ARID5B con la presencia de recaída en pacientes
pediátricos con leucemia linfoblástica aguda del
Instituto Nacional de Pediatría

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA
DIAGNOSTICA**

P R E S E N T A:

DAVID AMARO MUÑOZ

ASESOR EXTERNO:

Dra. Adriana Reyes León

COASESOR INTERNO:

Q.F.B. Alejandro Gutiérrez García

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
 Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
 de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Asociación del polimorfismo rs4948488 del gen ARID5B con la presencia de recaída en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda del Instituto Nacional de Pediatría.

Que presenta el pasante: David Amaro Muñoz

Con número de cuenta: 308545115 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Octubre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	M. en C. Maritere Domínguez Rojas	
SECRETARIO	Q.F.B. Alejandro Gutiérrez García	
1er. SUPLENTE	M. en C. Beatriz Lucía González Maldonado	
2do. SUPLENTE	LBD. Rosa Ma. de los Angeles López Cabrera	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Genética y Cáncer del Instituto Nacional de Pediatría, con el apoyo de:

Fondos del Presupuesto Federal para la Investigación, proyecto INP 085/2012.

Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales CONACyT, proyecto 216163.

Los resultados de este trabajo de tesis se anexaron a los resultados del proyecto completo para su publicación en:

Annals of Hematology; (2019). <https://doi.org/10.1007/s00277-019-03730-x>

Variants in *ARID5B* gene are associated with the development of acute lymphoblastic leukemia in Mexican children



Variants in *ARID5B* gene are associated with the development of acute lymphoblastic leukemia in Mexican children

Adriana Reyes-León¹ · Maribel Ramírez-Martínez¹ · Diana Fernández-García¹ · David Amaro-Muñoz¹ · José Antonio Velázquez-Aragón² · Consuelo Salas-Labadía¹ · Marta Zapata-Tarrés³ · Lilita Velasco-Hidalgo³ · Norma López-Santiago⁴ · Mayra Ivette López-Ruiz⁵ · Monica Anabell Malavar-Guadarrama⁶ · Rocío Cárdenas-Cardós³ · Rogelio Paredes-Aguilera⁴ · Roberto Rivera-Luna⁷ · Michael Dean⁸ · Patricia Pérez-Vera¹

Received: 3 January 2019 / Accepted: 10 June 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

A high impact of *ARID5B* SNPs on acute lymphoblastic leukemia (ALL) susceptibility has been described in Hispanic children; therefore, it is relevant to know if they influence the high incidence of childhood-ALL in Mexicans. Seven SNPs (rs10821936, rs10994982, rs7089424, rs2393732, rs2393782, rs2893881, rs4948488) of *ARID5B* were analyzed in 384 controls and 298 ALL children using genomic DNA and TaqMan probes. The SNPs were analyzed for deviation of Hardy-Weinberg equilibrium; Fisher's exact test was used to compare the genotypic and allelic frequencies between controls and patients. The association between SNPs and ALL susceptibility was calculated, and haplotype and ancestry analyses were conducted. All SNPs were associated with ALL, pre-B ALL, and hyperdiploid-ALL susceptibility ($p < 0.05$). No association with T-ALL and gene fusions was found ($p > 0.05$). The seven SNPs were associated with risk of pre-B ALL in younger children; however, rs2393732, rs2393782, rs2893881, and rs4948488 were not associated with susceptibility in older children and adolescents. The CAG haplotype (rs10821936, rs10994982, rs7089424) was strongly associated with ALL risk in our population ($p < 0.00001$). The frequency of all risk alleles in our ALL, pre-B, and hyperdiploid-ALL patients was higher than that in Hispanic children reported. This is the first report showing the association between rs2393732, rs2393782, and rs4948488 with pre-B hyperdiploid-ALL children. The G allele at rs2893881 confers major risk for pre-B hyperdiploid-ALL in Mexican (OR, 2.29) than in Hispanic children (OR, 1.71). The genetic background of our population could influence the susceptibility to ALL and explain its high incidence in Mexico.

Keywords Acute lymphoblastic leukemia · *ARID5B* gene · Single nucleotide polymorphisms · Susceptibility · Mexican children

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00277-019-03730-x>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Patricia Pérez-Vera
pperezvera@yahoo.com

¹ Laboratorio de Genética y Cáncer, Instituto Nacional de Pediatría, Insurgentes Sur 3700-C, Colonia Insurgentes Cuicuilco, C.P. 04530 Mexico City, Mexico

² Laboratorio de Biología Molecular, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, Mexico

³ Servicio de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, Mexico

⁴ Servicio de Hematología, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, Mexico

⁵ Departamento de Oncología, Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico

⁶ Departamento de Hematología, Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico

⁷ Subdirección de Hemato-Oncología, Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, Mexico

⁸ Laboratory of Translational Genomics, Division of Cancer Epidemiology & Genetics, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a las personas que me apoyaron a lo largo de este camino:

Agradecer a mis profesores, por sus enseñanzas que ayudaron a mi formación a nivel profesional.

A mis amigos Diana, Mike, John, Alexis, Nidya, Cynthia, Monse y Ana por los años de amistad y apoyo durante estos años.

A la doctora Adriana por permitirme trabajar en este proyecto, por su tiempo, paciencia y enseñanzas brindadas durante el desarrollo del mismo, así mismo agradecer a la doctora Paty, Chio, Dafne, Chelo, Pily, Vero, Daniel, Itzel, Juan Carlos y Alex ya que su apoyo y observaciones durante mi estancia permitieron enriquecer y mejorar dicho proyecto.

A mis abuelos, tíos y primos por conformar este tesoro invaluable llamado familia, y aunque algunos miembros ya no están presentes físicamente los recuerdo en sus enseñanzas y consejos los cuales forman parte de mi vida y siempre los recordare con mucho cariño.

A mis padres que gracias por sus enseñanzas y su apoyo incondicional desde que llegue a este mundo, y mi hermana por su cariño y apoyo fueron las bases que me permitieron llegar hasta este momento.

A todos ellos, les agradezco y les dedico este trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE TABLAS	4
ABREVIACIONES	5
GLOSARIO	7
RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Definición de leucemia linfoblástica aguda	9
1.2 Manifestaciones clínicas	9
1.3 Diagnostico de LLA en niños	9
1.3.1 Análisis inmunológico	10
1.3.2 Análisis citogenético	11
1.4 Epidemiología de LLA en niños	15
1.5 Etiología de la LLA en niños	17
1.5.1 Factores ambientales	17
1.5.2 Factores biológicos	19
1.5.3 Factores genéticos	19
1.6 Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs)	20
1.6.1 Clasificación de los SNPs	21
1.6.2 Utilidad de los SNPs	22
1.7 SNP asociados con la susceptibilidad a desarrollar LLA en niños	22
1.7.1 SNPs en el gen <i>IKZF1</i>	23
1.7.2 SNPs en el gen <i>PIP4K2A</i>	23
1.7.3 SNPs en el gen <i>CEBPE</i>	24
1.7.4 SNPs en el gen <i>CDKN2A</i>	24
1.7.5 SNPs en el gen <i>GATA3</i>	24
1.7.6 SNPs en el gen <i>ARID5B</i>	25
1.8 Gen <i>ARID5B</i>	28
1.9 SNPs del gen <i>ARID5B</i> asociados con recaída en niños con LLA	30
1.10 Eventos adversos en niños con LLA	30
2. JUSTIFICACIÓN	32
3. HIPÓTESIS	33

4. OBJETIVOS	34
4.1 Objetivo general:	34
4.2 Objetivos particulares:.....	34
5. METODOLOGÍA	35
5.1 Población de estudio	35
5.2 Obtención de muestras biológicas	36
5.3 Extracción de DNA genómico	37
5.4 Genotipificación del SNP rs4948488	38
5.5 Análisis estadístico	40
5.5.1 Análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW)	40
5.5.2 Asociación con la susceptibilidad y el riesgo a desarrollar LLA.....	41
5.5.3 Frecuencia de recaída en los niños con LLA.....	41
5.5.4 Asociación con el riesgo a presentar recaída	42
5.5.5 Supervivencia libre de recaída.....	42
6. RESULTADOS	43
6.1 Descripción de la población	43
6.2 Asociación del SNP rs4948488 con la susceptibilidad y el riesgo a desarrollar LLA	44
6.3 Presencia de eventos adversos	47
6.4 Asociación del rs4948488 con el riesgo a presentar recaída	50
6.5 Supervivencia libre de recaída asociada al SNP rs4948488	51
7. DISCUSIÓN	57
8. CONCLUSIONES	59
9. REFERENCIAS	60
10. ANEXOS	68
ANEXO 1. Información de la base de datos de controles y pacientes.....	68
ANEXO 2. Carta de Consentimiento y Asentimiento Informado para controles..	69
ANEXO 3. Carta de Consentimiento y Asentimiento Informado para pacientes .	75
ANEXO 4. Método de recolección de muestras de saliva (Oragene DNA 0G-500)	79
ANEXO 5. Método de extracción de DNA genómico de sangre periférica (Kit QIAamp DNA Blood Mini, QIAGEN).....	80
ANEXO 6. Método de extracción de DNA genómico de saliva (Kit prepIT-L2P, DNA Genotek).....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de los linfoblastos en la LLA	10
Figura 2. Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP	21
Figura 3. Miembros de la familia ARID	29
Figura 4. Gráfica de dispersión de los genotipos del SNP rs4948488.....	39
Figura 5. Frecuencia de los eventos adversos en los 314 pacientes estudiados	47
Figura 6. Frecuencia de defunciones como segundo evento adverso.....	48
Figura 7. Frecuencia de defunciones agrupadas por el número de recaídas	48
Figura 8. Sitios anatómicos donde se presentó la recaída.....	49
Figura 9. Curvas de Kaplan Meier para la Supervivencia libre de recaída (SLR) en 314 pacientes con LLA y un seguimiento de 127 meses.....	52
Figura 10. Frecuencia de eventos adversos en los 2 grupos de pacientes .	54
Figura 11. Curvas de Kaplan Meier para la Supervivencia libre de recaída (SLR) en pacientes del grupo 2 con 65 meses de seguimiento	56
Figura 12. Kit comercial de recolección de saliva Orange DNA OG-500.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Marcadores característicos de células leucémicas precursoras B y células T.....	11
Tabla 2. Alteraciones cromosómicas características de los diferentes subtipos de LLA.....	14
Tabla 3. Características clínicas de estratificación de riesgo en niños con LLA.	15
Tabla 4. Variaciones en datos epidemiológicos en distintas poblaciones.....	16
Tabla 5 SNPs asociados con el riesgo a desarrollar LLA en población pediátrica.	26
Tabla 6. SNPs del gen ARID5B asociados con el riesgo a desarrollar LLA en población pediátrica.....	27
Tabla 7. SNPs de ARID5B asociados con la presencia de recaída en niños con LLA.....	30
Tabla 8. Condiciones de amplificación en el termociclador en tiempo real.....	38
Tabla 9. Características clínicas de los 318 pacientes estudiados.	44
Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488.....	46
Tabla 11. Asociación del SNP rs4948488 con el riesgo a desarrollar LLA en pacientes pediátricos.....	46
Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488 en pacientes con y sin recaída.....	50
Tabla 13. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488 en pacientes del Grupo 2 con y sin recaída.	55

ABREVIACIONES

ABL1	ABL Proto-oncogene 1
AKT	Proteína B cinasa
aa	Aminoácidos
<i>ARID5B</i>	AT rich interaction domain 5B
BCR	Breakpoint cluster región
CA	California
CD	Cluster of differentiation
CDC	Center of Disease Control and Prevention
<i>CDKN2A</i>	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
CDMX	Ciudad de México
<i>CEPBE</i>	CCAAT enhancer biding protein epsilon
<i>CETP</i>	Colesterol éster transferasa
CONACyT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
CREB	cAMP response element-binding
cSNP	SNP codificante
DNA	Ácido desoxirribonucleico (Desoxyribonucleic acid)
<i>DRD2</i>	Receptor de dopamina D2
EHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
<i>ETV6</i>	ETS variation 6
EUA	Estados Unidos de América
FAB	Franco-Americana-Británica
FISH	Flourescence in situ hibridation
<i>GATA3</i>	GATA binding protein 3
<i>HOX</i>	Homeobox
HR	Hazard ratio
hrs	Horas
HTVL	Virus linfotrópico humano (Human T cell leukemia/lymphoma virus)
IARC	International Agency for Research on Cancer
<i>IGH</i>	Immunoglobulin heavy locus
<i>IKZF1</i>	IKAROS family zinc finger 1
INF- γ	Interferon gama
INP	Instituto Nacional de Pediatría
<i>KMT2A</i>	Lysine methyltransferase 2 ^a
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLA-preB	Leucemia linfoblástica aguda de células precursoras B
LLA-T	Leucemia linfoblástica aguda de células T
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crónica
<i>LMO1</i>	LIM domain only 1
<i>LMO2</i>	LIM domain only 2
<i>MLLT1</i>	Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage leukemia

<i>MMP9</i>	Metallopeptidase 9
nm	Nanómetros
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NCI	National Cancer Institute
ng/μL	nanogramos sobre microlitro
nsSNP	SNP no sinónimo
ON	Ontario
OR	Odd ratio
pb	Pares de bases
<i>PBX1</i>	PBX homeobox 1
PCR	Polimerase chain reaction
<i>PIP4K2A</i>	Phosphatidylinositol-5-phosphato 4-kinasa type 2 alpha
rs	Referencial SNP
rSNP	SNP regulador
qPCR	PCR en tiempo real
<i>RUNX1</i>	Runt related transcription factor 1
SLE	Supervivencia libre de evento
SLR	Supervivencia libre de recaída
SM	Síndrome mielodisplásico
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Single nucleotide polymorphism
srSNP	Structural RNA SNP
sSNP	SNP sinónimo
<i>TAL-1</i>	T-cell acute lymphoblastic leukemia 1
<i>TCF3</i>	Transcription factor 3
TdT	Desoxinucleotidil transferasa terminal
<i>THBS2</i>	Thrombospondin 2
<i>TLX1</i>	T Cell leukemia homeobox 1
<i>TRA</i>	T Cell receptor alpha locus
<i>TRB</i>	T Cell receptor beta locus
<i>TRD</i>	T Cell receptor delta locus
UV	Luz ultravioleta
VEB	Virus de Epstein-Barr

GLOSARIO

Alelo: forma alternativa del mismo gen.

Gen: secuencia de nucleótidos que codifica para una proteína.

Genotipo: conjunto de genes que posee un individuo.

Hazard ratio (HR): Promedio de razones que buscan la relación entre la presencia de un evento a lo largo del estudio.

Heterocigoto: individuo que posee dos copias diferentes de un gen en particular

Homocigoto: individuo que posee dos copias idénticas de un gen en particular.

Leucemia linfoblástica aguda: neoplasia del sistema hematopoyético donde proliferan linfoblastos.

Linfoblasto: linfocito inmaduro.

Odds ratio (OR): Cociente entre la probabilidad de que ocurra un evento y la probabilidad de que no ocurra.

Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP): sustitución de un nucleótido por otro en una posición específica del genoma.

Recaída: Reaparición de linfoblastos en cualquier tejido durante el tratamiento o vigilancia.

Recaída muy temprana: Se presenta antes de los 18 meses después de iniciado el tratamiento.

Recaída tardía: Se presenta después de los 36 meses iniciados el tratamiento

Recaída temprana: Se presenta entre los 18 y 36 meses después de iniciado el tratamiento.

Supervivencia libre de recaída (SLR): Periodo de tiempo desde el momento del diagnóstico de la LLA hasta el último contacto con el médico sin signos ni síntomas de la enfermedad o hasta la presencia de recaída

RESUMEN

Antecedentes: La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en niños menores de 18 años. En México, la incidencia de LLA es mayor a lo reportado en otras poblaciones como caucásicos, asiáticos, afroamericanos e hispanos residentes de Estados Unidos de América. El gen *ARID5B* regula el proceso de maduración y diferenciación de linfocitos B, recientemente se ha reportado que algunos SNPs de este gen se asocian con la susceptibilidad a desarrollar LLA en niños y esta asociación es más fuerte en niños hispanos; también varios de estos SNPs se asocian con la presencia de recaída en niños con LLA. Hasta el momento se desconoce el impacto de estos SNPs sobre la susceptibilidad a desarrollar LLA y su relación con la presencia de recaída en niños mexicanos, ya que no se pueden considerar los resultados obtenidos de pacientes Hispanos porque se desconoce la proporción de pacientes mexicanos estudiados.

Objetivo: Determinar la posible asociación entre el alelo de riesgo C del SNP rs4948488 del gen *ARID5B* con la susceptibilidad a desarrollar LLA y la presencia de recaída en pacientes pediátricos.

Metodología: Se estudiaron 350 controles y 318 niños con LLA a quienes se les tomaron muestras de sangre o saliva bajo consentimiento informado para la extracción de DNA genómico. La genotipificación se realizó mediante qPCR utilizando sondas tipo TaqMan comerciales. El análisis de la desviación del Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) demostró que el SNP rs4048488 se encontraba en equilibrio en ambas poblaciones por lo que se procedió al cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas, las frecuencias se compararon entre controles y pacientes usando la prueba exacta de Fisher, se estimó el riesgo a desarrollar LLA con un intervalo de confianza del 95% (Prueba de χ^2 de Pearson; OR; 95% IC), se determinó el riesgo a recaída (HR; 95% IC) y se calculó la supervivencia libre de recaída (SLR) a 127 meses de seguimiento mediante curvas de Kaplan-Meier.

Resultados: El promedio de edad de los controles estudiados fue de 25 años y la mayoría de ellos fueron masculinos. El promedio de edad de los pacientes fue de 8 años, la mayoría fueron masculinos, el 95% fueron LLA-preB y una proporción alta presentó características clínicas de buen pronóstico por edad y cuenta de leucocitos además de que muchos de los pacientes fueron negativos para las translocaciones más frecuentes. La frecuencia del homocigoto de riesgo CC fue significativamente mayor en pacientes con LLA y LLA-preB en comparación a controles, lo mismo se observó para el alelo de riesgo C entre pacientes y controles. El alelo C confiere riesgo para el desarrollo de LLA y LLA-preB y este se incrementa en presencia de dos copias del alelo (CC). En el caso de la LLA-T, la presencia del alelo no confiere riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Para el análisis de recaída y supervivencia libre de recaída (SLR), se descartaron 4 pacientes por falta de información, en total se analizaron 314 pacientes de los cuales el 33.8% presentó recaída, el alelo C no representó un riesgo para la presencia de este evento adverso ya que no se encontró asociación. La presencia del homocigoto de riesgo tampoco fue asociado con la SLR, ya que la supervivencia en los pacientes positivos a CC fue mayor a la observada en los pacientes positivos a TT y TC, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia.

Conclusiones: El alelo C se asoció con el riesgo a desarrollar LLA específicamente LLA-preB en los pacientes estudiados, no así para LLA-T. No se encontró asociación entre la presencia de alelo C y el riesgo a recaída. La frecuencia del alelo de riesgo C en los controles y pacientes estudiados fue mayor a lo reportado previamente en niños sanos y niños con LLA caucásicos, asiáticos, africanos e hispanos. Tampoco se encontró asociación con la SLR y contrario a lo que se esperaba, los pacientes positivos a CC mostraron una mejor supervivencia con respecto a los pacientes positivos a TT y TC.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Definición de leucemia linfoblástica aguda

La leucemia linfoblástica aguda (LLA), es una neoplasia del sistema hematopoyético que se caracteriza por la proliferación descontrolada de linfocitos inmaduros llamados linfoblastos ^[1]

1.2 Manifestaciones clínicas

Las primeras manifestaciones clínicas de la enfermedad son provocadas por la falla medular ya que la presencia de linfoblastos afecta la proliferación del resto de las células hematopoyéticas. Aproximadamente el 25% de los niños con LLA pueden presentar síntomas como astenia y mareo ocasionados por la anemia, además de dolor en huesos y artralgias relacionados con la infiltración de linfoblastos. Los pacientes pueden presentar algunos signos como ganglios linfáticos inflamados y palidez asociados con la anemia; petequias, equimosis y sangrado nasal causados por la trombocitopenia y fiebre e infecciones provocadas por la neutropenia ^[2, 3]. El 65% de los pacientes pueden presentar hepatoesplenomegalia y en los casos graves se detecta disnea, linfadenopatías e infiltraciones a tejidos extramedulares como sistema nervioso central (SNC), testículo y mediastino ^[2].

1.3 Diagnóstico de LLA en niños

La biometría hemática es la primera prueba de laboratorio que se realiza para hacer el diagnóstico de LLA, porque se pueden encontrar niveles anormales de las células sanguíneas. El 80% de los pacientes presentan anemia, el 75% trombocitopenia, aproximadamente el 50% leucocitosis y en muy pocos casos se observa pancitopenia ^[3]. Para confirmar el diagnóstico, se toma una biopsia de médula ósea mediante punción lumbar con anestesia para evitar molestias al paciente. La biopsia se somete a estudios morfológicos en busca de células en forma espejo de mano con núcleo irregular, membrana nuclear irregular y presencia de nucléolos. De acuerdo con la clasificación Franco-Americana-Británica (FAB), los linfoblastos pueden ser L1 y L2 (Figura 1) ^[4]. La presencia de al menos 25% de linfoblastos en médula ósea confirma el diagnóstico de LLA. Posteriormente, mediante análisis inmunológico y citogenético se determina el subtipo de LLA y las alteraciones genéticas presentes en los linfoblastos ^[2].

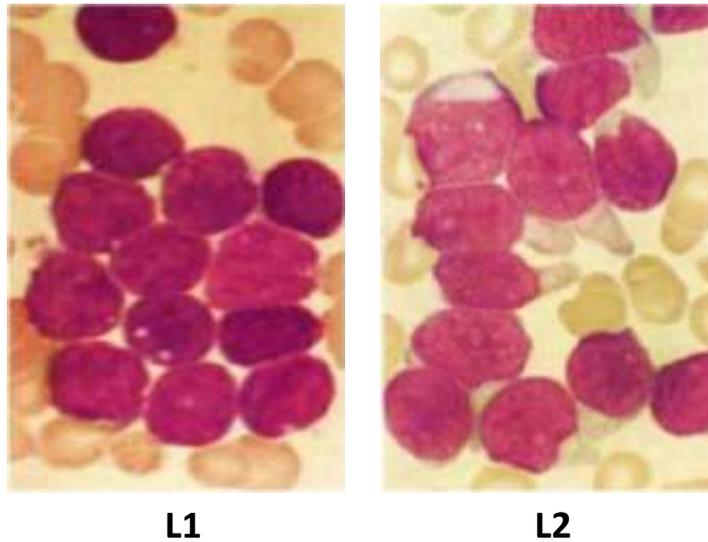


Figura 1. Morfología de los linfoblastos en la LLA. Linfoblastos en médula ósea, tinción de Giemsa-Wright. De acuerdo con la FAB, las células L1 son pequeñas, con nucléolos poco prominentes, núcleos pequeños regulares con cromatina homogénea y una proporción de núcleo-citoplasma de 9:1 (citoplasma escaso). Las células L2 son grandes, con nucléolos prominentes, núcleos grandes irregulares con cromatina heterogénea y una proporción de núcleo-citoplasma de 8:2 (citoplasma variable) ^[4]. Imagen tomada y editada del sitio web: <https://www.slideshare.net/aleCEsi1/clasificacion-leucemias-fab>.

1.3.1 Análisis inmunológico

Se utilizan anticuerpos que se unen específicamente a los marcadores “cluster of differentiation” (CD) que son proteínas presentes en la membrana y citoplasma de los linfoblastos. Mediante citometría de flujo se evalúa la emisión de fluorescencia que se genera por la unión de los anticuerpos a los marcadores y de esta manera se pueden identificar poblaciones celulares diferentes. El linaje B o T y la etapa de maduración de los linfoblastos se determinan de acuerdo con los marcadores presentes (inmunofenotipo) ^[5, 6]

LLA de células precursoras B (LLA-preB): El inmunofenotipo de las células B se caracteriza por la expresión de los marcadores CD19, CD20 y CD22 entre otros (Tabla 1). De acuerdo con la etapa de maduración, los marcadores que se expresan son desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) para identificar a las células proB y CD10 para las células preB (Tabla 1) [3, 7]

LLA de células T (LLA-T): Las células T expresan CD3 y CD5 (Tabla 1). De acuerdo con la etapa de maduración se expresan los marcadores CD7 en células T tempranas y CD3c en células T intermedias (Tabla 1) [2, 3].

Tabla 1. Marcadores característicos de células leucémicas precursoras B y células T.

Marcadores	proB	preB temprana	preB tardía	T temprana	T intermedia	T tardía
HLA-DR	+ [3, 7]	+ [3, 7]	+ [3, 7]	-	-	-
CD19	+* [3, 7]	+ [3, 7]	+ [3, 7]	-	-	-
CD20	+ [3, 7]	+ [3, 7]	+ [3, 7]	-	-	-
TdT	+ [3, 7]	+ [3, 7]	-	-	-	-
CD10	-	+ [3, 7]	+ [3, 7]	-	-	-
CD5	-	-	-	+ [3, 7]	+ [3, 7]	+ [3, 7]
CD3	-	-	-	+ [3, 7]	+ [3, 7]	+ [3, 7]
CD7	-	-	-	+ [3, 7]	-	-
CD3c	-	-	-	-	+ [3, 7]	-

*Este marcador solo se expresa en el 10% de las células proB

1.3.2 Análisis citogenético

Los linfoblastos pueden presentar alteraciones cromosómicas estructurales o numéricas que podrían contribuir a la leucomogénesis. Estas alteraciones en algunos casos ocasionan la sobreexpresión de diversos proto-oncogenes como ABL1, en otros casos alteran los mecanismos de regulación de la proliferación celular, maduración y diferenciación. Un punto muy importante es que estas alteraciones favorecen la supervivencia de las células leucémicas mediante su resistencia a la apoptosis [8, 9].

Este tipo de alteraciones se pueden identificar por citogenética convencional como bandas

G o por hibridación fluorescente in situ (Flourescence In Situ Hibridation o FISH), también se pueden utilizar técnicas de biología molecular como PCR punto final, PCR multiplex o PCR transcriptasa reversa (RT-PCR) [9].

Las alteraciones más frecuentes en la LLA-preB son:

Numéricas:

- **Hipodiploidía.-** Se caracteriza por la presencia de menos de 45 cromosomas. El cromosoma 20 es el que se pierde con mayor frecuencia, aunque la pérdida puede involucrar más de un cromosoma hasta llegar a tener menos de 30 cromosomas. Entre el 7 y 8% de los niños con LLA presentan hipodiploidía y el pronóstico al diagnóstico es desfavorable [3, 9] (Tabla 2).
- **Hiperdiploidía.-** Se caracteriza por la presencia de 51 a 66 cromosomas. Los cromosomas involucrados más frecuentemente son X, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 17, 18 y 21. Entre el 25 y 30% de los niños con LLA-preB presentan esta alteración y el pronóstico al diagnóstico es favorable [3, 9] (Tabla 2).

Estructurales:

- **t(12;21)(p13;q22):** Se presenta en el 15 al 35% de los pacientes pediátricos. Los genes involucrados son *ETV6* (12p13) y *RUNX1* (21q22) [9]. *ETV6* codifica para una proteína que pertenece a la familia de factores de transcripción ETS involucrados en la hematopoyesis [3]. *RUNX1* codifica para un factor de transcripción que forma un complejo histona-acetilasa con el factor de unión central (CBF β) promoviendo la transcripción de genes involucrados en la diferenciación de linfocitos B y T [3, 9]. La fusión *ETV6-RUNX1* bloquea la transcripción de *RUNX1*, por lo tanto, se inhibe la hematopoyesis [3, 8]. Aproximadamente el 95% de los pacientes pediátricos con esta translocación sobreviven a la enfermedad, por lo que se considera de buen pronóstico [8] (Tabla 2).
- **t(1;19)(q23;p13):** Entre el 20-25% de los pacientes pediátricos presentan esta translocación. Los genes involucrados son *TCF3* (19p13.3) y *PBX1* (1q23.3) que generan la proteína de fusión oncogénica *TCF3-PBX1*. *PBX1* pertenece a la familia de factores de transcripción homeobox *PBX* que están involucrados en el crecimiento de células hematopoyéticas. *TCF3* es un factor de transcripción involucrado en el crecimiento y diferenciación celular [3, 9] (Tabla 2).
- **t(9;22)(q34;q11):** También llamada Filadelfia positiva (Ph+). Es una translocación poco común en niños ya que se presenta en el 2 al 5% de los pacientes [3]. Los genes involucrados son *BCR* (22q11) y *ABL1* (9q34). *ABL1* codifica para una proteína con dominios SH3 y SH2 de activación a tirosina cinasa. *BCR* (breaking cluster region) codifica para una proteína con dominios de serina-treonina cinasa que participa en la

transducción de señales; en BCR hay un punto de ruptura que genera una proteína de 190 kDa (p190) llamada m-BCR (minor breaking cluster region), la cual es característica de los niños con LLA [3, 10]. Se considera una translocación de mal pronóstico porque la respuesta al tratamiento es mala y el riesgo a presentar recaída es alto. Actualmente el pronóstico ha mejorado con la inclusión de inhibidores de tirosina cinasas como el Imatinib o Dasatinib en los esquemas de tratamiento (Tabla 2).

- **Alteraciones en el gen *KMT2A*:** Este gen se localiza en la posición cromosómica 11q23 y codifica para una histona metil transferasa que está involucrada en el crecimiento, renovación y diferenciación de células hematopoyéticas, también regula la expresión de los genes *HOX7A* y *HOX9A* alterando los procesos de maduración y diferenciación de las células hematopoyéticas [3, 9]. Hasta el momento se han identificado más de 120 rearrreglos para *KMT2A*, la mayoría son generados por translocaciones que se consideran de mal pronóstico. A este gen se le considera como un marcador de leucemias congénitas [3, 9]. Las translocaciones más comunes son:

t(4;11)(q21;q23) (MKT2A-AFF1): Se presenta entre el 5 y 10% de los infantes menores de 6 meses de edad.

t(11;19)(q23;p13.3) (KMT2A-MLLT1): Se presentan en infantes menores de 1 año de edad.

t(1;11)(p32;q23) (KMT2A-EPS15): Se presenta en niños de 2 a 3 años.

Las alteraciones más frecuentes en LLA-T son:

Estructurales:

- ***TAL-1* (T-cell acute lymphoblastic leukemia 1):** Se presenta en el 10 al 30% de los pacientes con cariotipo normal. Pertenece a la familia de factores de transcripción basic helix-loop-helix (bHLH) involucrados en la hematopoyesis [3]. La translocación t(1;14)(p32;q11)(TRA-TAL1) se encuentra en el 3% de estos casos. La fusión SIL-TAL1 se genera por la mutación submicroscópica que fusiona al promotor de SIL con TAL1 para inducir la expresión anormal de TAL1, esta alteración se presenta en el 25% de los casos. El pronóstico es favorable a pesar de ser una LLA-T [8, 11].
- **t(7;10)(q34;q24):** Se encuentra en el 5% de los casos. Los genes involucrados son *TRB* (7q34) y *TLX1* (10q24). *TRB* codifica para un receptor de células T y *TLX1* para un factor de transcripción de la familia HOX que participa en el desarrollo del bazo durante la embriogénesis. La fusión TRB-TLX1 incrementa la expresión aberrante de TLX1 en células T ya que el promotor de TLX1 queda bajo el control de TRB. Es una alteración de buen pronóstico [3, 12, 13].
- **t(11;14)(p15;q11):** Ocurre en menos del 1% de los casos. Involucra a los genes *LMO1* (11p15) y *TRD* (14q11). *TRD* codifica para el receptor delta de células T [3]. Debido a su baja frecuencia, se desconoce la función de la proteína de fusión TRD-LMO1 aunque se considera de buen pronóstico [3, 14].

- **t(11;14)(p13;q11) (TRD-LMO2) o t(7;11)(q35;p13) (TRB-LMO2):** Se presenta en el 5-10% de los casos. Involucra a los genes *LMO2* (11q13) y *TRD* (14q11.2) y en otros casos a *TRB* (7q35). *LMO2* interactúa directamente con *Tal1/Scl* y *GATA1* regulando la hematopoyesis. La fusión *LMO2-TRD* o *TRB* altera los niveles de expresión de *LMO2*, lo que ocasiona una diferenciación anormal de células T [3, 15].

De acuerdo con las características clínicas identificadas al momento del diagnóstico, los pacientes se pueden estratificar en riesgo habitual o alto, de esta manera se puede elegir el esquema de tratamiento (Tabla 3).

Tabla 2. Alteraciones cromosómicas características de los diferentes subtipos de LLA

Subtipo de LLA	Tipo de alteración	Genes involucrados	Riesgo*	Pronóstico
preB	Numérica:			
	Hipodiploidía		Alto [3, 9]	No Favorable [3, 9]
	Hiperdiploidía		Habitual [3, 9]	Favorable [3, 9]
	Estructural:			
	t(12;21)(p13;q22)	<i>ETV6-RUNX1</i>	Habitual [8]	Favorable [8]
	t(1;19)(q23.3;p13)	<i>TCF3-PBX1</i>	Habitual [9]	Favorable [9]
	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR-ABL1</i>	Alto [3, 10]	No Favorable [3, 10]
t(4;11)(q21;q23)	<i>KMT2A-AFF1</i>	Alto [3, 9]	No Favorable [3, 9]	
t(11;19)(q23;p13.3)	<i>KMT2A-MLL1</i>	Alto [3, 9]	No Favorable [3, 9]	
t(1;11)(p32;q23)	<i>KMT2A-EPS15</i>	Alto [3, 9]	No Favorable [3, 9]	
T	Estructural:			
	TAL1	<i>TAL1</i>	Habitual [8, 11]	Favorable [8, 11]
	t(1;14)(p32;q11)	<i>TRA-TAL1</i>	Habitual [8, 11]	Favorable [8, 11]
	t(7;10)(q34;p24)	<i>TRB-TLX1</i>	Habitual [3, 12, 13]	Favorable [3, 12, 13]
	t(11;14)(p15;q11)	<i>LMO1-TRD</i>	Habitual [3, 14]	Favorable [3, 14]
t(11;14)(p13;q11)	<i>LMO2-TCRB/D</i>	Desconocido [3, 15]	Desconocido [3, 15]	

*Los pacientes en riesgo alto reciben un esquema de tratamiento intenso

Tabla 3. Características clínicas de estratificación de riesgo en niños con LLA.

Características al diagnóstico	Riesgo Estándar	Riesgo Alto
Edad (años)	1 a 10 ^[8]	<1 y >10 ^[8]
Cuenta de leucocitos (x10 ⁹ /L)	<50 ^[8]	>50 ^[8]
Inmunofenotipo	preB ^[8]	T ^[8]
Alteraciones numéricas	Hiperdiploidía ^[8]	Hipodiploidía ^[8]
Alteraciones estructurales	t(12;21)(p13;q22) <i>ETV6-RUNX1</i> ^[8] t(1;19)(q23.3; p13) <i>TCF3-PBX1</i> ^[8] Las que involucran a TRB y TRD ^[8] Las que involucran a <i>TAL1</i> ^[8]	t(9;22)(q34;q11) <i>BCR-ABL1</i> ^[8] Las que involucran a <i>KMT2A</i> ^[8]

1.4 Epidemiología de LLA en niños

En niños menores de 18 años, la LLA representa el 80% de las leucemias. La LLA-preB es la más frecuente (80-85%) y la LLA-T (15-20%) la menos frecuente ^[3]. De acuerdo con datos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (Center of Diseases Control and Prevention o CDC) de Estados Unidos de América (EUA) el pico de incidencia de LLA en niños estadounidenses es entre 1 y 4 años de edad ^[16]. En países desarrollados como EUA, Alemania y China, la incidencia (nuevos casos por millón de personas por año) de LLA es alta en niños: 56.5, 56.3 y 30.0 ^[17, 18] a diferencia de la incidencia en países en vías de desarrollo como Zimbawe (20.1), Uganda (8.5) y Sudáfrica (7.9) ^[17].

Se ha observado que la incidencia también varía de acuerdo con la raza o a la etnia. En distintas poblaciones residentes de EUA se ha documentado que la incidencia de LLA en niños hispanos (42.9) es mayor que en caucásicos (34.2), asiáticos (31.6), amerindios (30.2) y afroamericanos (18.7) ^[16]. Estas diferencias también se observan al evaluar la respuesta a la ventana esteroidea, la supervivencia libre de evento (SLE) y la mortalidad; algunos autores han reportado que los niños hispanos y afroamericanos tienen respuestas menos favorables al tratamiento. Para determinar la respuesta a la ventana esteroidea se evalúa el porcentaje de linfoblastos presentes en la médula ósea; si el conteo es menor al 5% la médula ósea se califica como M1 y se considera buena respuesta, si el conteo es mayor al 25% se califica como M3 y se considera mala respuesta y en este caso el pronóstico es desfavorable. Particularmente, se ha observado que los hispanos tienen una pobre respuesta al tratamiento con prednisona por lo que la respuesta a la ventana es mala en comparación con otras poblaciones ^[19] (Tabla 4).

Por otro lado, se ha reportado que la supervivencia libre de evento (SLE) a 1, 5 y 10 años son menores en niños hispanos y afroamericanos en comparación con otras poblaciones [20] (Tabla 4). Algo similar sucede con la frecuencia de mortalidad donde los hispanos presentan una mayor frecuencia en comparación con otras poblaciones [20] (Tabla 4).

Tabla 4. Respuesta a la ventana esteroidea y supervivencia libre de evento en pacientes de distintas poblaciones

Población	Respuesta a la ventana (%)		SLE* (%)			Mortalidad (%)
	M1	M3	1 año	5 años	10 años	
Asiáticos	60 [19]	19.1 [19]	95 [20]	81.4 [20]	77.4 [20]	8.4 [20]
Caucásicos	51 [19]	24.7 [19]	95 [20]	81.4 [20]	81.5 [20]	29.1 [20]
Afroamericanos	56 [19]	25.8 [19]	93.9 [20]	74.4 [20]	74.4 [20]	5.1 [20]
Hispanos	50.5 [19]	30.8 [19]	91.8 [20]	79 [20]	70.7 [20]	57.4 [20]

* Supervivencia Libre de Evento (SLE)

De acuerdo con datos del Programa de Atención Médica del Seguro Popular que recopila información de 57 instituciones certificadas a nivel nacional, en México, las leucemias son el tipo de cáncer más frecuente en niños menores de 18 años (89.5 casos/millón/año) y la LLA es la leucemia de mayor incidencia (79.8 casos/millón/año) dentro de las neoplasias hematopoyéticas como la leucemia mieloide aguda (LMA) (10.8 casos/millón/año), la leucemia mieloide crónica (LMC) (2.5 casos/millón/año) y el síndrome mielodisplásico (SM) (0.87 casos/millón/año) [21]. Con estos datos en los últimos años se ha observado un incremento preocupante en la incidencia de LLA en niños (2010: 62.5 casos/millón/año; 2012: 64.8 casos/millón/año y 2015: 79.8 casos/millón/año) [21, 22, 23].

El incremento en la incidencia de LLA en México, se puede atribuir a diversas variables que engloban factores ambientales (exposición a pesticidas) y biológicos (infecciones en etapas tempranas de la infancia) [21]. Sin embargo, aún se desconocen las causas reales del aumento de la incidencia en nuestra población.

1.5 Etiología de la LLA en niños

Se desconoce con exactitud el origen de la LLA, ya que es una enfermedad multifactorial, pero a pesar de esto se han descrito diferentes factores asociados a su desarrollo en niños [3].

1.5.1 Factores ambientales

De acuerdo con estudios epidemiológicos, la exposición a sustancias químicas o solventes como el benceno, los hidrocarburos, los pesticidas, las pinturas, las radiaciones ionizantes, los campos electromagnéticos y la exposición al tabaco y alcohol durante el embarazo, se consideran como posibles factores de riesgo para el desarrollo de LLA en niños [3].

Los pesticidas son un grupo de compuestos químicos utilizados para controlar la proliferación de plagas como insectos, hierbas y hongos, la exposición a estos se puede dar de manera ocupacional o en el hogar. La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (International Agency for Research on Cancer o IARC) ha clasificado a aproximadamente 20 pesticidas como “posibles” carcinógenos ya que se cuentan con evidencia limitada de la asociación entre la exposición y el desarrollo de neoplasias malignas en humanos. La evidencia del efecto del tetrametrina, butóxido de piperonil y trifuralin sobre el desarrollo de neoplasias en modelo animal es insuficiente. Pesticidas como el propoxur, permetrina y carbaril son considerados como “probables” carcinógenos aunque las evidencias en humanos son limitadas. La clasificación de “probables” se basa en evidencias obtenidas de animales de laboratorio [24].

En diversos estudios de casos y controles se ha reportado la asociación entre el riesgo a desarrollar LLA y la exposición a pesticidas en el hogar principalmente durante el embarazo (OR=2.22). En mujeres y hombres la exposición ocupacional previa a la concepción incrementan el riesgo a desarrollar LLA (OR de 1.01 a 1.2) [24]. La exposición excesiva a permetrina durante el embarazo parece ser un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de leucemia congénita; en el 2003 Borkhardt y colaboradores reportaron el caso de una mujer de 27 años que dio a luz a las 35 semanas de gestación a un infante prematuro con hepatomegalia, hemorragia intracraneal, infiltración en pulmón, hígado, bazo y cutis, con una cuenta de leucocitos de 400,000/ μ L. Al examinar la médula ósea del infante se confirmó el diagnóstico de leucemia mieloide aguda congénita (M5) con t(11;19)(q23;p13.3) (KMT2A-MLLT1) la cual es característica de leucemia en infantes; en este caso la madre sufría de aracnofobia desde niña por lo que usaba permetrina en aerosol constantemente, lo que ocasionó una exposición aguda [25].

En estudios *in vitro* se han encontrado asociaciones entre la exposición a permetrina y malatión con daños estructurales y numéricos en los genes *IGH* y *KMT2A*. Los daños se originan a concentraciones bajas (0.1 μ M) de pesticidas que son similares a las que los

individuos están expuestos por diversas actividades. En este contexto, permetrina causa daños estructurales como rupturas, inversiones paracéntricas y deleciones intersticiales en el gen *IGH*, mientras que el malatión causa rupturas de cromátidas y fusiones del gen *KMT2A* que se atribuyen a deleciones intersticiales y terminales [26].

En el humo del cigarro se han identificado alrededor de 60 compuestos carcinogénicos como benceno, formaldehído, 1-3 butadieno e hidrocarburos policíclicos aromáticos; estos productos causan daño a las células somáticas y germinales a través de la metilación del DNA. Se sugiere que algunos de ellos pueden atravesar la placenta, lo que tendría cierta relevancia en la asociación entre el humo de tabaco y el riesgo a desarrollar LLA infantil cuando las mujeres se exponen durante el embarazo (OR=1.03). La exposición a humo de tabaco en hombres antes de la concepción también se ha asociado con el riesgo a LLA en niños (OR=1.25). La exposición durante el embarazo (OR=1.24) y después del nacimiento (OR=1.24) genera riesgo a desarrollar la enfermedad [24].

Algunos productos del petróleo se han asociado con el desarrollo de LLA en infantes sobre todo si las mujeres embarazadas se exponen a estos (OR=1.42). El riesgo con las pinturas se da por la exposición durante 3 meses previos al embarazo (OR=1.23) [24].

La exposición a radiaciones ionizantes como el tratamiento de neoplasias (linfoma de Hodgkin) o los rayos X, se ha asociado con el incremento de riesgo a desarrollar LMA, LLA y SM [17]. El riesgo por la exposición *in utero* aún es incierto, sin embargo, se ha documentado que los japoneses sobrevivientes a las bombas atómicas de la segunda guerra mundial desarrollaron leucemias y la tasa de mortalidad en menores de 15 años fue de 270 muertes por cada millón de nacimientos. Los datos pueden variar debido a que algunas neoplasias en infantes no fueron diagnosticadas o porque algunas de las muertes no fueron reportadas hasta después de 1950 [27].

La exposición a campos electromagnéticos también se asocia al desarrollo de leucemias y el riesgo se incrementa conforme aumenta la exposición. En EUA (OR=3.44) y Alemania (OR=3.05) el riesgo a LLA fue originado por cantidades mayores de 0.4 microteslas (μ T), sin embargo, en Reino Unido no se encontraron estas asociaciones (OR=1.0) [28, 29].

1.5.2 Factores biológicos

La infección con virus como el virus linfotrópico humano (HTLV) y el de Epstein-Barr (VEB), se ha asociado con el desarrollo de LLA en niños.

El HTLV se ha asociado principalmente con el desarrollo de LLA-T debido a la interacción de proteínas virales como Tax y humanas, esto provoca la desregulación del ciclo celular y la respuesta inmune. Tax interactúa con el factor de transcripción CREB (cAMP response element-binding) y con la histona acetiltransferasa CBP/p300 en el núcleo de los linfocitos T para reprimir la transcripción de p53 y c-Myb que son los responsables de regular el ciclo celular [30].

El VEB ha sido considerado como un factor de riesgo para el desarrollo de LLA en niños de la India ya que presentan una actividad alta de replicación del virus [31]. También se ha asociado con el desarrollo de linfoma de Burkitt en población africana [32]

1.5.3 Factores genéticos

Aproximadamente el 5% de las leucemias agudas se asocian con síndromes genéticos heredados como el síndrome de Down, ataxia telangiectasia y el síndrome de Bloom [33].

El síndrome de Down se origina por la trisomía del cromosoma 21. Los niños con Down presentan deterioro cognitivo con déficit en el aprendizaje y desarrollo del lenguaje, son susceptibles a diversas enfermedades como Alzheimer, patologías oculares, problemas neurológicos, defectos congénitos del corazón, infecciones, desórdenes tiroideos, diabetes mellitus tipo 1, alopecia, pérdida de audición y leucemia. En estos niños el riesgo relativo a desarrollar leucemia infantil es de 20 a 40 veces más que en niños sin Down. La prevalencia de LLA es del 2% y de LAM del 2-14% [34, 35]. Aunque los mecanismos que predisponen al desarrollo de LLA en niños con Down no son claros, se sugiere que la copia extra del cromosoma 21 contribuye a la predisposición ya que en este cromosoma se encuentran los genes que codifican para los receptores del interferón gama (INF- γ) y esto promueve la sobreexpresión del INF- γ que activa la proliferación de progenitores linfoides [35, 36].

La ataxia telangiectasia es una enfermedad progresiva con degeneración neurológica e inmunológica, inestabilidad cromosómica (cromotripsis) y envejecimiento prematuro. La inestabilidad cromosómica provoca la ruptura espontánea de los cromosomas en linfocitos y fibroblastos, lo que ocasiona un incremento del 40% en el riesgo a desarrollar leucemia y del 85% para el desarrollo de linfomas. Individuos con mutaciones en los dos alelos del gen *ATM* desarrollan ataxia telangiectasia [37].

El síndrome de Bloom, es una enfermedad autosómica recesiva de baja incidencia que se origina por mutaciones que inactivan al gen *BLM*. La proteína BLM pertenece a una familia de helicasas que protegen la integridad del genoma evitando la formación de estructuras aberrantes; cuando BLM se inactiva se favorece el daño al DNA lo que origina el desarrollo de neoplasias. Hasta el momento se han identificado alrededor de 60 mutaciones sin sentido y de sentido erróneo en BLM [38].

Recientemente se han descrito variantes genéticas heredadas que podrían contribuir indirectamente en el riesgo a desarrollar LLA en niños. Dentro de estas variantes se describen a los polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) en diferentes genes como: el rs4132601 de *IKZF1*, el rs7088318 de *PIP4K2A*, el rs4982731 de *CEBPE*, el rs3731217 de *CDKN2A*, el rs10821936 y rs7089424 de *ARID5B* y el rs3824662 de *GATA3* [39, 40, 41, 42].

1.6 Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs)

La frecuencia de los polimorfismos en la población mundial es mayor al 1% a diferencia de las mutaciones en donde la frecuencia es menor al 1%. En el caso de los SNPs se sustituye un nucleótido por otro en una posición específica dentro del genoma (Figura 2) [43]. Los SNPs son el tipo de polimorfismo más frecuentes, se estima que cada 100 o 300 pares de bases (pb) hay un SNP sumando en total aproximadamente 10 millones de SNPs a lo largo del genoma [44, 45].

Los SNPs generan diversidad genética entre individuos y entre especies por la presencia de formas alternativas del mismo gen (alelos). Con base en la frecuencia de los alelos en la población mundial, estos se pueden denominar como alelos silvestres que son los de mayor prevalencia en la población mundial y como alelos mutantes porque son los de menor prevalencia [44, 45].

De acuerdo con la presencia de uno u otro de los alelos que para cuestiones prácticas se denominan A y B, se generan tres genotipos: homocigoto del alelo A, heterocigoto alelos AB y homocigoto del alelo B [44].

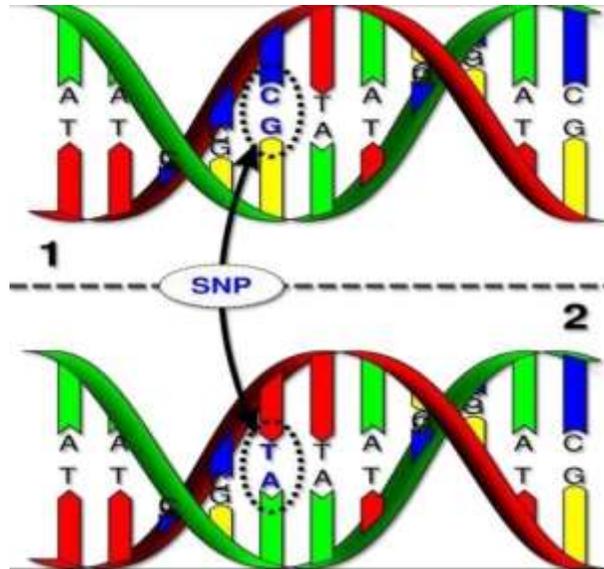


Figura 2. Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP. Se genera por la sustitución de un nucleótido por otro en una posición específica del genoma. En las cadenas positivas (5' a 3') del DNA 1, se observa el cambio por una citosina (C) y en la secuencia del DNA 2, el cambio es por una timina (T). Imagen recuperada del sitio web: <http://knowgenetics.org/snps/>

1.6.1 Clasificación de los SNPs

Los SNPs se clasifican en 3 grupos de acuerdo a la posición en donde se encuentren dentro del gen:

- SNPs en zonas reguladoras (rSNP): Se localizan en regiones promotoras y afectan los niveles de expresión génica. Se sugiere que interfieren en la unión de factores de transcripción por la modificación o destrucción de los sitios de reconocimiento [45, 46].
- SNPs en RNAs estructurales (srSNP): Se localizan en intrones, en las regiones 5'UTR y 3'UTR afectando la estructura y función del RNA. Los que se localizan en intrones pueden alterar el proceso de eliminación de intrones y empalme de exones (splicing). Los que se localizan en la región 5'UTR puede alterar la traducción y si se encuentra en la región 3'UTR alteran la estabilidad o polidadenilación del RNA mensajero (RNAm) [45, 46].
- SNPs en zonas codificantes (cSNP): Se localizan en los exones y pueden ser sinónimos (sSNP) o no sinónimo (nsSNP). En los sSNP se cambia uno de los

nucleótidos del codón sin alterar la síntesis del aminoácido. En los nsSNP si hay cambios en la secuencia del codón y en la síntesis del aminoácido, estos se pueden clasificar como “sin sentido o nonsense” ya que se genera un codón de paro y la síntesis de una proteína incompleta o “de sentido erróneo o missense” porque se genera un aminoácido diferente que puede afectar la estructura o función de la proteína [45, 46].

1.6.2 Utilidad de los SNPs

En la actualidad los SNPs se utilizan como marcadores genéticos para establecer patrones y procesos evolutivos, debido a que se puede determinar el flujo genético entre poblaciones calculando la cantidad de entrecruzamientos entre grupos de la misma especie. En el área forense y jurídica, se utilizan para establecer huellas génicas que permiten la identificación de individuos y de parentesco entre individuos respectivamente. En el campo de la medicina, son de gran utilidad en la farmacogenómica porque se pueden identificar SNPs para el metabolismo de fármacos entre diferentes individuos [44].

Un aspecto importante de los SNPs, es su reciente asociación con la susceptibilidad a desarrollar algunas enfermedades como esquizofrenia, hernia de disco lumbar e infarto al miocardio.

En pacientes con esquizofrenia, la presencia del alelo mutante T de los SNPs rs2283265 y rs1076560 del gen *DRD2* (Receptor de dopamina D2) reduce de manera significativa ($p < 0.01$) la producción de la proteína DRD2, por lo que se disminuye su unión con las proteínas SRP40 y SRP55 afectando así la actividad neuronal [47].

Los alelos de riesgo T y G de los SNP rs9406328 y rs17576 de los genes *THBS2* (Thrombospondin 2) y *MMP9* (Metallopeptidase 9) se han asociado con el riesgo a desarrollar hernia de disco en población japonesa (OR=1.43; $p=4 \times 10^{-4}$ y OR=1.29; $p=4.9 \times 10^{-4}$ respectivamente). El rs9406328 disminuye la interacción con MMP9 que en conjunto remodelan la matriz extracelular. Para el SNP rs17576 aún se desconoce el mecanismo, pero se asocia con presencia de hernias lumbares [48].

Los SNPs rs5883 (alelo T) y rs9930761 (alelo C) del gen *CETP* (Colesterol éster transferasa), se han asociado significativamente con el riesgo a desarrollar infarto agudo al miocardio, apoplejía y muerte en población masculina caucásica (OR=2.36; $p=0.0051$ y OR=2.16; $p=0.008$ respectivamente) [49].

1.7 SNP asociados con la susceptibilidad a desarrollar LLA en niños

Diversos SNPs en diferentes genes como *IKZF1*, *CEPBE*, *CDKN2A*, *PIP4K2A*, *GATA3* y *ARID5B* han sido asociados con el riesgo a desarrollar LLA [39, 40, 41, 42, 50] (Tabla 5).

Entre poblaciones existen diferencias en cuanto a las frecuencias de los alelos de riesgo,

también hay variabilidad en el nivel de asociación entre los SNPs y el riesgo a LLA (Tabla 5). En algunos casos los resultados de asociación son contradictorios, ya que en ciertas poblaciones los SNPs no confieren riesgo ^[51].

1.7.1 SNPs en el gen *IKZF1*

El gen *IKZF1* (IKAROS Family Zinc Finger 1) se localiza en la banda cromosómica 7p12.2, tiene un tamaño de 108,019 pb y consta de 8 exones. Codifica para la proteína IKZF1 que pertenece a la familia de factores de transcripción con dedos de zinc IKAROS ^[52]. *IKZF1* se expresa en etapas tempranas de la linfopoyesis y se encarga de regular la diferenciación y maduración de los linfocitos ^[53, 54].

Algunos de los SNPs asociados al desarrollo de la LLA (Tabla 5) son el rs4132601, el cual presenta una mayor asociación en niños de Túnez ^[55] en comparación con niños caucásicos ^[50, 56, 57] e hispanos de EUA ^[39]. De manera exclusiva, los SNPs rs11980379, rs716719 y rs6952409 han sido asociados con población hispana ^[39], mientras que los SNPs rs10235796 y rs69644823 se asocian en niños de Yemen ^[58] e India ^[59] respectivamente. El SNP rs11978267 ha sido asociado en niños caucásicos, afroamericanos e hispanos ^[42], de manera interesante en población caucásica de EUA dicho SNP se ha sido asociado con el riesgo a desarrollar LLA-preB hiperdiploide ^[57] y con el riesgo a desarrollar LLA-T ^[41], aunque esta última asociación se ha tomado con reserva ya que en otras cohortes de niños caucásicos no confiere asociación debido al número pequeño de pacientes analizados ^[57].

1.7.2 SNPs en el gen *PIP4K2A*

El gen *PIP4K2A* (Phosphatidylinositol-5-Phosphato 4-Kinasa Type 2 Alpha) se localiza en la banda cromosómica 10p12.2, tiene un tamaño de 179,738 pb y está constituido por 13 exones ^[60, 61]. Codifica para una enzima de la familia de las cinasas que catalizan la fosforilación del fosfatidilinositol-5-fosfato para formar el fosfatidilinositol-5,4-bifosfato. En el citosol, PIP4K2A incrementa la actividad de la proteína AKT (proteína B cinasa) alterando la vía de señalización PI3K/ATK que participa de manera importante en la leucomogénesis ^[62].

La presencia del SNP rs7088318 confiere mayor riesgo de desarrollar LLA en niños hispanos en comparación con afroamericanos, asiáticos y caucásicos residentes de EUA ^[62]. Los SNPs rs4748793 y rs7912551 afectan más a población caucásica en comparación con los hispanos ^[62, 63]. Por otro lado, los SNPs rs10741006 y rs4748812 afectan más a la población hispana que la población caucásica ^[63]. De manera exclusiva el SNP rs10828317 se asocia con el desarrollo de LLA en niños europeos ^[40].

1.7.3 SNPs en el gen *CEBPE*

El gen *CEBPE* (CCAAT enhancer binding protein epsilon) se localiza en la banda cromosómica 14q11.2, tiene un tamaño de 2,682 pb y se compone de dos exones [64]. La proteína CEBPE es un factor de transcripción que reconoce el motivo CCAAT en los promotores. Es una proteína esencial para la diferenciación y función de las células progenitoras de los granulocitos [65].

La presencia del SNP rs4982731 representa un mayor riesgo a desarrollar LLA en niños hispanos [39, 42] en comparación con caucásicos [42]. De manera exclusiva los SNPs rs10143875 y rs17794251 han sido asociados exclusivamente con hispanos residentes de EUA [39], mientras que el SNP rs2239633 se ha asociado con niños caucásicos de Reino Unido [56].

1.7.4 SNPs en el gen *CDKN2A*

El gen *CDKN2A* (Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) se ubica en la banda cromosómica 9p21.3, tiene un tamaño de 27,550 pb, consta de 8 exones y codifica para la proteína *CDKN2A* [66]. Algunas isoformas de *CDKN2A* funcionan como estabilizadores de la proteína supresora de tumores p53 y otras inhiben a la cinasa CDK4 para participar en la progresión del ciclo celular [67].

El SNP rs11978267 se ha asociado con el riesgo a desarrollar LLA en niños europeos [50], mientras que el SNP rs3731246 se asocia con población asiática de Yemen [58].

1.7.5 SNPs en el gen *GATA3*

El gen *GATA3* (GATA binding protein 3) se localiza en la banda cromosómica 10p14, tiene un tamaño de 29,824 pb y consta de 8 exones [68]. Codifica para el factor de transcripción GATA3 que activa la transcripción de los genes receptores alfa y delta de los linfocitos T, se une al T-helper 2 (Th2) para activar la respuesta inmune inflamatoria y contribuye a determinar la identidad de las células hemtopoyéticas [69].

Pocos son los SNPs que se han descrito para *GATA3*, entre ellos están el rs3824662 [40] y rs3781093 [70] que se han asociado con el riesgo a desarrollar LLA en niños europeos.

1.7.6 SNPs en el gen *ARID5B*

Varios SNPs de *ARID5B* (Tabla 6) han sido asociados con la susceptibilidad a desarrollar LLA en niños de diversas poblaciones.

El SNP rs10821936 ha sido ampliamente reportado en diferentes poblaciones y el riesgo a desarrollar LLA es similar entre distintas poblaciones pediátricas [42, 71, 72, 73, 74] incluida los pacientes mexicanos [75]; este SNP también ha sido asociado con el desarrollo de LLA pre-B hiperdiploide en niños caucásicos estadounidenses y europeos [57], y mexicanos [75].

Otros SNPs como rs7089424 y el rs10994982 fueron asociados en hispanos [39, 50, 72, 76], de manera interesante el SNP rs10994982 también se ha asociado con el riesgo a desarrollar LLA-preB hiperdiploide en pacientes caucásicos de EUA y Europa [41, 57] y con mexicanos [75].

De acuerdo con datos de Xu y colaboradores los SNPs rs2393732, rs17215180 y rs2393782, solo representan riesgo a desarrollar LLA en niños hispanos residentes de EUA [72]; también se ha reportado que los SNPs rs9415636, rs10994983, rs7087125, rs6415872, rs7922394 y rs10740055 se asocian específicamente con niños caucásicos [57, 72].

De manera exclusiva el SNP rs7073837 solo se ha asociado con población asiática [77].

Tabla 5 SNPs asociados con el riesgo a desarrollar LLA en población pediátrica.

Gen	ID del SNP	Alelo de riesgo	Riesgo a desarrollar LLA en niños							
			Caucásicos		Hispanos		Negros		Asiáticos	
			OR* (95% de IC**)	p***	OR* (95% de IC**)	p***	OR* (95% de IC**)	p***	OR* (95% de IC**)	p***
IKZF1	rs4132601	C	1.69 (1.58-1.81) ^[56]	1.2x10 ⁻¹⁹	1.47 (1.17-1.85) ^[39]	0.0009	2.78 (1.42-5.87) ^[55]	0.0011		
			1.40 (1.10-1.70) ^[50]	<0.01						
			1.34 (1.11-1.61) ^[57]	0.002						
	rs11978267	G	1.67 (1.49-1.87) ^[42]	8.3x10 ⁻¹⁹	1.31 (1.07-1.61) ^[42]	0.0100	1.59 (1.15-2.18) ^[42]	0.0050		
			2.32 (1.30-1.92) & ^[57]	5.0x10 ⁻⁶						
			2.63 (1.50-4.50) [†] ^[41]	0.0010						
	rs11980379	G			1.47 (1.17-1.85) ^[39]	0.0009				
rs716719	A			1.38 (1.12-1.69) ^[39]	0.0020					
rs6952409	A			1.41 (1.11-1.78) ^[39]	0.0040					
rs10235796	C							2.50 (1.41-4.42) ^[58]	0.0020	
rs69644823	A							1.50 (1.00-2.30) ^[59]	0.0400	
PIP4K2A	rs7088318	T	1.24 (1.14-1.35) ^[62]	<0.001	1.48 (1.21-1.80) ^[62]	<0.001	1.29 (1.12-1.49) ^[62]	<0.001	1.24 (1.05-1.46) ^[62]	<0.001
	rs10741006	C	1.29 (1.20-1.40) ^[63]	2.9x10 ⁻⁷	1.37 (1.28-1.47) ^[63]	3.7x10 ⁻¹¹				
	rs4748793	T	1.38 (1.24-1.55) ^[62]	<0.0010	1.23 (1.06-1.43) ^[62]	<0.004				
	rs7912551	T	1.32 (1.22-1.43) ^[63]	7.1x10 ⁻⁸	1.33 (1.23-1.41) ^[63]	5.0x10 ⁻⁹				
	rs4748812	A	1.30 (1.20-1.40) ^[63]	1.8x10 ⁻⁷	1.32 (1.24-1.41) ^[63]	5.9x10 ⁻¹⁰				
	rs10828317	T	1.23 (1.15-1.32) ^[40]	2.3x10 ⁻⁹						
CEBPE	rs4982731	C	1.29 (1.15-1.45) ^[42]	9.05x10 ⁻⁶	1.58 (1.31-1.91) ^[39]	2.3x10 ⁻⁶				
					1.69 (1.37-2.08) ^[42]	1.1x10 ⁻⁶				
	rs2239633	G	1.34 (1.22-1.45) ^[56]	2.8x10 ⁻⁷						
	rs10143875	A			1.67 (1.36-2.07) ^[39]	1.6x10 ⁻⁶				
rs17794251	A			1.53 (1.24-1.88) ^[39]	6.2x10 ⁻⁵					
CDKN2A	rs3731246	C							1.55 (1.12-2.13) ^[58]	0.007
	rs11978267	T	1.43 (1.21-1.69) ^[50]	3.2x10 ⁻⁵						
GATA3	rs3824662	T	1.31 (1.21-1.41) ^[40]	8.6x10 ⁻¹²						
	rs3781093	C	1.73 (1.44-2.08) ^[70]	3.2x10 ⁻⁹						

*Odd ratio; **Intervalo de confianza del 95%; ***Valores de p de las pruebas estadísticas; &LLA-preB hiperdiploide; †LLA-T.

Tabla 6. SNPs del gen *ARID5B* asociados con el riesgo a desarrollar LLA en población pediátrica.

ID del SNP	Alelo de riesgo	Riesgo a desarrollar LLA en niños											
		Caucásicos				Hispanos				Afroamericanos			
		FA* controles	FA* pacientes	OR**	p***	FA* controles	FA* pacientes	OR**	p***	FA* controles	FA* pacientes	OR**	p***
rs10821936	C	0.33	0.48	1.88 [42]	6.9x10 ⁻³⁰	0.47	0.63	1.95 [42]	3.7x10 ⁻¹¹	0.18	0.33	2.09 [71]	0.0015
		0.33	0.48	1.83 [72]	8.3x10 ⁻²⁰	0.50	0.66	1.90 [73]	<0.01	0.33	0.48	1.52 [42]	0.004
		0.29	0.34	1.67 [75]	0.028	0.47	0.62	1.82 [72]	1.0x10 ⁻⁶				
				2.94 ^{&} [57]	1.0x10 ⁻⁹			2.06 [75]	1.7x10 ⁻¹⁰				
rs10994982	A	0.50	0.58	1.46 [72]	1.0x10 ⁻⁶	0.57	0.70	1.70 [76]	1.3x10 ⁻⁵				
		0.49	0.69	1.72 [41]	0.003			1.93 ^{&} [75]	0.0114				
				1.81 ^{&} [78]	0.0001								
rs7089424	G	0.25	0.34	1.72 [76]	1.0x10 ⁻⁶	0.49	0.66	2.12 [39]	2.0x10 ⁻¹¹				
			0.31	1.33 [50]	0.003			2.00 [73]	<0.01				
rs2893881	C	0.14	0.18	1.33 [72]	0.001	0.30	0.34	1.29 [72]	0.0423				
								1.47 [39]	7.59x10 ⁻¹⁴				
rs4948488	C	0.16	0.20	1.26 [72]	0.0043	0.41	0.46	1.28 [72]	0.0345				
								1.26 [39]	0.0043				
rs10821938	A	0.42	0.54	1.64 [72]	1.4x10 ⁻¹⁴	0.54	0.68	1.80 [72]	2.9x10 ⁻⁶				
rs7923074	T	0.42	0.54	1.60 [72]	1.5x10 ⁻¹³	0.53	0.68	1.88 [72]	4.6x10 ⁻⁷				
rs6479778	T	0.14	0.18	1.29 [72]	0.0029	0.29	0.33	1.32 [72]	0.0296				
rs7896246	A	0.33	0.48	1.83 [72]	1.0x10 ⁻¹⁹	0.47	0.61	1.4 [72]	5.4x10 ⁻⁶				
rs4948487	C	0.51	0.55	1.18 [72]	0.0096	0.56	0.59	1.28 [72]	0.0457				
rs6479779	C	0.38	0.41	1.17 [72]	0.013	0.40	0.46	1.27 [72]	0.0364				
rs2393732	T					0.23	0.27	1.40 [72]	0.0126				
rs17215180	C					0.70	0.74	1.37 [72]	0.0181				
rs2393782	G					0.27	0.30	1.32 [72]	0.0290				

***Valores de *p* de las pruebas estadísticas; [&]LLA-preB hiperdiploide

1.8 Gen *ARID5B*

El gen *ARID5B* (AT-Rich Interaction Domain 5B) se ubica en la banda cromosómica 10q21.2, tiene un tamaño de 195,695 pb, consta de 10 exones y codifica para el factor de transcripción *ARID5B* que pertenece a la familia *ARID* [79, 80]. La familia *ARID* de proteínas de unión al DNA, está compuesta por las subfamilias *ARID1*, *ARID2*, *ARID3*, *ARID4*, *ARID5*, *JARID1* y *JARID2* que contienen más de un miembro, hasta el momento se han descrito 15 proteínas que comparten el dominio conservado *ARID* (AT-rich domain) [80] (Figura 3). El dominio *ARID* se une a la secuencia central 5'-AATA[C/T]-3' y participa en la adipogénesis y desarrollo del hígado. También es importante para el crecimiento y diferenciación de progenitores de linfocitos B, remodelación de cromatina, regulación de genes durante el ciclo celular [80].

El tamaño de *ARID5B* es de 1,188 aminoácidos (aa) y mediante splicing alternativo se generan 2 isoformas incompletas (318 y 945 aa) [81]. *ARID5B* forma un complejo con la proteína *PHF2* (*PHF2-ARID5B*) que interviene en la desmetilación de la histona H3 (H3K9me2), lo que permite regular el metabolismo de triglicéridos en los adipocitos, también regula la diferenciación y proliferación de células en el músculo liso [80].

Para determinar la función biológica de *ARID5B in vivo* (modelo murino), mediante recombinación homóloga se han inducido mutaciones en el dominio *ARID* para generar ratones knockout *ARID5B*^{-/-}, en estos ratones no se afecta el desarrollo embrionario pero si se altera la viabilidad celular ocasionando crecimiento retardado y mortalidad en el 50% de los ratones. Se sugiere que la vía del factor de crecimiento de la insulina (IFG) esta alterada en los ratones *ARID5B*^{-/-} lo que ocasiona modificaciones en la acción de la hormona de crecimiento (GH) después del nacimiento por lo que se reduce su viabilidad. Los ratones hembra presentaron atrofia del endometrio por la disminución del estrógeno y ausencia de progesterona y en los machos hay anomalías en el descenso de los testículos por la criptorquidia. También se presentan alteraciones inmunológicas a las tres semanas de edad como reducción en el número de células en médula ósea, bazo y timo. En el timo se reduce el porcentaje de timocitos CD4⁺CD8⁺ (*ARID5B*^{+/+}=77.5% vs *ARID5B*^{-/-}=15.9%) y en médula ósea se disminuye el número de células B200⁺IgM⁻ (*ARID5B*^{+/+}=38.7% vs *ARID5B*^{-/-}=9.0%), estos tipos celulares son importantes en la diferenciación de células progenitoras B por lo que la diferenciación de esta estirpe celular se ve alterada. A las 4 semanas de edad, se observa reducción en el bazo y daños estructurales en el timo [82].

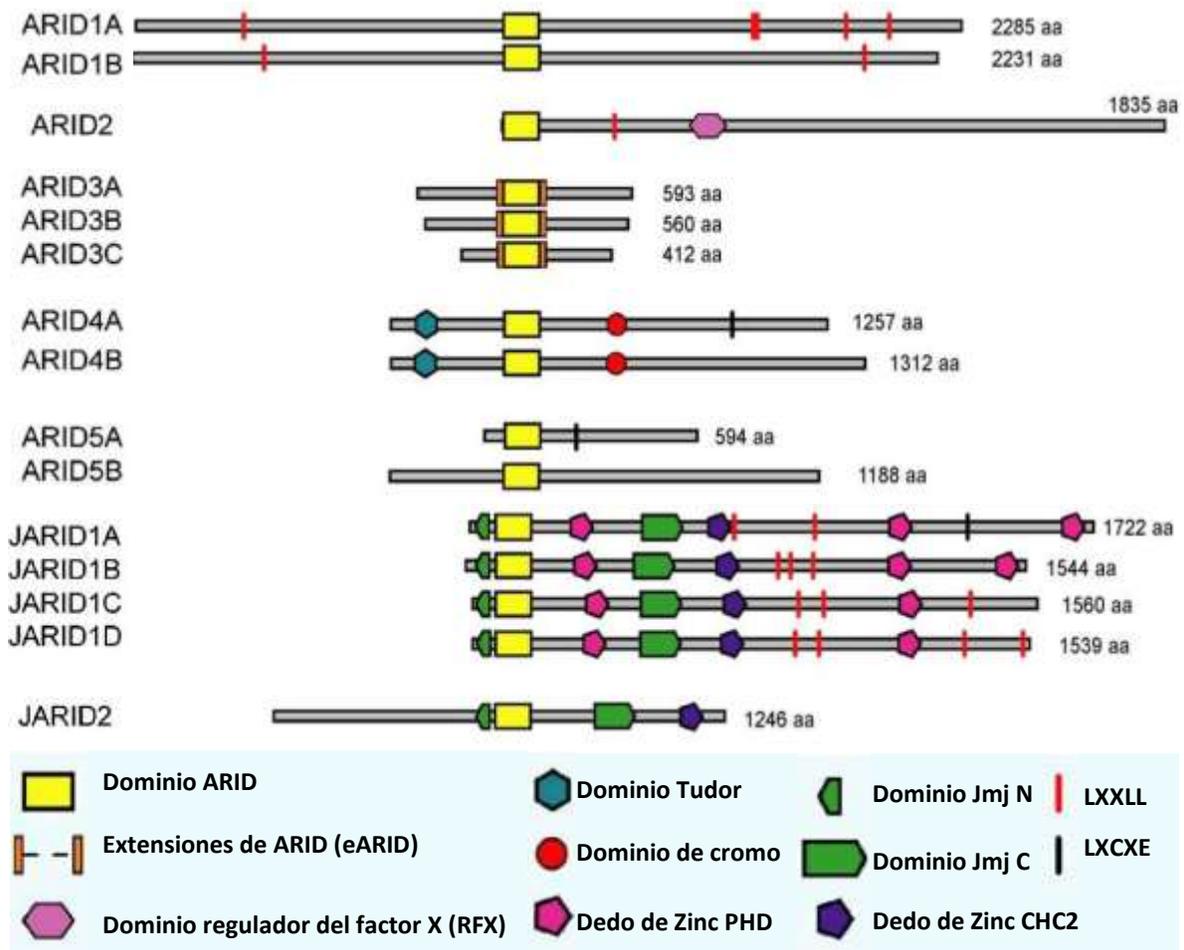


Figura 3 Miembros de la familia ARID. La familia está compuesta por 7 subfamilias que comparten el dominio ARID (rectángulo amarillo) y cada una de ellas está compuesta por al menos un miembro. ARID1 y ARID2 participan en la remodelación de la cromatina. ARID3 se expresa de manera importante en células B maduras. ARID4 participan en la represión transcripcional por medio de los cromodominios. ARID5 regula la adipogénesis y el desarrollo del hígado, además de la linfopoyesis. JARID1 actúa como represor transcripcional durante la meiosis. JARID2 regula la proliferación celular. *Imagen tomada y modificada de Wilsker, 2005* ^[80].

1.9 SNPs del gen *ARID5B* asociados con recaída en niños con LLA

De todos los SNPs del gen *ARID5B* que han sido asociados con la susceptibilidad al desarrollo de LLA en niños, hasta el momento solo 8 muestran asociación con el riesgo a presentar recaída en pacientes pediátricos caucásicos e hispanos residentes de EUA [72] (Tabla 7). Es indispensable realizar más estudios para determinar el impacto de estos SNPs en el pronóstico de los pacientes, sobre todo en relación a la presencia de eventos adversos particularmente la recaída y al mismo tiempo conocer el impacto que tienen en la supervivencia.

Tabla 7. SNPs de *ARID5B* asociados con la presencia de recaída en niños con LLA.

ID del SNP	Alelo de riesgo	Frecuencia alélica		Riesgo a recaída	
		Caucásicos	Hispanos	HR*	<i>p</i> **
rs6479778	T	0.14	0.29	1.48	8.1x10 ⁻⁵
rs2893881	C	0.14	0.30	1.45	1.1x10 ⁻⁴
rs4948488	C	0.16	0.41	1.41	2.6x10 ⁻⁴
rs2393782	G	0.12	0.27	1.35	0.0087
rs10821938	A	0.42	0.54	1.20	0.0298
rs7923074	T	0.42	0.53	1.20	0.0391
rs6479779	C	0.38	0.40	1.20	0.0419
rs17215180	C	0.53	0.70	1.22	0.0494

*Riesgo a presentar recaída durante el tiempo de seguimiento (Hazard ratio, HR>1); **Valores de *p* estadísticamente significativos (<0.05); Tabla tomada y editada de Xu, 2012 [72].

1.10 Eventos adversos en niños con LLA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), es aquel evento desfavorable, no deseado e imprevisto que se presenta durante el tratamiento de una enfermedad, compromete la salud e integridad del paciente [83].

En la LLA pediátrica se han identificado 4 eventos adversos:

- 1) **Recaída:** Es la reaparición de linfoblastos en médula ósea (sitio más frecuente), SNC, testículo y/u otros sitios extra-medulares. Ocurre en cualquier etapa del tratamiento, ya sea durante la inducción, consolidación, mantenimiento o vigilancia [3]. Se calcula que la frecuencia de este evento es de 15-20% en países desarrollados, mientras que en países en

vías de desarrollo el porcentaje puede ser de hasta el 30%; el porcentaje de éxito del tratamiento post-recaída es de aproximadamente el 25% y los medicamentos que se recomiendan son vincristina, daunorrubicina, prednisona y L-asparaginasa [84]. En México, específicamente en pacientes del Instituto Nacional de Pediatría (INP), la frecuencia de recaída es del 25.7% [85].

- 2) Falla al tratamiento: Se determina falla cuando al final de la inducción se detecta en la médula ósea un porcentaje de linfoblastos igual o mayor al 5%. En pacientes mexicanos del INP se reporta una frecuencia de falla al tratamiento del 2.6% [86].
- 3) Segunda neoplasia: Puede tener el mismo o diferente tipo histológico en relación a la primera neoplasia, puede ocurrir en el mismo órgano o en diferentes y el evento oncogénico de origen es independiente del de la primera neoplasia. La segunda neoplasia se puede originar durante la etapa de tratamiento o en supervivientes, en el caso de los supervivientes, ellos corren el riesgo de desarrollar neoplasias malignas secundarias durante la edad adulta [87].
- 4) Defunción relacionada con la enfermedad: Es el deceso de un paciente por causas específicamente relacionadas con la LLA. La defunción se puede presentar en cualquier etapa del tratamiento oncológico como en la inducción, la consolidación y el mantenimiento [88]. La mortalidad de niños con LLA del INP es del 6.2% [86].

2. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con datos del Programa Nacional de Atención Médica del Seguro Popular, la LLA es el cáncer más frecuente en menores de 18 años y su incidencia es mayor a lo reportado en otros países. Por otro lado, aún con la aplicación de tratamientos oncológicos de última generación, todavía el 25.7% de los pacientes pediátricos en nuestro país presentan eventos adversos principalmente la recaída.

Hasta el momento se desconoce el impacto de la presencia de los alelos de riesgo de los SNPs de *ARID5B* sobre la susceptibilidad a desarrollar LLA y el riesgo de recaída en nuestra población ya que en los reportes de hispanos no se especifica la proporción de mexicanos incluidos en esos estudios.

Por lo que es necesario conocer el papel que juegan los SNPs de *ARID5B* particularmente el SNP rs4948488 en el desarrollo de LLA y el riesgo de presentar recaída en niños mexicanos; esto ayudaría a entender la etiología de la enfermedad desde un punto de vista del fondo genético de los mexicanos y se podrían identificar marcadores genéticos heredados que contribuyen en el riesgo a presentar recaída en nuestra población.

3. HIPÓTESIS

Las frecuencias del alelo de riesgo y del homocigoto de riesgo del SNP rs4948488 serán mayores en pacientes pediátricos con LLA en comparación con las de los controles.

El alelo de riesgo C del SNP rs4948488 del gen *ARID5B* se asociará con la susceptibilidad para el desarrollo de LLA en niños mexicanos.

La presencia del alelo de riesgo C del SNP rs4948488 se asociará con la aparición de recaída y con una menor supervivencia libre de recaída en pacientes pediátricos mexicanos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Determinar la posible asociación entre el alelo de riesgo del SNP rs4948488 del gen *ARID5B* con la susceptibilidad a desarrollar leucemia linfoblástica aguda (LLA) y el riesgo a presentar recaída en pacientes pediátricos.

4.2 Objetivos particulares:

- Calcular las frecuencias genotípicas y alélicas en controles y pacientes pediátricos con LLA.
- Analizar la posible asociación entre la presencia del alelo de riesgo del SNP rs4948488 con la susceptibilidad a desarrollar LLA en niños
- Demostrar si la presencia del alelo de riesgo del SNP rs4948488 se asocia con el riesgo a presentar recaída así como la supervivencia libre de recaída en pacientes pediátricos con LLA.

5. METODOLOGÍA

5.1 Población de estudio

Controles

Para este trabajo se reclutaron 350 voluntarios no relacionados con los pacientes, seleccionados al azar de población abierta y del banco de sangre del INP, durante el período de enero de 2012 a agosto de 2017.

Mediante una entrevista directa con los voluntarios mayores de edad, los padres o tutores legales de los niños menores de 18 años, se colectó información personal (Anexo 1) que fue depositada en una base de datos para su posterior análisis. Toda la información de la base de datos estuvo protegida por el investigador responsable del proyecto.

Criterios de inclusión

- Voluntarios sanos niños y adultos.
- Voluntarios sin antecedentes familiares de cáncer hematológico.
- Voluntarios con padres y abuelos nacidos en México.
- Voluntarios mayores de edad, padres o tutores legales de los voluntarios menores de edad, que aceptaron participar mediante la firma de una Carta de Consentimiento o Asentimiento informado (Anexo 2).

Criterios de exclusión

- Voluntarios con material biológico (saliva o sangre) insuficiente para la extracción de material genético (DNA genómico).
- Voluntarios con DNA genómico degradado.
- Voluntarios con DNA genómico insuficiente para realizar la genotipificación.

Criterios de eliminación

- Voluntarios con antecedentes familiares de cáncer hematológico confirmados.
- Voluntarios con padres y abuelos nacidos en otro país distinto a México.

Pacientes

Durante el período de enero de 2012 a agosto de 2017 se reclutaron 323 pacientes pediátricos con diagnóstico confirmado de LLA (preB y T) que se encontraban en cualquier etapa de la

enfermedad (diagnóstico, tratamiento, recaída, vigilancia). En los Servicios de Hematología y Oncología del INP se captaron 274 pacientes y en los Servicios de Hematología y Oncología del Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, se captaron 49 pacientes. Mediante una entrevista directa con los padres o tutores legales de los pacientes, se colectó información personal e información de los expedientes clínicos (Anexo 1) que fue depositada en una base de datos para su posterior análisis. La información de la base de datos estuvo protegida por el investigador responsable del proyecto.

Criterios de inclusión

- Niños menores de 18 años con diagnóstico de LLA confirmado por criterios clínicos, citomorfológicos e inmunológicos.
- Pacientes pediátricos con padres y abuelos nacidos en México.
- Pacientes, padres o tutores legales que aceptaron participar en el proyecto mediante la firma de una Carta de Consentimiento o Asentimiento informado (Anexo 3).

Criterios de exclusión

- Pacientes con material biológico (saliva) insuficiente para la extracción de material genético (DNA genómico).
- Pacientes con DNA genómico degradado.
- Pacientes con DNA genómico insuficiente para realizar la genotipificación.

Criterios de eliminación

- Pacientes con diagnóstico diferente a la LLA.
- Pacientes en los que no se pudo tener acceso al expediente para recopilar la información clínica y/o los datos de seguimiento.
- Pacientes con padres y abuelos nacidos en otro país distinto a México.

5.2 Obtención de muestras biológicas

A todos los controles, pacientes, padres o tutores legales de los voluntarios o pacientes menores de 18 años, se les invitó a participar en el estudio mediante una plática informativa del proyecto, aspectos de la toma de su muestra y la importancia de su participación; se resolvieron dudas y se les aclaró que su participación era voluntaria, si accedían a participar entonces debían firmar la Carta de Consentimiento Informado (voluntarios mayores de edad, padres o tutores legales de los voluntarios o pacientes menores de 12 años) o Carta de Asentimiento Informado (voluntarios o pacientes entre 12 y 18 años) según correspondiera (Anexo 1 y 2).

Este trabajo de tesis, forma parte de un proyecto de investigación que fue revisado y aprobado por los Comités de Investigación y Ética del INP de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. El número de registro del proyecto es: INP 085/2012.

A la mayoría de los controles se les tomó una muestra de sangre periférica a través de venopunción en el brazo utilizando tubos de extracción al vacío con anticoagulante EDTA (Becton Dickinson & Company Vacutainer®, CDMX, México), a una proporción pequeña de controles se les tomó una muestra de saliva (aproximadamente 2 mL) empleando el kit comercial Oragene® DNA OG-500 (DNA Genotek Inc.®, Otawwa, ON, Canadá) (Anexo 4). Las muestras de sangre se almacenaron a temperatura ambiente por un periodo máximo de 24 hrs. antes de llevar a cabo la extracción del DNA genómico. Las muestras de saliva se almacenaron a temperatura ambiente protegidas del polvo hasta llevar a cabo la extracción de DNA genómico.

A todos los pacientes se les tomó una muestra de saliva con el kit que se mencionó anteriormente y las muestras se almacenaron de la manera ya descrita.

Para resguardar y proteger la identidad y datos de los participantes, las muestras fueron etiquetadas con una clave para controles o pacientes según correspondiera.

5.3 Extracción de DNA genómico

Muestras de sangre: Para la extracción de DNA genómico, se utilizó el kit comercial QIAmp DNA Blood Mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany). El procedimiento se realizó de acuerdo con las instrucciones del manual proporcionado por el proveedor (Anexo 5).

Muestras de saliva: Para la extracción de DNA genómico se utilizó el kit comercial prepIT-L2P kit (DNA Genotek Inc. Ottawa, ON, Canadá). El procedimiento se realizó de acuerdo con protocolo establecido (Anexo 6).

La calidad e integridad del DNA genómico se verificó mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% teñidos con el agente intercalante GelRed™ (Biotum®, Fremont, CA, EUA). En cada uno de los pozos se cargaron 2 µL de DNA genómico con 3 µL de buffer de carga (Azul de bromofenol al 0.25% y glicerol al 30%), se corrió a 100 volts por 40 minutos. Se visualizó con luz ultravioleta (UV) utilizando el fotodocumentador GelDoc-It Imaging System (UVP, Cambridge, United Kingdom) y se capturó la imagen.

Mediante espectrofotometría se evaluó la concentración y pureza del DNA genómico utilizando el equipo Epoch (Biotek®, Winooski, Vermont, USA). Las mediciones se realizaron a 260 y 280 nanómetros (nm) para cuantificar los ácidos nucleicos y las proteínas respectivamente. La concentración de DNA se calculó con base en la ley de Lambert-Beer y los resultados se reportaron en nanogramos sobre microlitro (ng/µL). La pureza del DNA se determinó con base en los resultados de la relación de las lecturas a 260/280, se consideró como DNA no contaminado por proteínas y aceptable, si el valor de la relación era mayor a 1.8.

5.4 Genotipificación del SNP rs4948488

Para la genotipificación, se prepararon alícuotas de trabajo a una concentración de DNA de 2.5 ng/μL, los DNAs y las alícuotas se almacenaron a 4°C hasta su uso.

De acuerdo con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) el SNP rs4948488 es de transición, se localiza en el intrón 3 de *ARID5B* y se ubica en la posición 63,685,154 del cromosoma 10 del genoma humano (NCBI, 2018). En este SNP se sustituye al alelo T que es el silvestre por el alelo C que es el mutante y es el que se asocia con riesgo para desarrollar LLA en niños y riesgo a recaída (Xu et al., 2012).

La genotipificación se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real (qPCR) utilizando el equipo StepOne™ (Applied Biosystems®, Forest City, CA, USA) y sondas comerciales, fluorescentes, prediseñadas en humano tipo Taqman® (VIC/FAM dye-labeled fluorescent probes; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). De acuerdo con el diseño de la sonda el alelo T fue marcado con el flourofóro FAM y C (alelo de riesgo) con el flourofóro VIC.

La secuencia de la sonda fue la siguiente:

TCTTCTTTGTTAATGTTTTAATGGC [**C/T**] AGAGCTAACTGGGTGCCAAGCTAGC

En corchetes se señala el SNP y en colores azul y rojo el marcaje de FAM y VIC, respectivamente.

La reacción se preparó en un volumen total de 25 μL con 2x TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems®, Forest City, CA, USA), 20x SNP Probe Genotyping Assay (Applied Biosystems®, Forest City, CA, USA), 20 ng de DNA genómico y cuanto baste de agua libre de DNAsas DEPC (Invitrogen™, Carlsbad, CA, USA) para alcanzar el volumen total. Los experimentos se realizaron en placas de 48 pozos (MicroAmp™ Fast Optical 48-Well reaction plate; Applied Biosystems®, Forest City, CA, USA).

Tabla 8. Condiciones de amplificación en el termociclador en tiempo real

Ciclo	Número de ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo
Incubación	1	60	30 segundos
Desnaturalización	1	95	10 minutos
Amplificación	40	95	15 segundos
		60	1 minuto
Extensión	1	60	30 segundos

En cada experimento se incluyeron 4 controles 1) Control negativo en donde se adicionó agua como templado, 2) Control positivo para el homocigoto TT, 3) Control positivo para el heterocigoto

TC y 4) Control positivo para el homocigoto de riesgo CC. Para los controles se utilizó DNA de muestras con genotipo conocido. Aproximadamente el 20% de las muestras fueron seleccionadas al azar para realizar experimentos por duplicado.

Los datos crudos se analizaron con el software StepOne™ v2.1 (Applied Biosystems®, Forest City, CA, USA) y los resultados finales se representaron en una gráfica de dispersión (Figura 4), en donde las muestras se agruparon de acuerdo con su genotipo. Los resultados de la genotipificación se almacenaron en sus respectivas bases de datos.

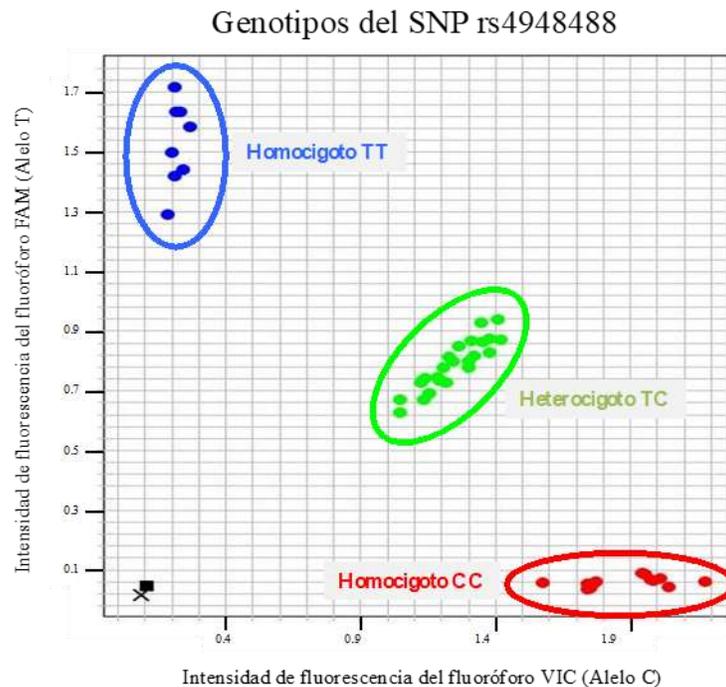


Figura 4. Gráfica de dispersión de los genotipos del SNP rs4948488. En el eje de las "X" se gráfica la intensidad de fluorescencia del fluoróforo VIC y en el eje de las "Y" el fluoróforo FAM. Las muestras se agruparon de acuerdo con su genotipo: homocigotos del alelo T (puntos azules), homocigotos del alelo de riesgo C (puntos rojos) y heterocigotos (puntos verdes). El control negativo se muestra como un cuadro negro y la X representa una reacción sin DNA.

Todos los residuos biológicos y los materiales empleados para la recolección de muestras, la extracción de DNA y la genotipificación (boquillas, tubos de EDTA, puntas, tubos Eppendorf, placas y guantes de nitrilo) fueron desechados en los contenedores con bolsas rojas de residuos RPBI (Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos).

Los desechos de las sustancias químicas como etanol y reactivos de los kits, fueron depositados en frascos ámbar etiquetados para su disposición como residuos CRETI (Reactivos Corrosivos, Reactivos, Explosivos, Tóxicos e Inflamables).

5.5 Análisis estadístico

5.5.1 Análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW)

Las frecuencias genotípicas en los controles y pacientes se calcularon mediante la ecuación de Hardy-Weinberg ($p^2+2pq+q^2 = 1$) a partir de las frecuencias alélicas.

Para el cálculo de las frecuencias genotípicas de los homocigotos silvestres (f_{TT}), de los homocigotos de riesgo (f_{CC}) y de los heterocigotos (f_{TC}) se utilizaron las siguientes formulas:

$$f_{TT} (\%) = \frac{\text{no. de personas con genotipo homocigoto silvestre } TT}{\text{Total de población analizada}}$$

$$f_{TC} (\%) = \frac{\text{no. de personas con genotipo heterocigoto } TC}{\text{Total de población analizada}}$$

$$f_{CC} (\%) = \frac{\text{no. de personas con genotipo homocigoto } CC}{\text{Total de población analizada}}$$

Para calcular las frecuencias del alelo T (p) y C (q) se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$p = f_{CC} + \frac{f_{TC}}{2} \quad \text{y} \quad q = f_{TT} + \frac{f_{TC}}{2}$$

Mediante el análisis del EHW (software DeFinetti, <https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>) se compararon las frecuencias genóticas entre controles y pacientes. Los valores de $p > 0.05$ (Prueba de X^2 de Pearson) identifican a poblaciones en equilibrio o genéticamente similares en donde los alelos mantienen su frecuencia a través de las generaciones. Los valores de $p < 0.05$ identifican a poblaciones que no están en equilibrio o genéticamente diferentes, en este caso no se pueden establecer estudios de asociaciones.

5.5.2 Asociación con la susceptibilidad y el riesgo a desarrollar LLA

La asociación del SNP rs4948488 con la susceptibilidad a desarrollar LLA, se determinó comparando las frecuencias genóticas y alélicas entre los controles y pacientes mediante la prueba exacta de Fisher (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, USA). Todos los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Se estimó el riesgo a desarrollar LLA en presencia del alelo C u homocigoto CC del SNP rs4948488 mediante el cálculo del Odd ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95% (95% IC) (software DeFinetti, <https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>). Todos los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos (Prueba de X^2 de Pearson). Si el valor de OR es igual a 1 (OR=1) se interpreta como valor nulo; si el valor es menor a 1 (OR<1) la asociación entre las variables analizadas es negativa; si el valor es mayor a 1 (OR>1) la asociación entre las variables analizadas es positiva [89, 90].

5.5.3 Frecuencia de recaída en los niños con LLA

Para el seguimiento o evolución de los pacientes se revisaron los expedientes clínicos cada 6 meses a partir de julio de 2012 hasta agosto de 2017. Durante la revisión, se documentaron las fechas del diagnóstico, del inicio de la vigilancia y de la última consulta además de la presencia de eventos adversos y la fecha en que ocurrieron. Todos los datos fueron depositados en la base de datos (Anexo 1).

Con base en el seguimiento, los pacientes se dividieron en dos grupos: 1) pacientes con recaída y 2) pacientes sin recaída; posteriormente se calculó el porcentaje de pacientes en cada grupo y se realizó el análisis estadístico para determinar las diferencias entre grupos mediante la prueba exacta de Fisher (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, USA). Todos los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Las frecuencias genóticas y alélicas se calcularon y se compararon como previamente se describe.

5.5.4 Asociación con el riesgo a presentar recaída

El riesgo a presentar recaída en presencia del alelo C u homocigoto CC del SNP rs4948488, se estimó mediante el cálculo del Hazard ratio (HR) con un intervalo de confianza del 95% (95% IC) (Software SPSS Stastics® Versión 22, IBM®).

Si el valor de HR es igual a 1 ($HR=1$) significa que no hay asociación entre el alelo C u homocigoto CC con el riesgo a recaída, ya que la proporción entre las variables y la presencia del evento es 1:1; si el valor es menor a 1 ($HR<1$) no existe asociación entre las variables y el evento; si el valor es mayor a 1 ($HR>1$) la asociación entre las variables y el evento es positiva. Todos los valores de $p<0.05$ se consideraron estadísticamente significativos (Prueba exacta de Fisher; GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, USA).

5.5.5 Supervivencia libre de recaída

El análisis de supervivencia libre de recaída (SLR) se realizó mediante curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (GraphPad Software, versión 6.01, Inc. La Jolla, CA, USA). Se incluyeron a todos los pacientes con datos de seguimiento completo (seguimiento de 127 meses). Primero se calculó el porcentaje de SLR en la población completa, posteriormente se determinó el porcentaje de SLR de acuerdo con la presencia de los genotipos del SNP rs4948488 calculando las diferencias entre las curvas (Log Rank). Todos los valores de $p<0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

6. RESULTADOS

6.1 Descripción de la población

Controles

Se estudiaron 350 controles, la mayoría fueron masculinos (56.8%) y el resto femeninos (43.2%). La proporción de masculinos:femeninos fue de 1.31:1.0. El rango de edad fue de 2 meses a 62 años con un promedio de edad de 25 años.

Pacientes

Se estudiaron 323 pacientes de los cuales se eliminaron 5: Un paciente del INP porque se confirmó el diagnóstico de LMA; un paciente de Chiapas porque se confirmó el diagnóstico de Hemofilia A; tres pacientes del INP porque los expedientes clínicos fueron depurados y no se pudo recuperar la información. Por lo anterior, en total se estudiaron 318 pacientes, de los cuales 270 (84.9%) fueron captados en el INP y 48 (15.1%) en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

La proporción de masculinos:femeninos fue de 1.48:1.0 y el rango de edad fue de 11 meses a 18 años con un promedio de edad de 8 años.

Las características clínicas de los 318 pacientes se describen en la Tabla 7. Para la estratificación de riesgo estándar o alto, se consideraron los parámetros clínicos establecidos por el Instituto Nacional de Cáncer de EUA (National Cancer Institute o NCI) (Hunger & Mullighan, 2015).

El 59.7% de los pacientes fueron masculinos, la mayoría presentaron características clínicas de riesgo estándar y fueron negativos para alguna de las translocaciones analizadas (Tabla 8). Las alteraciones genéticas estructurales más frecuentes fueron la $t(12;21)(p13;q22)$ y la $t(1;19)(q23;p13)$ que se consideran de riesgo estándar, solo el 2.8% de los pacientes presentaron translocaciones de riesgo alto como la $t(9;22)(q34;q11)$ y aquellas que involucran rearrreglos en el gen *KMT2A* [$t(1;11)(p32;q23)$ y $t(4;11)(q21;q23)$] (Tabla 9).

El 95% de los pacientes fue diagnosticado con LLA-preB que se considera de riesgo estándar y buen pronóstico y el 5.0% restante fue diagnosticado con LLA-T que se considera de riesgo alto y mal pronóstico. Las características clínicas de los pacientes con LLA-preB fueron similares a las mencionadas de la población completa (Tabla 9). De los pacientes con LLA-T, la mayoría fueron masculinos y presentaron características clínicas de riesgo estándar por edad y alto por cuentas de leucocitos; solo 3 de los 16 pacientes con LLA-T fueron positivos para alteraciones genéticas (Tabla 9).

Tabla 9. Características clínicas de los 318 pacientes estudiados.

Característica clínica al diagnóstico	LLA n=318 (%)	LLA-preB n=302 (%)	LLA T n=16 (%)	Riesgo
Genero				
Femeninos	128 (40.3)	125 (41.4)	3 (18.7)	
Masculinos	190 (59.7)	177 (58.6)	13 (81.3)	
Edad (años)				
1 a 10	208 (65.4)	199 (65.9)	9 (56.3)	Estándar
<1 y >10	110 (34.6)	103 (34.1)	7 (43.7)	Alto
Cuenta de leucocitos (10⁹/L)				
< 50	249 (78.3)	246 (81.4)	3 (18.7)	Estándar
≥ 50	67 (21.1)	54 (17.9)	13 (81.3)	Alto
Sin datos	2 (0.6)	2 (0.7)	0	
Alteraciones genéticas				
Negativos	273 (85.9)	260 (86.1)	13 (81.3)	
Positivos	45 (14.1)	42 (13.9)	3 (18.7)	
t(12;21)(p13;q22)	17 (5.4)	17 (5.6)	0	Estándar
t(1;19)(q23;p13)	16 (5)	16 (5.3)	0	Estándar
t(9;22)(q34;q11)	6 (1.9)	6 (2)	0	Alto
t(1;11)(p32;q23)	2 (0.6)	2 (0.7)	0	Alto
t(4;11)(q21;q23)	1 (0.3)	1 (0.3)	0	Alto
TAL-1	2 (0.6)	0	2 (12.5)	Estándar
t(11;14)(p13;q11.2)	1 (0.3)	0	1 (6.3)	Estándar

6.2 Asociación del SNP rs4948488 con la susceptibilidad y el riesgo a desarrollar LLA

El SNP rs4948488 se encontró en EHW tanto en controles ($p=0.6032$) como pacientes ($p=0.0569$), por lo tanto, ambas poblaciones fueron genéticamente homogéneas y se procedió a llevar a cabo los análisis de asociación con la susceptibilidad y con el riesgo a desarrollar LLA en niños mexicanos.

La frecuencia del homocigoto TT fue mayor en controles que en pacientes (27.1% vs 23.6%), mientras que la frecuencia del homocigoto de riesgo CC fue significativamente mayor en pacientes con a los controles (32.1% vs 24.3%; $p=0.0309$). En ambas poblaciones, la frecuencia del heterocigoto TC fue superior a la de los homocigotos aunque el porcentaje más alto se encontró en los controles (Tabla 10).

Con respecto a las frecuencias alélicas, se observó que el alelo T fue más frecuente en controles que en pacientes y el alelo de riesgo C fue significativamente más frecuente en pacientes en

comparación de los controles (Tabla 10). De acuerdo con los resultados obtenidos el SNP rs4948488 confiere susceptibilidad para el desarrollo de LLA en la población estudiada (Tabla 10).

El comportamiento de las frecuencias genotípicas y alélicas de los pacientes con LLA-preB fue similar a lo observado para los pacientes con LLA. El homocigoto de riesgo CC fue significativamente más frecuente en pacientes que en controles (33.1% vs 24.3%; $p=0.0147$) al igual que el alelo de riesgo C (0.55 vs 0.49; $p=0.0227$) (Tabla 10). De acuerdo a los resultados, el SNP rs4948488 se asoció con la susceptibilidad a desarrollar LLA del subtipo preB en nuestra población.

En los 16 pacientes con LLA-T se observó que las frecuencias de TT y TC fueron mayores en comparación con los controles. Las frecuencias del homocigoto CC y del alelo de riesgo C fueron menores en los pacientes en comparación con los controles (12.5% vs 24.3% y 0.41 vs 0.49), en ninguno de los casos se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.3773$ y $p=0.4701$ respectivamente) (Tabla 10). De acuerdo con lo anterior, el SNP rs4849488 no confiere susceptibilidad para el desarrollo de LLA-T en nuestra población.

Para definir la asociación del alelo C con el riesgo a desarrollar la enfermedad se calculó el OR. La sustitución del alelo T por el alelo C representó un riesgo para el desarrollo de LLA, particularmente para el desarrollo de LLA-preB (Tabla 11). El riesgo a LLA y LLA-preB se incrementó con la presencia de dos copias del alelo de riesgo C (OR=1.52; $P=0.0491$ y OR=1.59; $P=0.298$), por lo que este alelo si confiere riesgo para el desarrollo de LLA en nuestros pacientes (Tabla 11).

Una vez que se confirmó la asociación del homocigoto CC con el riesgo a desarrollar LLA y LLA-preB, se exploró la asociación de CC con las características clínicas de riesgo alto documentadas al momento del diagnóstico. De los 318 pacientes estudiados, 102 presentaron el genotipo de riesgo CC, de estos el 35.3% (36 pacientes) mostraron riesgo alto por edad, el 16.7% (17 pacientes) por cuenta de leucocitos, el 2% (2 pacientes) por inmunofenotipo T y el 2.9% (3 pacientes) fueron positivos para las translocaciones de riesgo alto como t(9;22)(q34;q11) y t(1;11)(p32;q23). De acuerdo con los resultados, no se encontró asociación entre la presencia del homocigoto CC y las características clínicas de riesgo alto evaluadas en los pacientes (edad, $p=0.8997$; cuenta de leucocitos, $p=0.1881$ e inmunofenotipo, $p=0.1030$). Los resultados de asociación del inmunofenotipo y las translocaciones se deben tomar con reserva debido el número pequeño de pacientes analizados en estos grupos.

Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488

Genotipos	350 controles n (%)	318 pacientes LLA n (%)	<i>p</i> *	302 pacientes LLA-preB n (%)	<i>p</i> *	16 pacientes LLA-T n (%)	<i>p</i> *
TT	95 (27.1)	75 (23.6)	0.3280	70 (23.2)	0.2785	5 (31.3)	0.7753
TC	170 (48.6)	141 (44.3)	0.2781	132 (43.7)	0.2375	9 (56.2)	0.6150
CC	85 (24.3)	102 (32.1)	0.0309**	100 (33.1)	0.0147**	2 (12.5)	0.3771
Alelos							
T	0.51	0.46	0.0426**	0.45	0.0227**	0.59	0.4701
C	0.49	0.54		0.55		0.41	

En negrillas se señala al alelo de riesgo; *Valores de *p* por la Prueba Exacta de Fisher's; **Valores de *p* estadísticamente significativos (*p*<0.05).

Tabla 11. Asociación del SNP rs4948488 con el riesgo a desarrollar LLA en pacientes pediátricos

	318 pacientes LLA			302 pacientes LLA pre B		
	OR ^a	IC (95%) ^b	<i>p</i> *	OR	IC (95%)	<i>p</i> *
T vs C	1.25	1.012 - 1.557	0.0382**	1.29	1.039 - 1.609	0.0209**
TT vs TC	1.05	0.721 - 1.530	0.7971	1.04	0.713 - 1.535	0.8191
TT vs CC	1.52	1.001 - 2.308	0.0491**	1.59	1.046 - 2.437	0.0298**

En negrillas se señala al alelo de riesgo; ^aOdds ratio; ^bIntervalo de confianza con el 95%;

*Valores de *p* por la prueba de X² de Pearson; **Valores de *p* estadísticamente significativos (*p*<0.05).

6.3 Presencia de eventos adversos

De los 318 pacientes estudiados para la susceptibilidad y riesgo a desarrollar LLA, se descartaron cuatro pacientes: tres por abandono de tratamiento y uno por no contar con datos de seguimiento (solo se recopiló información al momento del diagnóstico), por lo que la presencia de eventos adversos y la SLR se analizó en 314 pacientes.

El 38.2% de los pacientes presentó eventos adversos (Figura 5), dentro de los cuales el más frecuente fue la recaída (88.3%), seguido de la defunción (6.7%), falla al tratamiento (4.2%) y por último la aparición de una segunda neoplasia (0.8%).

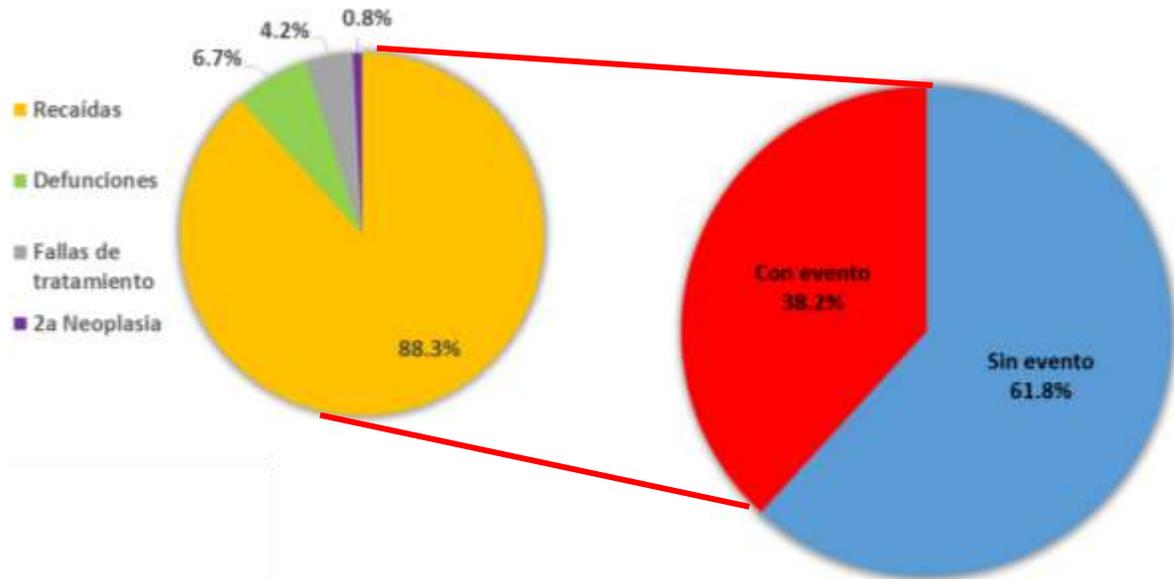


Figura 5. Frecuencia de los eventos adversos en los 314 pacientes estudiados. La mayoría de los pacientes no presentaron eventos adversos en los 127 meses de seguimiento. El evento adverso más frecuente fue la recaída (88.3%).

La frecuencia de recaída en la población completa fue del 33.8% (106/314 pacientes). El 67% de estos pacientes presentó solo una recaída, el 19.8% dos recaídas, el 12.3% tres recaídas y el 0.9% cuatro recaídas. La mayoría de los pacientes solo presentaron recaída como evento adverso, sin embargo, 33/106 pacientes (31.1%) fallecieron después de haber presentado la recaída (Figura 6). Aproximadamente, una tercera parte de los pacientes con una, dos y tres recaídas fallecieron después de este primer evento y solo un paciente presentó 4 recaídas y fue defunción (Figura 7).

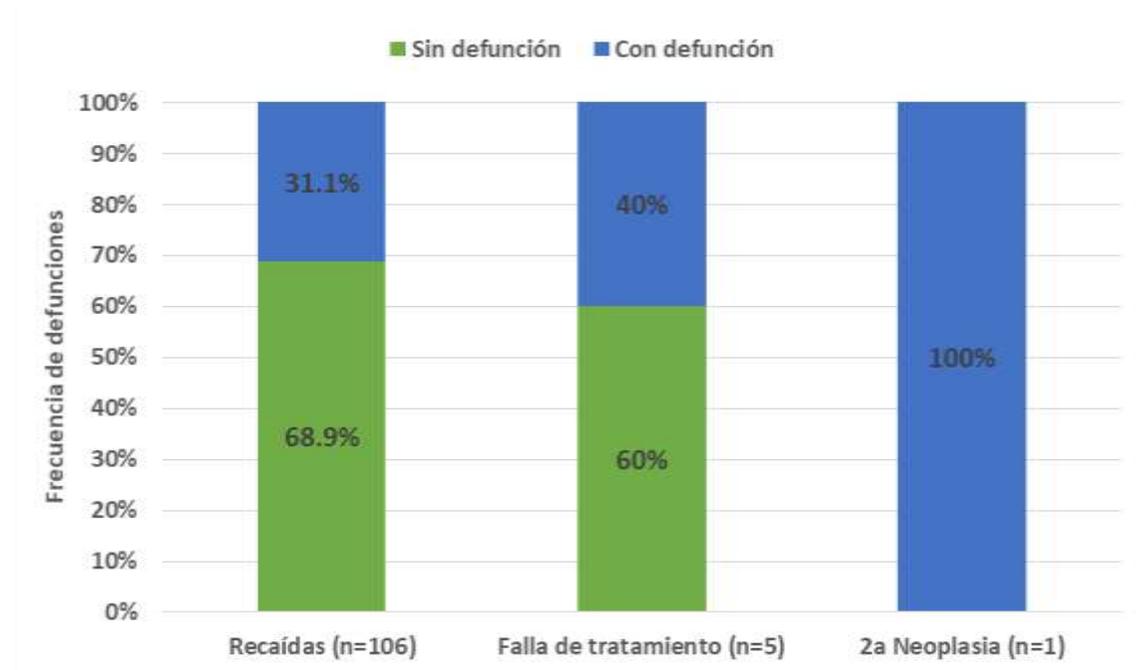


Figura 6. Frecuencia de defunciones como segundo evento adverso.

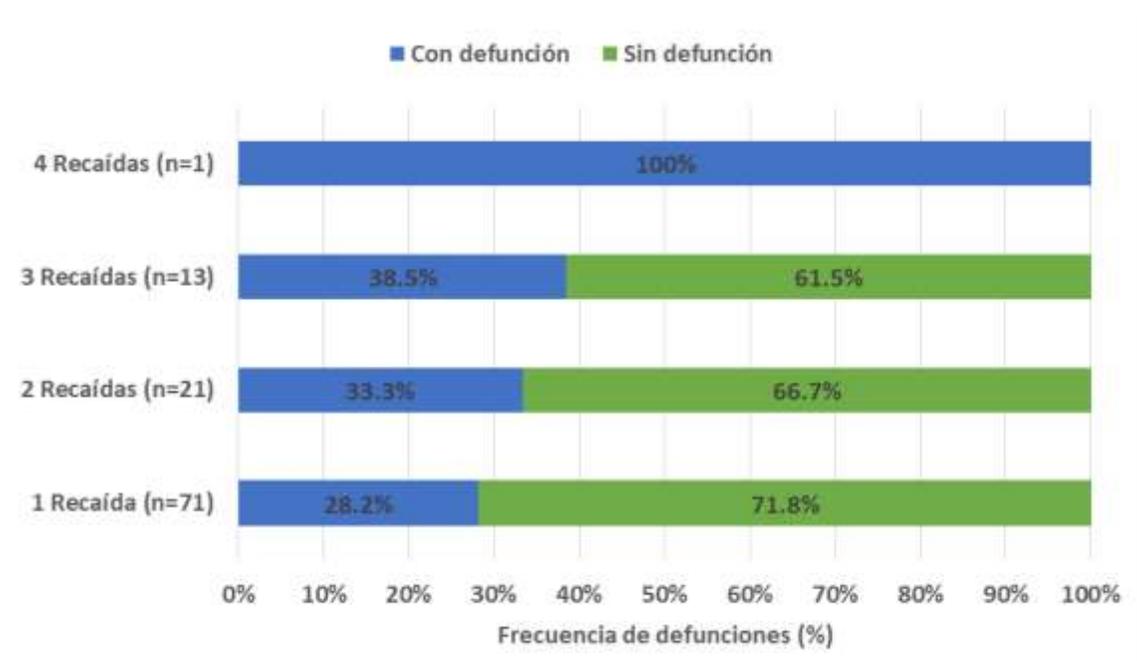


Figura 7. Frecuencia de defunciones agrupadas por el número de recaídas.

Los sitios anatómicos en donde los pacientes presentaron recaída fueron: la médula ósea que fue el sitio más frecuente (59.4%), seguido del SNC (28.3%), testículo (0.9%) y ganglio cervical (0.9%); en algunos pacientes la recaída se presentó en más de un sitio anatómico (recaída combinada) (Figura 8).

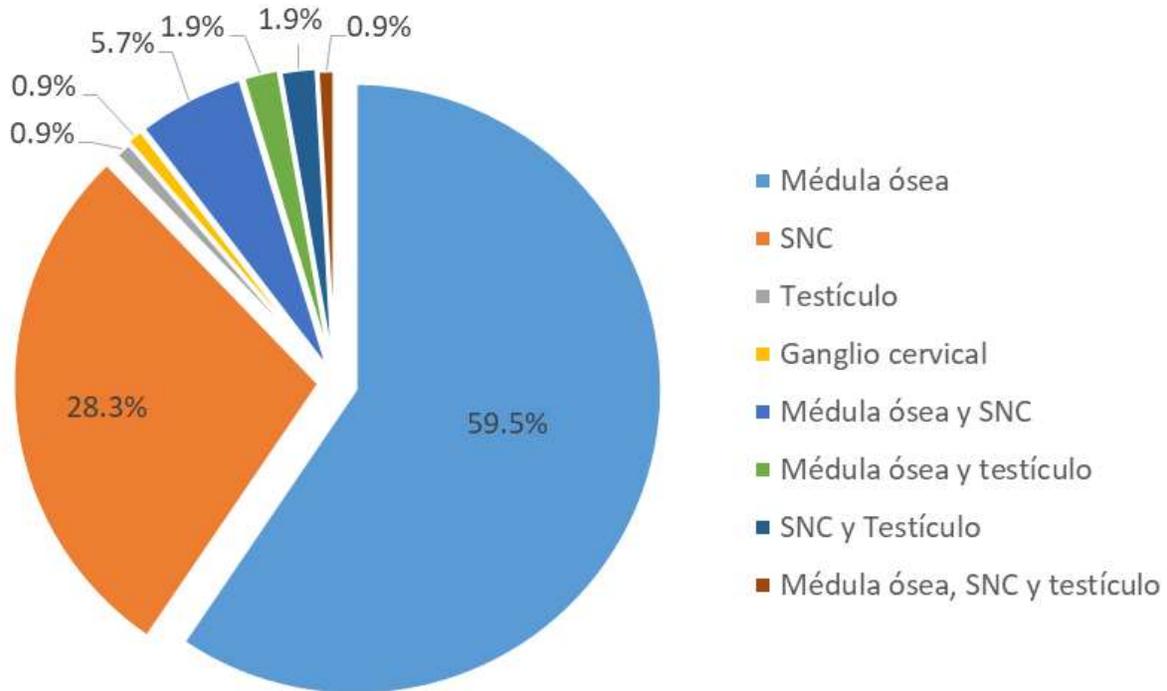


Figura 8. Sitios anatómicos donde se presentó la recaída.

La frecuencia de defunción como primer evento adverso en la población completa fue del 2.5% (8/314 pacientes). Cabe señalar que en total hubo 44 defunciones que representan el 14% (44/314), de las cuales 36 fueron eventos secundarios a la recaída, falla a tratamiento y 2a. neoplasia (Figura 6). De los ocho pacientes con defunción como primer evento, solo dos (25%) fallecieron por causas directamente relacionadas con la LLA, y en los otros seis (75%) la causa de muerte fue por infección.

La frecuencia de falla a tratamiento y desarrollo de una 2a. neoplasia como eventos adversos fue del 1.6% (5/314 pacientes) y 0.3% (1/314 pacientes) en la población completa. El 40% de los pacientes con falla fueron defunciones y el único paciente de segunda neoplasia también fue defunción (Figura 6).

6.4 Asociación del rs4948488 con el riesgo a presentar recaída

La frecuencia del homocigoto de riesgo CC fue igual a la del homocigoto TT en los 106 pacientes con recaída y las frecuencias alélicas también fueron idénticas (Tabla 12). Al comparar las frecuencias genotípicas entre los pacientes con y sin recaída se observó que la frecuencia del homocigoto de riesgo CC fue menor en los pacientes con recaída en comparación con los pacientes sin recaída (27.4% vs 34.1%) y la del homocigoto TT fue mayor en los pacientes con recaída (27.4% vs 22.1%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) entre las frecuencias genotípicas de ambos grupos (Tabla 12).

Con respecto a las frecuencias alélicas, el alelo de riesgo C tuvo menor frecuencia en pacientes con recaída con respecto a los pacientes sin recaída (0.50 vs 0.56), sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla 12).

Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488 en pacientes con y sin recaída.

Genotipos	208 pacientes sin recaída n (%)	106 pacientes con recaída n (%)	<i>p</i>*
TT	46 (22.1)	29 (27.4)	0.3285
TC	91 (43.8)	48 (45.3)	0.8111
CC	71 (34.1)	29 (27.4)	0.2501
Alelos			
T	0.44	0.50	0.1755
C	0.56	0.50	

En negrillas se señala al alelo de riesgo; *Valores de p por la Prueba Exacta de Fisher's; **Valores de p estadísticamente significativos ($p<0.05$).

Para determinar el riesgo que confiere el homocigoto CC para la presencia de recaída, se calculó el HR en la población de 314 pacientes con seguimiento de 127 meses. Los resultados demostraron que la presencia de CC no representó riesgo para la recaída (HR=0.633; $P=0.82$) ya que si el valor de HR es menor a uno, no existe asociación entre el SNP rs4948488 y la presencia de recaída.

6.5 Supervivencia libre de recaída asociada al SNP rs4948488

Para la SLR se contemplaron los 314 pacientes con seguimiento de 127 meses. El 40.8% de los pacientes sobrevivió sin presentar recaída (Figura 9A). De acuerdo con los genotipos del SNP rs4948488 del gen *ARID5B*, los pacientes con el homocigoto de riesgo CC tuvieron una SLR mayor (53.8%) a la que tuvieron los pacientes con los otros genotipos (Figura 9B). Para determinar la SLR con base en el inmunofenotipo, se construyeron curvas de Kaplan Meier para los pacientes con LLA-preB y LLA-T, al comparar ambos grupos se observó una mejor SLR para los pacientes con LLA-T (61.9%) en comparación de la supervivencia de los pacientes con LLA-preB (40.4%) (Figura 9C) aunque es importante mencionar que para LLA-T solo se incluyeron 16 pacientes. La SLR para los pacientes con LLA-preB de acuerdo con los genotipos, fue similar a la que se observó para la población completa, los pacientes con el homocigoto de riesgo CC tuvieron una mejor supervivencia (53.4%) a la encontrada en los pacientes con el homocigoto TT (49.6%) y el heterocigoto (36.9%) (Figura 9D). Se realizó el análisis estadístico para comparar las curvas de supervivencia entre los genotipos y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (LogRank>0.05) (Figura 9B y D), lo mismo se observó al comparar las curvas de los subtipos de LLA (Figura 9C).

Considerando los lineamientos para determinar el tipo de recaída que se presentó en los 106 pacientes, el momento en el cual sucedió el evento adverso a lo largo del tiempo de seguimiento y los resultados de las curvas de SLR, se determinó que el 40.6% de los pacientes (43/106) presentó recaída muy temprana, el 29.2% (31/106) se clasificó como recaída temprana y el 30.2% (32/106) de los pacientes tuvieron recaída tardía.

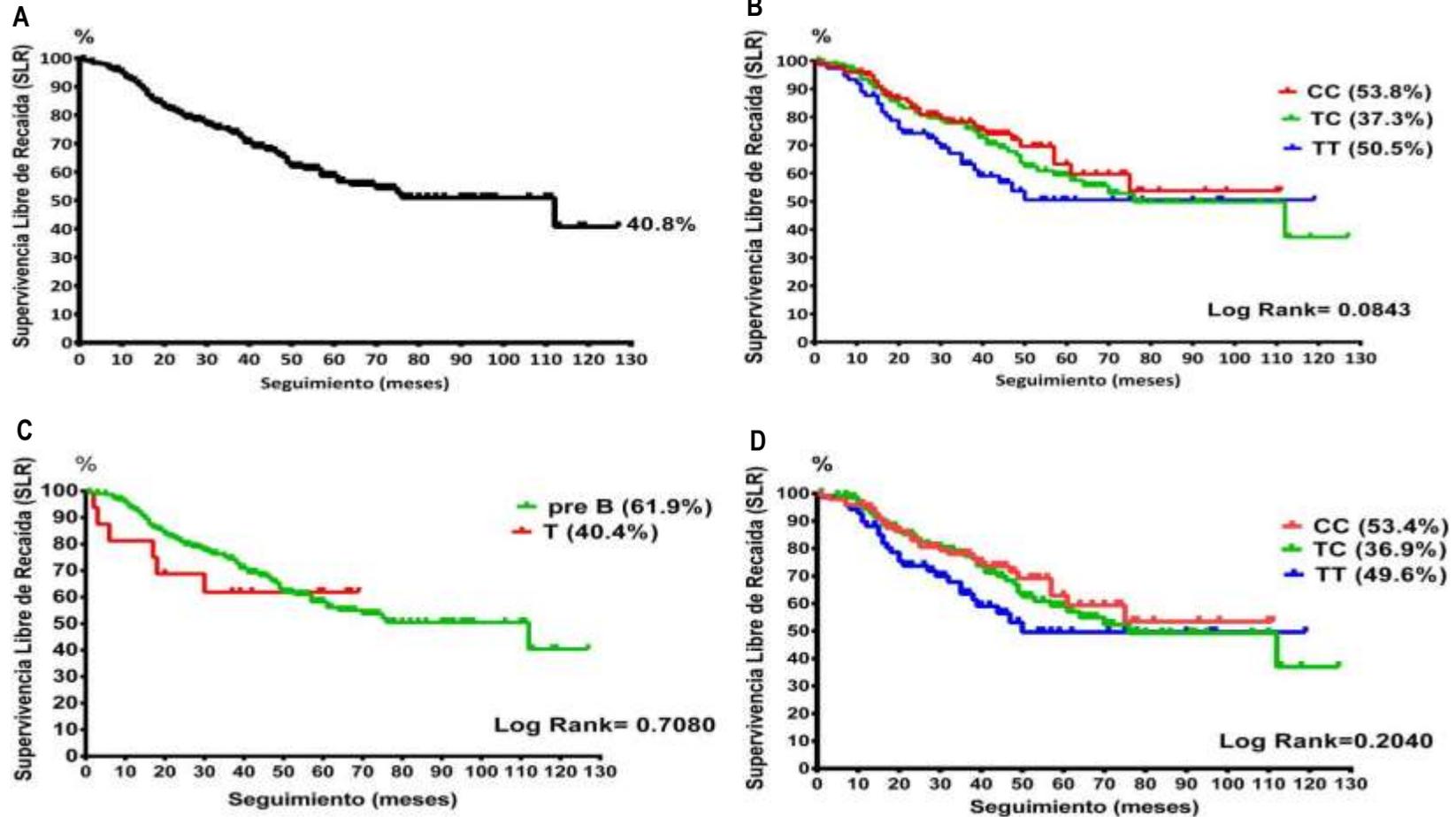


Figura 9. Curvas de Kaplan Meier para la Supervivencia libre de recaída (SLR) en 314 pacientes con LLA y un seguimiento de 127 meses. A) SLR en la población completa. B) SLR de acuerdo con los genotipos del SNP rs4948488, homocigoto TT (línea verde), homocigoto de riesgo CC (línea roja), heterocigoto TC (línea azul). C) SLR de acuerdo con el subtipo de LLA, preB (298 pacientes, línea verde) y T (16 pacientes, línea roja). D) SLR en pacientes con LLA-preB de acuerdo con los genotipos rs4948488. Valores del LogRank $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Al no encontrar asociación entre el SNP y el riesgo a recaída, nos preguntamos si los pacientes captados al inicio del proyecto podrían generar un sesgo en los resultados de asociación obtenidos de la población completa, ya que en ese momento se colectaron muestras de pacientes que se encontraban en vigilancia o en tratamiento, básicamente fueron pacientes sobrevivientes a la enfermedad. Por lo que pensamos que era probable que por defunción no hubiéramos podido captar a todos los pacientes diagnosticados antes de 2012, tampoco podríamos saber cuántos de ellos eran recaídas y cuántos habrían sido positivos para el alelo y el homocigoto de riesgo.

De acuerdo con los resultados de seguimiento, el 14% de los pacientes (44/314) fueron defunciones, algunos como primer evento (8/44) y otros como evento secundario a la recaída (33/44), falla al tratamiento (2/44) o segunda neoplasia (1/44) (Figura 6), además el 84.1% (37/44) de los pacientes fallecieron durante los 3 años posterior al diagnóstico de LLA y que el 31.1% de las recaídas fueron defunciones, consideramos que existía la posibilidad de que hubiéramos perdido a una parte de pacientes.

Para descartar la existencia de sesgo en los resultados de la población completa, los pacientes se dividieron en dos grupos de acuerdo a la fecha del diagnóstico.

Grupo 1: Se incluyeron 96 pacientes (30.6%) con diagnóstico antes de 2012 (agosto de 2002 a diciembre de 2011). El 47.9% de los pacientes presentaron eventos adversos, principalmente recaída y solo un paciente presentó segunda neoplasia (Figura 10).

Grupo 2: Se incluyeron 218 pacientes (69.4%) diagnosticados durante 2012 y años posteriores (enero de 2012 a enero de 2017). El 33.9% de los pacientes presentaron eventos adversos, la mayoría fueron recaídas, seguido de defunciones y fallas al tratamiento (Figura 10).

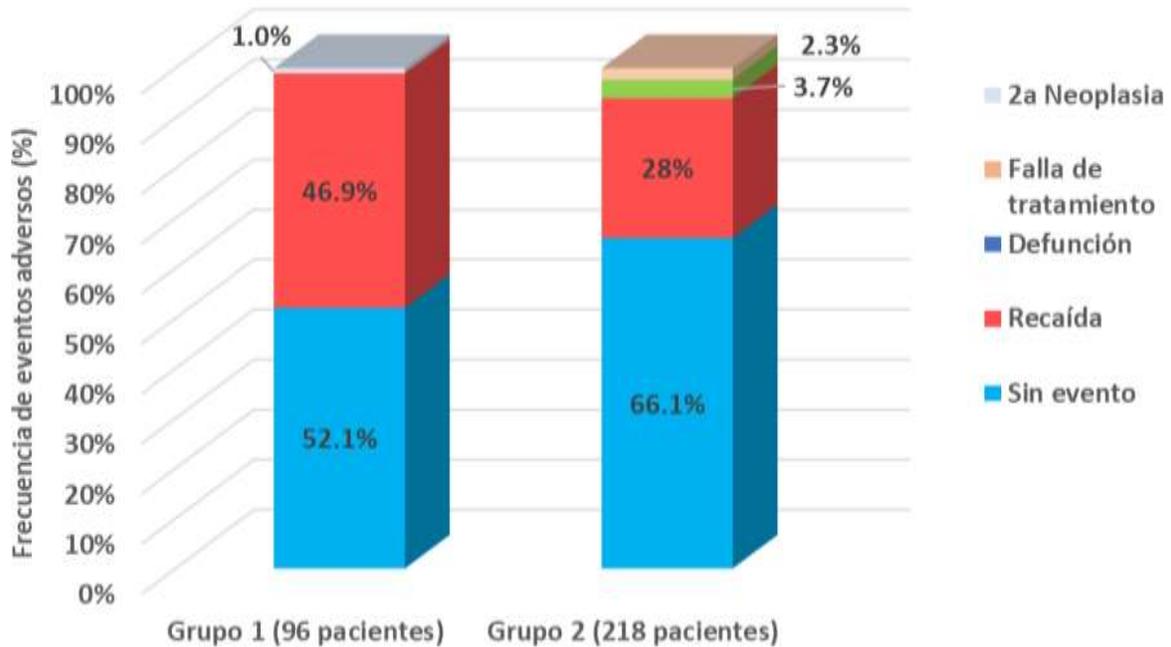


Figura 10. Frecuencia de eventos adversos en los 2 grupos de pacientes. Los pacientes se dividieron de acuerdo con la fecha de diagnóstico. En el Grupo 1 se incluyeron pacientes diagnosticados antes de 2012 y en el Grupo 2 pacientes diagnosticados durante y después de 2012.

Para descartar la existencia de sesgo en los resultados de la población completa, se realizó nuevamente el análisis de riesgo a presentar recaída (HR) y SLR tomando en cuenta solo a los pacientes del Grupo 2.

De los 218 pacientes del Grupo 2, el 28% presentó recaída (61/218). La frecuencia del homocigoto de riesgo CC fue menor en los pacientes con recaída con respecto a los pacientes sin recaída (23.0% vs 34.4%), tal cual se había observado en la población completa. En los pacientes con recaída el homocigoto TT fue el más frecuente y en ninguna de las comparaciones se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 11). El alelo de riesgo C fue significativamente más frecuente en los pacientes sin recaída en comparación con los pacientes con recaída (Tabla 11). Se demostró que no existe asociación entre la presencia del homocigoto CC y el riesgo a recaída (HR=0.503; $P=0.046$), por el contrario al parecer actúa como protector para la población depurada.

Tabla 13. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4948488 en pacientes del Grupo 2 con y sin recaída.

Genotipos	157 pacientes sin recaída n (%)	61 Pacientes con recaída n (%)	<i>p</i> *
TT	38 (24.2)	21 (34.4)	0.1309
TC	65 (41.4)	26 (42.6)	0.8795
CC	54 (34.4)	14 (23.0)	0.1071
Alelos			
T	0.45	0.56	0.0434**
C	0.55	0.44	

En negrillas se señala al alelo de riesgo; *Valores de *p* por la Prueba Exacta de Fisher's; **Valores de *p* estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

En términos generales, se observó que las curvas de SLR de este grupo de pacientes fueron similares a las obtenidas de la población completa. Lo más importante que se debe resaltar de este análisis fue que al parecer no hay sesgo en la población completa, ya que los pacientes positivos a CC presentaron una mejor SLR en comparación con los pacientes con otros genotipos (LogRank=0.0425); lo mismo se observó para pacientes con LLA-preB aunque las diferencias no fueron significativas (Figura 11B y D).

Es importante señalar que la SLR fue de 62.1% (Figura 11A) en comparación al 40.8% de la población completa (Figura 9A), esto se puede deber al tiempo de seguimiento que para este grupo fue de 65 meses, prácticamente la mitad de tiempo.

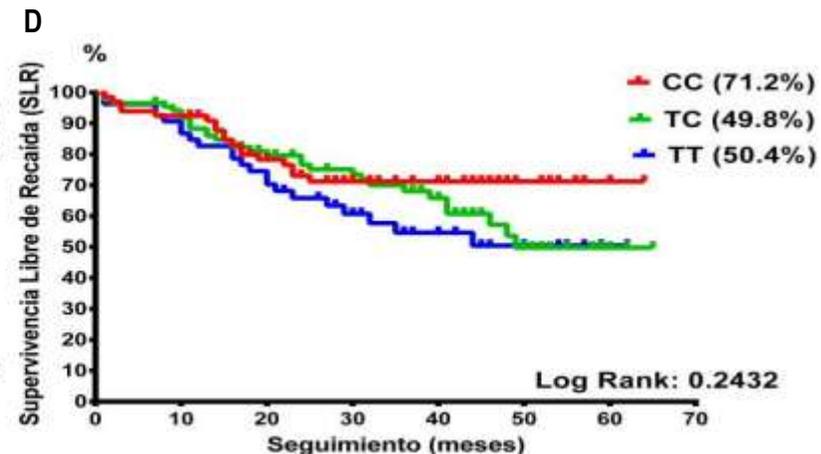
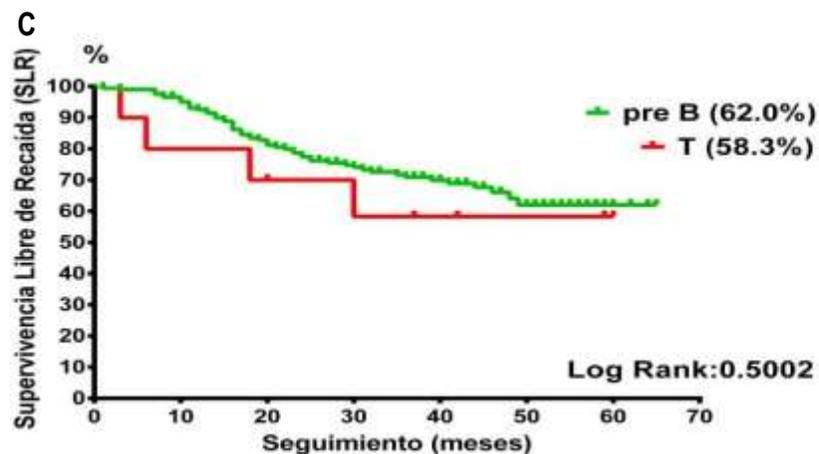
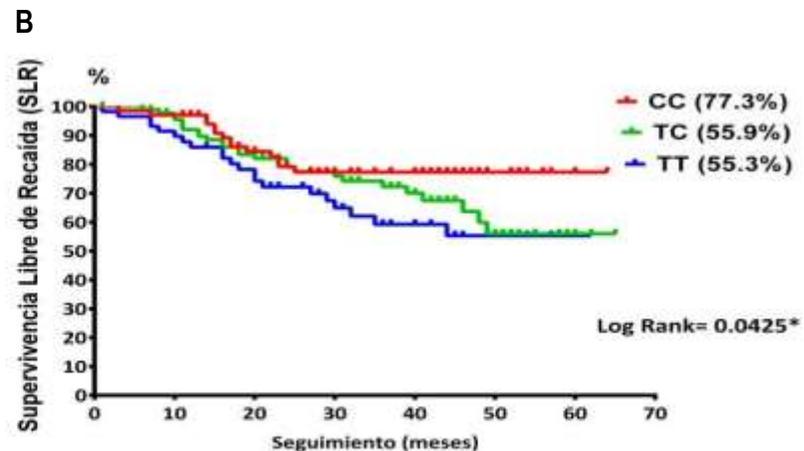
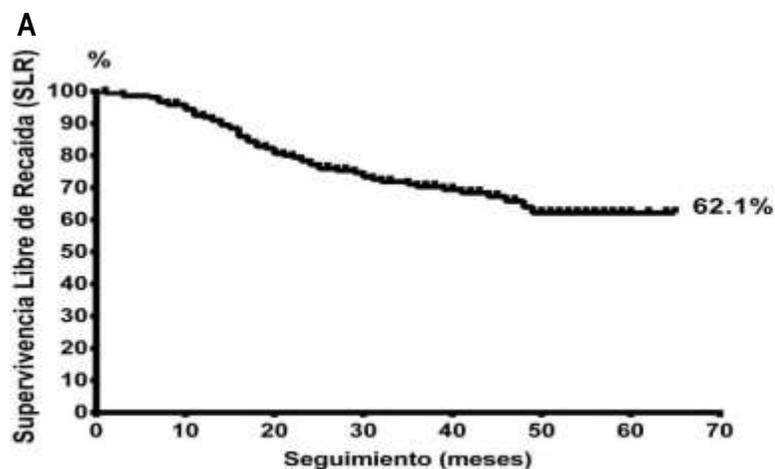


Figura 11. Curvas de Kaplan Meier para la Supervivencia libre de recaída (SLR) en pacientes del grupo 2 con 65 meses de seguimiento. A) SLR en 218 pacientes. B) SLR de acuerdo con los genotipos del SNP rs4948488, homocigoto TT (línea verde), homocigoto de riesgo CC (línea roja) y heterocigoto TC (línea azul). C) SLR de acuerdo con el subtipo de LLA, preB (208 pacientes, línea verde) y T (10 pacientes, línea roja). D) SLR en pacientes con LLA-preB de acuerdo a los genotipos del rs4948488. Valores del LogRank $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

7. DISCUSIÓN

Con respecto a las características clínicas de los pacientes estudiados, la mayoría fueron del subtipo preB tal y como se ha documentado en muchos artículos, incluidos estudios en niños mexicanos. Lo mismo se observó para otras características como la edad, la cuenta de leucocitos y la presencia de translocaciones en donde las más frecuentes en nuestro estudio fueron la t(12;21) y t(1;19) para la LLA-preB y la alteración en el gen *TAL-1* para la LLA-T [86, 88]. En resumen, una gran proporción de los pacientes incluidos en este estudio, presentaron características clínicas de riesgo estándar.

La frecuencia del alelo de riesgo C del SNP rs4948488 del gen *ARID5B* en los controles fue mayor (0.49) a lo reportado en controles de distintas poblaciones como italiana (0.23) [91], estadounidense de ascendencia europea (0.16) [72], yoruba de África (0.36) [91], china (0.42) [91], japonesa (0.43) [91] e hispana residente de EUA (0.41) [72]. Definir la frecuencia del alelo de riesgo C en los controles estudiados, ayudaría a enriquecer la información de este alelo en una población que puede ser representativa de los niños mexicanos sanos (dato de referencia), ya que hasta el momento no hay datos reportados de nuestra población. Cabe señalar que este trabajo es el primero donde se reporta la frecuencia del alelo de riesgo C de este SNP en controles de nuestro país [74].

La frecuencia de C en los pacientes, también fue mayor (0.54) a lo reportado en caucásicos (0.20) e hispanos (0.40 y 0.46) residentes de EUA [39, 72]. Al igual que en controles, esta información puede ser utilizada como dato representativo de pacientes pediátricos mexicanos ya que este es el primer trabajo en reportar esta información [74].

Los resultados del análisis estadístico demostraron que el alelo de riesgo C confiere susceptibilidad al desarrollo de LLA, principalmente LLA-preB, ya que el alelo fue significativamente más frecuente en pacientes con respecto a controles, tal y como se ha reportado en caucásicos e hispanos [72]. Es importante mencionar que no se encontró asociación con la susceptibilidad a desarrollar LLA-T, probablemente por el número pequeño de pacientes captados en este estudio, estos resultados son similares a lo reportado por otros autores [18, 41, 56, 57].

Asimismo, la presencia del alelo C fue asociada con el riesgo a desarrollar LLA (OR=1.25), específicamente LLA-preB (OR=1.29), cabe señalar que si se presentaban dos copias del alelo el riesgo se incrementaba para LLA (OR=1.52) y LLA-preB (OR=1.59). Estos resultados coinciden con lo descrito en niños con LLA caucásicos estadounidenses (OR=1.26) e hispano-americanos (OR=1.28-1.44) [39, 72].

El porcentaje de pacientes con recaída en la población completa fue del 33.8% y en la población depurada (Grupo 2) del 28%, esto fue superior a lo reportado en niños con LLA mexicanos (25.7%) atendidos en el INP [86] igual que los pacientes incluidos en este estudio. Aunque los pacientes provienen de la misma institución, cabe resaltar que en nuestro estudio se incluyeron

314 (población completa) o 218 (población depurada) pacientes con un seguimiento de 127 y 65 meses respectivamente a diferencia de los 113 pacientes incluidos en el estudio previo con 60 meses de seguimiento. Es probable que el número de pacientes y el tiempo de seguimiento sean factores que incrementen el porcentaje de recaída, también se debe considerar que aproximadamente el 15% de los pacientes incluidos en este estudio provienen de Chiapas, lo que podría estar influyendo en el resultado. En otros estudios de población mexicana de distintas instituciones y con diferentes esquemas de tratamiento se reportan porcentajes de recaída para niños con LLA del 26.2% pacientes tratados con el esquema Dana-Faber Cancer Institute [88] y el 35.4% (Hospital de la Escuela, de Medicina de Nuevo León) [90], los cuales son menores y mayores a lo encontrado en este trabajo.

Contrario a la recaída, en este trabajo se reporta un porcentaje menor de falla a tratamiento (1.6%) y defunción (2.5%) ya que en el trabajo previo se reporta 2.6% y 6.2% respectivamente [86].

De manera interesante, contrario a la hipótesis del trabajo, el alelo T y el homocigoto TT que se consideran de no riesgo, fueron los más frecuentes en los pacientes con recaída. No se encontró asociación entre el alelo C u homocigoto CC con el riesgo a recaída (HR) a diferencia de lo reportado en hispanos [72]. En el trabajo citado y este, el número de pacientes estudiados fue similar (330 Hispanos y 314 mexicanos), sin embargo, los resultados fueron totalmente diferentes, lo que sugiere que cada población posee variantes genéticas específicas (SNPs) que pueden estar influenciando la susceptibilidad y el riesgo a desarrollar los eventos adversos [93].

A pesar de los resultados encontrados, es interesante conocer el comportamiento de este SNP en niños mexicanos con LLA, ya que hasta el momento no hay reportes que documenten esta información. Aunque los niños mexicanos se consideran hispanos, es necesario destacar que los hispanos son una población diversa desde el punto de vista genético, cultural y socioeconómico. Ellos son mestizos con una proporción de componente Amerindio, Europeo y Africano diferente que data de la colonización de las Américas. Los hispanos del Caribe por ejemplo de Puerto Rico, República Dominicana y Cuba tienen una mayor proporción del componente Africano (10-30%) y menos proporción del componente Amerindio (5%-10%) a diferencia de los hispanos de México y Centroamérica que tienen mayor proporción de componente Amerindio (45-50%) y menos Africano (5-10%) [94].

Hasta ahora se desconoce el impacto biológico del SNP rs4948488 sobre el riesgo a desarrollar LLA, aunque se han descrito que algunos SNPs localizados en los intrones como el rs4948488, pueden afectar la transcripción del gen alterando su función, esto ocasionaría defectos en los procesos de maduración y diferenciación de los linfocitos B [55, 82]. Tampoco se conoce su papel en la recaída; hasta ahora lo que se sabe es que los alelos de riesgo de otros SNPs de *ARID5B* como el rs10821936 y rs10994982 están asociados con la acumulación de metabolitos del metotrexato en niños con LLA y esto podría afectar la respuesta al tratamiento y el pronóstico [41].

8. CONCLUSIONES

- El alelo de riesgo C del SNP rs4948488 del gen *ARID5B* se asoció con el riesgo a desarrollar LLA, específicamente LLA-preB en niños mexicanos y el riesgo se incrementa cuando los pacientes poseen dos copias del alelo.
- El alelo C no se asoció con el riesgo a desarrollar LLA-T.
- El alelo C no se asoció con el riesgo a presentar recaída en niños con LLA o LLA-preB, por el contrario en la población depurada podría actuar como protector.
- La frecuencia del alelo C en los controles y pacientes pediátricos estudiados fue mayor a lo reportado previamente en niños sanos y niños con LLA caucásicos, africanos, asiáticos e hispanos.
- El alelo C u homocigoto CC del SNP rs4948488 no se asociaron con la disminución de la SLR, por el contrario, los pacientes positivos mostraron una mayor supervivencia.

9. REFERENCIAS

- [1] Jin, M., Xu, S., & An, Q. (2017). Pediatric haematopoiesis and related malignancies (Review). *Oncology Letters*, 14(1), 10-14. doi:<https://doi.org/10.1002/pbc.25544>
- [2] Onciu, M. (2009). Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 23(4), 655-674. doi:<https://doi.org/10.1016/j.hoc.2009.04.009>
- [3] Campana, D., & Pui, C.-H. (2012). Childhood Leukemia. *PartII: Specific malignancies. National Institute of Health*, 2140-2160.
- [4] Ladines-Castro, W., Barragán-Ibañez, G., Luna-Pérez, M., Santoyo-Sánchez, A., Collazo-Jaloma, J., Mendoza-García, E., & Ramos-Peñañiel, C. (2016). Morphology of leukaemias. *Revista Médica del Hospital General de México*, 79(2), 107-113. doi:<https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2015.06.007>
- [5] Steinherz, P. (2014). Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. En *Reference Module in Biomedical Research*. (págs. 1-8). Elsevier Inc. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.04265-3>
- [6] University of Medicine and Dentistry of New Jersey. (18 de Mayo de 2006). *Immunophenotyping Lymphomas*. Recuperado el 20 de Agosto de 2018, de <http://pleiad.umdj.edu/hemepath/immuno/immuno.html>
- [7] Sarmiento-Chavero, M., & Belem Gabiño-López, N. (2012). Entendiendo el inmunofenotipo de las neoplasias de células B maduras ARTÍCULO DE REVISIÓN. *Rev Invest Med Sur Mex*, 19(194), 212-221.
- [8] Pui, C.-H., Relling, M., & Downing, J. R. (2004). Acute Lymphoblastic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, 350(13), 1535-1548. doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMra023001>
- [9] Zhou, Y., Kanagal-Shamanna, R., Zuo, Z., Tang, G., Medeiros, L. J., & Bueso-Ramos, C. E. (2016). Advances in B-lymphoblastic leukemia: cytogenetic and genomic lesions. *Annals of Diagnostic Pathology*, 23(1), 43-50. doi:<https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2016.02.002>
- [10] Thomas, X., & Heiblig, M. (2016). The development of agents targeting the BCR-ABL tyrosine kinase as Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treatment. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 11(11), 1061-1070. doi:<https://doi.org/10.1080/17460441.2016.1227318>
- [11] Huret, J. L., & Labastie, M. C. (Agosto de 1997). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Recuperado el 01 de Marzo de 2018, de <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/TAL1ID15.html>
- [12] Alharbi, R. A., Pettengell, R., Pandha, H. S., & Morgan, R. (2013). The role of HOX genes in normal hematopoiesis and acute leukemia. *Leukemia*, 27(5), 1000-1008. doi:<https://doi.org/10.1038/leu.2012.356>
- [13] Pérot, C. (Septiembre de 1999). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Recuperado el 01 de Marzo de 2018, de <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/1014ID1068.html>
- [14] Boyer, J. (Agosto de 1998). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Recuperado el 01 de Marzo de 2018, de <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/t1114ID1070.html>

- [15] Bilhou-Nabera, C. (Septiembre de 1988). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Recuperado el 01 de Marzo de 2018, de <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/t1114ID1070.html>
- [16] Siegel, D. A., Henley, S. J., Li, J., Pollack, L. A., Dyne, E. A., & White, A. (2017). Morbidity and Mortality Weekly Report Rates and Trends of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia — United States, 2001–2014. *Morbidity & Mortality Weekly Report (CDC)*, *66*(36), 950-954. doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.20910/full>
- [17] Schüz, J., & Erdmann, F. (2016). Environmental Exposure and Risk of Childhood Leukemia: An Overview. *Archives of Medical Research*, *47*(8), 607-614. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.11.017>
- [18] Wang, Y., Chen, J., Li, J., Deng, J., Rui, Y., Lu, Q., . . . Fang, Y. (2013). Association of three polymorphisms in ARID5B, IKZF1 and CEBPE with the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Gene*, *524*(2), 203-207. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.04.028>
- [19] Bhatia, S. S., Heerema, N. A., E., T. M., Gaynon, P. S., & Robinson, L. L. (2002). Racial and Ethnic Differences in Socioeconomic Position and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, *100*(6), 1957-1964. doi:<https://doi.org/10.1182/blood-2002-02-0395>
- [20] Abrahao, R., Lichtensztajn, D. Y., Ribeiro, R. C., Marina, N. M., Keogh, R. H., Gragera, R. M., . . . Keegan, T. H. (2015). Racial/ethnic and socioeconomic disparities in survival among children with acute lymphoblastic leukemia in California, 1988–2011: A Population-based observational study. *Pediatric Blood & Cancer*, *62*(10), 1819-1825. doi:10.1002/pbc.25544
- [21] Rivera-Luna, R., Velasco-Hidalgo, L., Zapata-Tarrés, M., Cárdenas-Cardos, R., & Aguilar-Ortiz, M. R. (2017). Current outlook of childhood cancer epidemiology in a middle-income country under a public health insurance program. *Pediatric Hematology and Oncology*, *34*(1), 43-50. doi:<https://doi.org/10.1080/08880018.2016.1276236>
- [22] Rivera-Luna, R., Correa-González, C., Altamirano-Alvarez, E., Sánchez-Zubieta, F., Cárdenas-Cardos, R., Escamilla-Asian, G., . . . Aguilar-Romo, M. (2013). Incidence of childhood cancer among Mexican children registered under a public medical insurance program. *International Journal of Cancer*, *132*(7), 1646-1650. doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.27771>
- [23] Rivera-Luna, R., Shalkow-Klincovstein, J., Velasco-Hidalgo, L., Cárdenas-Cardos, R., Zapata-Tarrés, M., Olaya-Vargas, A., . . . Pantoja-Guillen, F. (2014). Descriptive Epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. *BMC Cancer*, *14*(1), 790-798. doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-790>
- [24] Metayer, C., Dahl, G., Wiemels, J., & Miller, M. (2016). Childhood Leukemia: A preventable disease. *Pediatrics*, *138*(1), S45-S55. doi:<https://doi.org/10.1542/peds.2015-4268H>
- [25] Borkhardt, A., Wilda, M., Fuchus, M., Gortner, L., & Reiss, I. (2003). Congenital leukaemia after heavy abuse of permethrin during pregnancy. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, *88*(5), 436-437. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.12.003>
- [26] Pedraza, A., & Navarrete, M. (2017). Efecto de la exposición in vitro a permetrina y malatión en los genes IGH y KMT2A (Tesis de licenciatura). Estado de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México.

- [27] Wakeford, R., & Little, M. P. (2003). Risk coefficients for childhood cancer after intrauterine irradiation: A review. *International Journal of Radiation Biology*, 79(5), 293-309. doi:<https://doi.org/10.1080/0955300031000114729>
- [28] Ahlbom, A., Day, N., Feychting, M., Roman, E., Skinner, J., Dockerty, J., . . . Vekasalo, P. K. (2000). A pooled analysis of magnetic fields and childhood leukaemia. *British Journal of Cancer*, 83(5), 692-698. doi:[doi: 10.1054/ bjoc.2000.1376](https://doi.org/10.1054/bjoc.2000.1376)
- [29] Kheifets, L., Ahlbom, A., Crespi, C. M., Draper, G., Hagihara, J., Lowenthal, R. M., . . . Wunsch Filho, V. (2010). Pooled analysis of recent studies on magnetic fields and childhood leukaemia. *British Journal of Cancer*, 103(7), 1128-1135. doi:<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605838>
- [30] Ahmadi Ghezdasht, S., Shirdel, A., Ali Assaerehzadegan, M., Hassannia, T., Rahimi, H., Miri, R., & Rahim Rezaee, S. A. (2013). Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Oncogenesis: Molecular aspects of virus and host interactions in pathogenesis of Adult T cell Leukemia/Lymphoma (ATL). *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(3), 179-195.
- [31] Sehgal, S., Mujtaba, S., Gupta, D., Aggarwal, R., & Marwaha, R. K. (2010). High incidence of Epstein Barr virus infection in childhood acute lymphocytic leukemia: A preliminary study. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 53(1), 63-67. doi:<https://doi.org/10.4103/0377-4929.59186>
- [32] Rezk, S. A., Zhao, X., & Weiss, L. M. (2018). Epstein-Barr virus (EBV)–associated lymphoid proliferations, a 2018 update. *Human Pathology*, 79(1), 18-41. doi:<http://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.05.020>
- [33] Taylor, G. (1996). The hereditary basis of human leukemia. En *Leukemia 6th ed.* (págs. 201-245). Philadelphia: WB Saunders.
- [34] Mezei, G., Sudan, M., Izraeli, S., & Kheifets, L. (2014). Epidemiology of childhood leukemia in the presence and absence of Down syndrome. *Cancer Epidemiology*, 38(5), 479-489. doi:<https://doi.org/10.1016/j.canep.2014.07.006>
- [35] Richardson, R. B. (2011). Promotional etiology for common childhood acute lymphoblastic leukemia: The infective lymphoid recovery hypothesis. *Leukemia Research*, 35(11), 1425-1431. doi:<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2011.07.023>
- [36] Baldridge, M. T., King, K. Y., Boles, N. C., Weksberg, D. C., & Goodell, M. A. (2010). Quiescent haematopoiesis stem cell are activated by INF- γ in response to chronic infection. *Nature*, 465(7299), 793-797. doi:<https://doi.org/10.1038/nature09135>
- [37] Ratnaparkhe, M., Hlevnjak, M., Kolb, T., Jauch, A., Maass, K. K., Devens, F., . . . Pfister, S. (2017). Genomic profiling of Acute lymphoblastic leukemia in ataxia telangiectasia patients reveals tight link between ATM mutations and chromothripsis. *Leukemia*, 31(10), 2048-2056. doi:<http://dx.doi.org/10.1038/leu.2017.55>
- [38] Navarrete-Meneses, M. d., Pérez-Vera, P., & Cruz-Alcivar, R. (2012). Síndromes de inestabilidad cromosómica asociados con inmunodeficiencia: Aspectos citogenéticos de importancia en el diagnóstico. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 21(1), 13-22.
- [39] Hsu, L. I., Chokkalingam, A. P., Briggs, F. B., Walsh, K., Crouse, V., Fu, C., . . . Buffler, P. A. (2015). Association of genetic variation in IKZF1, ARID5B, and CEBPE and surrogates for early-life infections with the risk of acute lymphoblastic leukemia in Hispanic children. *Cancer Causes and Control*, 26(4), 609-619. doi:<https://doi.org/10.1007/s10552-015-0550-3>

- [40] Migliorini, G., Fiege, B., Hosking, F. J., Umar, R., Sherborne, A. L., Da Silva Filho, M. I., . . . Kinsey, S. E. (2013). Variation at 10p12.2 and 10p14 influences risk of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia and phenotype. *Blood*, *122*(19), 3298-3307. doi:<https://doi.org/10.1182/blood-2013-03-491316>
- [41] Treviño, L. R., Yang, W., French, D., Hunger, S. P., Carroll, W. L., Devidas, M., . . . Relling, M. V. (2009). Germline genomic variants associated with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, *41*(5), 1001-1005. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.432>
- [42] Xu, H., Yang, W., Perez-Andreu, V., Devidas, M., Fan, Y., Cheng, C., . . . Yang, J. (2013). Novel susceptibility variants at 10p12.31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. *Journal of the National Cancer Institute*, *105*(10), 733-742. doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/djt042>
- [43] Marwal, A., Sahu, A. K., & Gaur, R. K. (2013). Molecular Markers: Tool for Genetic Analysis. En *Animal Biotechnology: Tools and Techniques* (págs. 289-305). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00016-X>
- [44] Caratachea, M. A. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, *20*(3), 213-221.
- [45] Ramírez-Bello, J., Vargas-Alarcón, G., Tovilla-Zárate, C., & Fragoso, J. M. (2013). Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): Implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México*, *149*(2), 220-228.
- [46] Ramírez-Bello, J., & Jiménez-Morales, M. (2017). [Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases]. *Gaceta médica de México*, *153*(2), 238-250. doi:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28474710>
- [47] Zhang, Y., Bertolino, A., Fazio, L., Blasi, G., Rampino, A., Romano, R., . . . Sadée, W. (2007). Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(51), 20552-20557. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.0707106104>
- [48] Hirose, Y., Ozaki, K., Takahashi, A., Mizuta, H., Kubo, T., Kimura, T., . . . Ikegawa, S. (2008). A Functional Polymorphism in THBS2 that Affects Alternative Splicing and MMP Binding Is Associated with Lumbar-Disc Herniation. *American Journal of Human Genetics*, *82*(5), 1122-1129. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.03.013>
- [49] Papp, A. C., Pinsonneault, J. K., Wang, D., Newman, L. C., Gong, Y., Johnson, J. A., . . . Sadee, W. (2012). Cholesteryl ester transfer protein (CETP) polymorphisms affect mRNA splicing, HDL levels, and sex-dependent cardiovascular risk. *PLoS ONE*, *7*(3). doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031930>
- [50] Pastorczak, A., Górniak, P., Sherborne, A., Hosking, F., Trelińska, J., Lejman, M., . . . Młynarski, W. (2011). Role of 657del5 NBN mutation and 7p12.2 (IKZF1), 9p21 (CDKN2A), 10q21.2 (ARID5B) and 14q11.2 (CEBPE) variation and risk of childhood ALL in the Polish population. *Leukemia Research*, *35*(11), 1534-1536. doi:<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2011.07.034>

- [51] Gutierrez-Camino, A., Martin-Guerrero, I., & García-Orad, A. (2017). Genetic susceptibility in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Medical Oncology*, *34*(10), 1-9. doi:<https://doi.org/10.1007/s12032-017-1038-7>
- [52] Sun, L., Heerema, N., Crotty, L., Wu, X., Navara, C., Vassilev, A., . . . Uckun, F. M. (1999). Expression of dominant-negative and mutant isoforms of the antileukemic transcription factor Ikaros in infant acute lymphoblastic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(2), 680-685. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.680>
- [53] Dijon, M., Bardin, F., Murati, A., Batoz, M., Chabannon, C., & Tonnelles, C. (2008). The role of Ikaros in human erythroid differentiation. *Blood*, *111*(3), 1138-1146. doi:<https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-098202>
- [54] Ronni, T., Payne, K. J., Ho, S. M., Dorsam, G., & Dovat, S. (2007). Human Ikaros function in activated T cells is regulated by coordinated expression of its largest isoforms. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(4), 2538-2547. doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M605627200>
- [55] Gharbi, H., Ben Hassine, I., Soltani, I., Safra, I., Ouerhani, S., Bel Haj Othmen, H., . . . Menif, S. (2016). Association of genetic variation in IKZF1, ARID5B, CDKN2A, and CEBPE with the risk of acute lymphoblastic leukemia in Tunisian children and their contribution to racial differences in leukemia incidence. *Pediatric Hematology and Oncology*, *33*(3), 157-167.
- [56] Papaemmanuil, E., Hosking, F. J., Vijayakrishnan, J., Price, A., Olver, B., Sheridan, E., . . . Houlston, R. (2009). Loci on 7p12.2, 10q21.2 and 14q11.2 are associated with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, *41*(9), 1006-1010. doi:<https://doi.org/10.1038/ng.430>
- [57] Rudant, J., Orsi, L., Bonaventure, A., Goujon-Bellec, S., Baruchel, A., Petit, A., . . . Clavel, J. (2015). ARID5B, IKZF1 and non-genetic factors in the etiology of childhood acute lymphoblastic leukemia: The ESCALE study. *PLoS ONE*, *10*(3), 1-16. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121348>
- [58] Al-absi, B., Razif, M. F., Noor, S. M., Saif-Ali, R., Aqlan, M., Salem, S. D., . . . Muniandy, S. (2017). Contributions of IKZF1, DDC, CDKN2A, CEBPE, and LMO1 Gene Polymorphisms to Acute Lymphoblastic Leukemia in a Yemeni Population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, *21*(10), 592-599. doi:<https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0084>
- [59] Bhat, A., Shah, R., Bhat, G., Verma, S., Sharma, V., Sharma, I., . . . Kumar, R. (2019). Association of ARID5B and IKZF1 Variants with Leukemia from Northern India. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, *23*(3), 176-179. doi:<https://doi.org/10.1089/gtmb.2018.0283>
- [60] Deloukas, P., Earthrowl, M., Grafham, D., Rubenfield, M., French, L., Steward, C., . . . Ambrose, K. (2004). The DNA sequence and comparative analysis of human chromosome 10. *Nature*, *429*(6990), 375-381. doi:<https://doi.org/10.1038/nature02462>
- [61] NCBI. (3 de Noviembre de 2019). *PIP4K2A phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase type 2 alpha [Homo sapiens (human)]*. Recuperado el 28 de Agosto de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5305>
- [62] Liao, F., Yin, D., Zhang, Y., Hou, Q., Zheng, Z., Yang, L., . . . Li, Y. (2016). Association between PIP4K2A polymorphisms and acute lymphoblastic leukemia susceptibility. *Medicine (United States)*, *95*(18), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003542>

- [63] de Smith, A. J., Walsh, K. M., Francis, S. S., Zhang, C., Hansen, H. M., Smirnov, I., . . . Wiemels, J. L. (2018). BMI1 enhancer polymorphism underlies chromosome 10p12.31 association with childhood acute lymphoblastic leukemia. *International Journal of Cancer*, *143*(11), 2647-2658. doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.31622>
- [64] Heilig, R., Petit, J., Vico, V., Dasilva, C., Robert, C., Wincker, P., . . . Weissenbach, J. (28 de Abril de 2001). *Human chromosome 14 DNA sequence BAC R-244E17 of library RPCI-11 from chromosome 14 of Homo sapiens (Human), complete sequence*. Recuperado el 01 de Abril de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/AL117258.4>
- [65] Wada, T., Akagi, T., Muraoka, M., Toma, T., Agematsu, K. K., Koeffler, H. P., . . . Yachie, A. (2015). A Novel In-Frame Deletion in the Leucine Zipper Domain of C/EBP ϵ Leads to Neutrophil-Specific Granule Deficiency. *The Journal of Immunology*, *195*(1), 80-86. doi:[doi:10.4049/jimmunol.1402222](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402222)
- [66] Stott, F. J., Bates, S., James, M. C., McConnell, B. B., Starborg, M., Brookes, S., . . . Peters, G. (1998). The alternative product from the human CDKN2A locus, p14(ARF), participates in a regulatory feedback loop with p53 and MDM2. *EMBO Journal*, *17*(17), 5001-5014. doi:<https://doi.org/10.1093/emboj/17.17.5001>
- [67] Bockstaele, L., Kooken, H., Libert, F., Paternot, S., & Dumont, J. E. (2006). Regulated Activating Thr172 Phosphorylation of Cyclin-Dependent Kinase 4(CDK4): Its Relationship with Cyclins and CDK "Inhibitors". *Molecular and Cellular Biology*, *26*(13), 5070-587673. doi:<https://doi.org/10.1128/mcb.02006-05>
- [68] Ashwell, R. (13 de Diciembre de 2012). *Homo sapiens GATA binding protein 3 (GATA3), RefSeqGene on chromosome 10*. Recuperado el 01 de Marzo de 2018, de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NG_015859.1?from=5001&to=25498&report=genbank.
- [69] Sasaki, T., Onodera, A., Hosokawa, H., Watanabe, Y., Horiuchi, S., Yamashita, J., . . . Nakayama, T. (2013). Genome-Wide Gene Expression Profiling Revealed a Critical Role for GATA3 in the Maintenance of the Th2 Cell Identity. *PLoS ONE*, *8*(6), 1-12. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066468>
- [70] Perez-Andreu, V., Roberts, K. G., Xu, H., Smith, C., Zhang, H., Yang, W., . . . Yang, J. (2015). Lymphoid neoplasia: A genome-wide association study of susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Blood*, *125*(4), 680-686. doi:<https://doi.org/10.1182/blood-2014-09-595744>
- [71] Yang, W., Treviño, L. R., Yang, J. J., Scheet, P., Pui, C. H., Evans, W. E., & Relling, M. V. (2010). ARID5B SNP rs10821936 is associated with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in blacks and contributes to racial differences in leukemia incidence. *Leukemia*, *24*(4), 894-896. doi:<https://doi.org/10.1038/leu.2009.277>
- [72] Xu, H., Cheng, C., Devidas, M., Pei, D., Fan, Y., Yang, W., . . . Yang, J. (2012). ARID5B genetic polymorphisms contribute to racial disparities in the incidence and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, *30*(7), 751-757. doi:<https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.0345>

- [73] Bekker-Méndez, V. C., Núñez-Enríquez, J. C., Torres Escalante, J. L., Alvarez-Olmo, E., González-Montalvoc, P. M., Jiménez-Henández, E., . . . Rosas-Vargas, H. (2016). ARID5B, CEBPE and PIP4K2A Germline Genetic Polymorphisms and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Mexican Patients: A MIGICCL Study. *Archives of Medical Research*, 47(8), 623-628. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.12.003>
- [74] Reyes-León, A., Ramírez-Martínez, M., Fernández-García, D., Amaro-Muñoz, D., Velázquez-Aragón, J. A., Salas-Labadía, C., . . . Pérez-Vera, P. (2019). Variants in ARID5B gene are associated with the development of acute lymphoblastic leukemia in Mexican children. *Annals of Hematology*, 98(10), 2379-2388. doi:<http://doi.org/10.1007/s00277-019-03730-x>
- [75] Kreile, M., Piekuse, L., Rots, D., Dobeles, Z., Kovalova, Z., & Lace, B. (2016). Analysis of possible genetic risk factors contributing to development of childhood acute lymphoblastic leukaemia in the Latvian population. *Archives of Medical Science*, 12(3), 479-485. doi:<https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59920>
- [76] Zeng, H., Wang, X. B., Cui, N. H., Nam, S., Zeng, T., & Long, X. (2014). Associations between AT-rich interactive domain 5B gene polymorphisms and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: A meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(15), 6211-6217. doi:<https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.15.6211>
- [77] Lin, C. Y., Li, M. J., Chang, J. G., Liu, S. C., Weng, T., Wu, K. H., . . . Peng, C. T. (2014). High-resolution melting analyses for genetic variants in ARID5B and IKZF1 with childhood acute lymphoblastic leukemia susceptibility loci in Taiwan. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 52(2-3), 140-145. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2013.10.003>
- [78] Linabery, A. M., Blommer, C. N., Spector, L. G., Davies, S. M., Robison, L. L., & Ross, J. A. (2013). ARID5B and IKZF1 variants, selected demographic factors, and childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Oncology Group. *Leukemia Research*, 37(8), 936-942. doi:<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.04.022>
- [79] Wilsker, D., Patsialou, A., Dallas, P. B., & Moran, E. (2002). ARID proteins: A diverse family of DNA binding proteins implicated in the control of cell growth, differentiation, and development. *Cell Growth and Differentiation*, 13(3), 95-106.
- [80] Wilsker, D., Probst, L., Wain, H. M., Maltais, L., Tucker, P. W., & Moran, E. (2005). Nomenclature of the ARID family of DNA-binding proteins. *Genomics*, 86(2), 242-251. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2005.03.013>
- [81] Uniprot. (18 de Julio de 2018). *UniProtKB - Q14865 (ARI5B_HUMAN)*. Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de https://www.uniprot.org/uniprot/Q14865#similar_proteins
- [82] Lahoud, M. H., Ristevski, S., Venter, D. J., Jermiin, L. S., Bertoncetto, I., Zavarsek, S., . . . Kola, I. (2001). Gene targeting of Desrt, a novel ARID class DNA-binding protein, causes growth retardation and abnormal development of reproductive organs. *Genome Research*, 11(8), 1327-1334. doi:<https://doi.org/10.1101/gr.168801>
- [83] Organización Mundial de la Salud. (Enero de 2009). *Marco Conceptual de la Clasificación Internacional para la Seguridad del Paciente*. Recuperado el 11 de Diciembre de 2017, de https://www.who.int/patientsafety/implementation/icps/icps_full_report_es.pdf

- [84] Jaime-Pérez, J. C., Pinzón-Uresti, M. A., Jiménez-Castillo, R. A., Colunga-Pedraza, J. E., González-Llano, Ó., & Gómez-Almaguer, D. (2018). Relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia and outcomes at a reference center in Latin America: organomegaly at diagnosis is a significant clinical predictor. *Hematology*, *23*(1), 1-9. doi:<https://doi.org/10.1080/10245332.2017.1333294>
- [85] Juárez, M, & Pérez, P. (2014). Expresión de los genes CASP8AP2 y H2AF2 y su asociación con la supervivencia y recaída en niños con leucemia linfoblástica aguda (Tesis de doctorado). Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- [86] Reyes-León, A., Juárez-Velázquez, R., Medrano-Hernández, A., Cuenca-Roldán, T., Salas-Labadía, C., Navarrete-Meneses, M., . . . Pérez-Vera, P. (2015). Expression of Iκ6 and Iκ8 isoforms and their association with relapse and death in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS ONE*, *10*(7), 1-12. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130756>
- [87] Howe, H. L. (2003). A review of the definition for multiple primary cancers in the United States. Workshop proceedings from december 4-6, 2002, in Princeton, New Jersey. Springfield (IL). En *North American Association of Cancer Registries*.
- [88] Jiménez-Hernández, E., Jaimes-Reyes, E. Z., Arellano-Galindo, J., García-Jiménez, X., Tiznado-García, H. M., Dueñas-González, M. T., . . . Mejía-Arangur, J. (2015). Survival of Mexican children with acute lymphoblastic leukaemia under treatment with the protocol from the Dana-Farber cancer institute 00-01. *BioMed Research International*, *1*(1-10), 2015. doi:<https://doi.org/10.1155/2015/576950>
- [89] Cerda, J., Vera, C., & Rada, G. (2013). Odds ratio: aspectos teóricos y prácticos. *Revista médica de Chile*, *141*(10), 1329-1335. doi:<https://doi.org/10.4067/S0034-98872013001000014>
- [90] Tisne. (2010). Riesgo relativo y Odds ratio ¿ Qué son y cómo se interpretan ? *Revista obstetricia y ginecología*, *5*(1), 51-54.
- [91] 1000 Genomes Browser. (Mayo de 2013). *Homo sapiens:GRCh37.p13 (GCF_000001405.25)Chr 10 (NC_000010.10):63,685,133 - 63,685,175*. Recuperado el 29 de Abril de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>
- [92] Jaime-Pérez, J. C. (2017). El problema de la recaída en la leucemia linfoblástica aguda de la infancia. *Revista de Hematología México*, *18*(1), 1-3.
- [93] Bell, J. (2002). Single nucleotide polymorphisms and disease gene mapping. *Arthritis Research*, *4*(1), 273-278. doi:<https://doi.org/10.1186/ar555>
- [94] Conomos, M. P., Laurie, C. A., Stilp, A. M., Gogarten, S. M., McHugh, C. P., Nelson, S. C., . . . Laurie, C. C. (2016). Genetic Diversity and Association Studies in US Hispanic/Latino Populations: Applications in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *American Journal of Human Genetics*, *98*(1), 165-184. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.12.001>

10. ANEXOS

ANEXO 1. Información de la base de datos de controles y pacientes

Controles	Pacientes
Clave	Clave
Fecha toma de muestra	Fecha toma de muestra
Nombre	Nombre
	No. de expediente
	Inmunofenotipo de la LLA
	Servicio que atiende al paciente
Nacionalidad	Nacionalidad
Lugar de residencia	Lugar de residencia
Lugar y fecha de nacimiento	Lugar y fecha de nacimiento
Idioma o dialecto	Idioma o dialecto
Lugar de nacimiento de los padres	Lugar de nacimiento de los padres
Lugar de residencia de los padres	Lugar de residencia de los padres
Ocupación de los padres	Ocupación de los padres
	Fecha de diagnóstico de LLA
	Fecha de recaída
	Fecha de inicio de vigilancia
	Fecha de su última consulta
	Síndromes genéticos asociados a LLA
Antecedentes de cáncer familiar	Antecedentes de cáncer familiar
	Hemoglobina al diagnóstico
	Leucocitos al diagnóstico
	Plaquetas al diagnóstico
	Presencia de síndrome de lisis tumoral
	Presencia de masa mediastinal
	Infiltración primaria
	Alteraciones numéricas en blastos
	Alteración estructurales en blastos
	Clasificación del riesgo
	Protocolo de tratamiento
	Respuesta a ventana de esteroides
	Protocolo de tratamiento (recaída)
Estado actual de salud	Estado actual a la fecha de corte
Observaciones	Observaciones

ANEXO 2. Carta de Consentimiento y Asentimiento Informado para controles

Carta de Consentimiento Informado para controles (niños)

Por medio de la presente, se invita a su hijo(a) a participar como control sin leucemia aguda linfoblástica o LLA en el estudio de investigación “POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL GEN *ARID5B* CON VALOR PRONÓSTICO A RECAÍDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”. Para que usted decida si su hijo(a) participará en el estudio debe leer cuidadosamente este formato y preguntar sus dudas.

¿Para qué es este estudio? El objetivo del estudio es buscar cambios en el gen *ARID5B*, el cual es importante para controlar el crecimiento de las células de la sangre. Cuando este gen no funciona adecuadamente en los niños, se produce LLA. Para conocer si los cambios en este gen tienen importancia en el desarrollo de LLA, es necesario conocer y comparar los resultados de controles sin LLA como su hijo(a) con los resultados de niños con LLA.

¿Quiénes pueden participar en el estudio? Participan personas sin LLA como su hijo(a).

¿En qué consiste el estudio y qué tendrá que hacer mi hijo(a)? A su hijo(a) se le tomará una muestra de saliva o de la boca con un cepillo suave, para obtener el ADN que será utilizado para buscar los cambios en el gen *ARID5B*.

¿Quién pagará los gastos del estudio? El estudio no tiene ningún costo para usted, y es muy importante aclarar que NO se le pagará a usted o a su hijo(a) ninguna cantidad por su participación.

¿Qué efectos no deseables pueden pasarle a mi hijo(a) al participar en el estudio? La muestra será tomada por personas que cuentan con el entrenamiento necesario, bajo todas las medidas de higiene y seguridad, como son el uso de equipo estéril y desechable. Durante la toma de muestra, es posible que su hijo(a) sienta una molestia leve, sin embargo, el procedimiento es muy sencillo y rápido, por lo que se espera que no haya molestia ni dolor.

¿Qué beneficio puede mi hijo(a) esperar? NO existen beneficios para su hijo(a), sin embargo, su participación ayudará a conocer los cambios en este gen y esto podría beneficiar a niños con LLA, ya que permitirá realizar un diagnóstico más temprano y un tratamiento más oportuno. También es importante mencionar que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas.

¿Puedo negarme a que mi hijo(a) participe en este estudio? Sí lo puede hacer, ya que la participación de su hijo(a) es completamente voluntaria.

¿Quiénes van tener información de los datos de mi hijo(a)? Los datos personales de su hijo(a), sólo estarán disponibles para los investigadores responsables. Las muestras serán codificadas y los resultados confidenciales. La información que se publique en revistas científicas o se presente en congresos, no incluirá datos personales que permitan conocer la identidad de usted o su hijo(a).

¿Qué se va a hacer con el material genético? El material genético obtenido de la muestra de su hijo(a), será codificado, almacenado y estudiado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría. Una parte de este material genético será analizado en el extranjero como parte de este proyecto y al terminar el estudio, el sobrante del material se regresará y almacenará en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos. En caso de que exista un proyecto nuevo en el que se desee utilizar el sobrante de la muestra de su hijo(a), se le informará y se le invitará a participar nuevamente. Ninguna persona ajena al proyecto recibirá información relacionada con su hijo(a) ni con la muestra. Si es su deseo, usted podrá retirar el material genético de su hijo(a) en cualquier momento del estudio, haciendo la solicitud por escrito a los investigadores responsables.

¿Puedo conocer los resultados del estudio? Si, usted puede tener acceso al resultado de su hijo(a), sin embargo, al ser un dato aislado su interpretación es difícil. El resultado de su hijo(a) se debe analizar en conjunto con los resultados del resto de los controles y compararlo con los resultados de los pacientes.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas? Favor de llamar a los investigadores responsables, Dra. Adriana Reyes León, Dra. Consuelo Salas Labadía y Dra. Patricia Pérez Vera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría que están disponibles de lunes a viernes de 9:00 a 17:00 hrs, en el teléfono 10-84-09-00 extensiones 1471 y 1484. En caso de dudas sobre los derechos del participante, favor de comunicarse con la Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética al teléfono 10-84-09-00 extensión 1581.

Al firmar a continuación, acepto que:

- ✓ He leído este formato de consentimiento.
- ✓ He tenido la oportunidad de realizar preguntas y éstas han sido contestadas claramente.
- ✓ Entiendo que la participación de mi hijo(a) es voluntaria.
- ✓ Acepto que mi hijo(a) participe en el estudio.
- ✓ Doy permiso para que se use y comparta la información referente a mi hijo(a) como se describe en este formato.
- ✓ Puedo elegir que mi hijo(a) no participe en el estudio o que lo abandone en cualquier momento, comunicándolo a los investigadores responsables del estudio.

Nombre del niño (o del participante)	Fecha
--------------------------------------	-------

Nombre y firma del Padre, o Tutor	Fecha
-----------------------------------	-------

Nombre y firma de la madre o tutor	Fecha
------------------------------------	-------

Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del Consentimiento	Fecha
---	-------

Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario
---------------------------------------	-------	----------------------------

Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario
---------------------------------------	-------	----------------------------

Recibí copia de este consentimiento

Nombre y firma	Fecha
----------------	-------

Carta de Asentimiento Informado para controles

Por medio de la presente, se me invita a participar como control sin leucemia linfoblástica aguda o LLA en el estudio de investigación “POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL GEN *ARID5B* CON VALOR PRONÓSTICO A RECAÍDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”. Para que yo decida participar en el estudio debo leer cuidadosamente este formato y preguntar mis dudas.

¿Para qué es este estudio? El objetivo del estudio es buscar cambios en el gen *ARID5B*, el cual es importante para controlar el crecimiento de las células de la sangre. Cuando este gen no funciona adecuadamente en los niños, se produce LLA. Para conocer si los cambios en este gen tienen importancia en el desarrollo de LLA, es necesario conocer y comparar los resultados de controles sin LLA como yo, con los resultados de niños con LLA.

¿Quiénes pueden participar en el estudio? Personas sin LLA, como yo.

¿En qué consiste el estudio y que tendré que hacer? Me tomarán una muestra de saliva o de células de la boca con un cepillo suave, para obtener el ADN que será utilizado para buscar los cambios en el gen *ARID5B*.

¿Quién pagará los gastos del estudio? El estudio no tiene ningún costo para mí y es muy importante aclarar que NO se me pagará ninguna cantidad por mi participación.

¿Qué efectos no deseables pueden pasarme al participar en el estudio? La muestra me la tomarán personas que cuentan con el entrenamiento necesario, bajo todas las medidas de higiene y seguridad, como son el uso de equipo estéril y desechable. Durante la toma de muestra, es posible que sienta una molestia leve, sin embargo, el procedimiento es muy sencillo y rápido, por lo que se espera que no tenga molestia ni dolor.

¿Qué beneficio puedo esperar? NO existen beneficios para mí, sin embargo, mi participación ayudará a conocer los cambios en este gen y esto podría beneficiar a niños con LLA, ya que permitirá realizar un diagnóstico más temprano y un tratamiento más oportuno. También es importante mencionar que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas.

¿Puedo negarme a participar en este estudio? Sí puedo hacerlo, ya que mi participación es completamente voluntaria.

¿Quiénes van tener información de mis datos? Mis datos personales sólo estarán disponibles para los investigadores responsables. Las muestras serán codificadas y los resultados confidenciales. La información que se publique en revistas científicas o se presente en congresos, no incluirá datos personales que permitan conocer mi identidad.

¿Qué se va a hacer con el material genético? El material genético obtenido de mi muestra, será codificado, almacenado y estudiado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría. Una parte de este material será analizado en el extranjero como parte de este proyecto y al terminar el estudio, el sobrante del material se regresará y almacenará en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos. En caso de que exista un proyecto nuevo en el que se desee utilizar el sobrante de mi muestra, se me informará y se me invitará a participar nuevamente. Ninguna persona ajena al proyecto recibirá información relacionada conmigo ni con mi muestra. Si es mi deseo, podré retirar el material genético de mi muestra en cualquier momento del estudio, haciendo la solicitud por escrito a los investigadores responsables.

¿Puedo conocer los resultados del estudio? Si, puedo tener acceso a mi resultado, sin embargo, al ser un dato aislado su interpretación es difícil. Mi resultado se debe analizar en conjunto con los resultados del resto de los controles y compararlo con los resultados de los pacientes con LLA.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas? Favor de llamar a los investigadores responsables, Dra. Adriana Reyes León, Dra. Consuelo Salas Labadía y Dra. Patricia Pérez Vera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría que están disponibles de lunes a viernes de 9:00 a 17:00 hrs, en el teléfono 10-84-09-00 extensiones 1471 y 1484. En caso de tener dudas sobre mis derechos como participante, puedo comunicarme con la Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética al

teléfono 10-84-09-00 extensión 1581.

Al firmar a continuación, acepto que:

- ✓ He leído este formato de consentimiento.
- ✓ He tenido la oportunidad de realizar preguntas y éstas han sido contestadas claramente.
- ✓ Entiendo que mi participación es voluntaria.
- ✓ Acepto participar en el estudio.
- ✓ Doy permiso para que se use y comparta mi información como se describe en este formato.
- ✓ Puedo elegir no participar en el estudio o abandonar en cualquier momento, comunicándolo a los investigadores responsables del estudio.

_____	_____
Nombre del participante	Fecha

_____	_____
Nombre y firma del Padre, o Tutor	Fecha

_____	_____
Nombre y firma de la madre o tutor	Fecha

_____	_____
Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del consentimiento	Fecha

_____	_____	_____
Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario

_____	_____	_____
Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario

Recibí copia de este consentimiento

_____	_____
Nombre y firma	Fecha

Carta de Consentimiento Informado para controles (adultos)

Por medio de la presente, se me invita a participar como control sin leucemia linfoblástica aguda o LLA en el estudio de investigación “POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL GEN *ARID5B* CON VALOR PRONÓSTICO A RECAÍDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”. Para que yo decida participar en el estudio debo leer cuidadosamente este formato y preguntar mis dudas.

¿Para qué es este estudio? El objetivo del estudio es buscar cambios en el gen *ARID5B*, el cual es importante para controlar el crecimiento de las células de la sangre. Cuando este gen no funciona adecuadamente en los niños, se produce LLA. Para conocer si los cambios en este gen tienen importancia en el desarrollo de LLA, es necesario conocer y comparar los resultados de controles sin LLA como yo, con los resultados de niños con LLA.

¿Quiénes pueden participar en el estudio? Personas sin LLA, como yo.

¿En qué consiste el estudio y qué tendré que hacer? Me tomará una muestra de saliva o de células de la boca con un cepillo suave, para obtener el ADN que será utilizado para buscar los cambios en el gen *ARID5B*.

¿Quién pagará los gastos del estudio? El estudio no tiene ningún costo para mí y es muy importante aclarar que NO se me pagará ninguna cantidad por mi participación.

¿Qué efectos no deseables pueden pasarme al participar en el estudio? La muestra me la tomarán personas que cuentan con el entrenamiento necesario, bajo todas las medidas de higiene y seguridad, como son el uso de equipo estéril y desechable. Durante la toma de muestra, es posible que sienta una molestia leve, sin embargo, el procedimiento es muy sencillo y rápido, por lo que se espera que no tenga molestia ni dolor.

¿Qué beneficio puedo esperar? NO existen beneficios para mí, sin embargo, mi participación ayudará a conocer los cambios en este gen y esto podría beneficiar a niños con LLA, ya que permitirá realizar un diagnóstico más temprano y un tratamiento más oportuno. También es importante mencionar que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas.

¿Puedo negarme a participar en este estudio? Sí puedo hacerlo, ya que mi participación es completamente voluntaria.

¿Quiénes van tener información de mis datos? Mis datos personales sólo estarán disponibles para los investigadores responsables. Las muestras serán codificadas y los resultados confidenciales. La información que se publique en revistas científicas o se presente en congresos, no incluirá datos personales que permitan conocer mi identidad.

¿Qué se va a hacer con el material genético? El material genético obtenido de mi muestra, será codificado, almacenado y estudiado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría. Una parte de este material será analizado en el extranjero como parte de este proyecto y al terminar el estudio, el sobrante del material se regresará y almacenará en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos. En caso de que exista un proyecto nuevo en el que se desee utilizar el sobrante de mi muestra, se me informará y se me invitará a participar nuevamente. Ninguna persona ajena al proyecto recibirá información relacionada conmigo ni con mi muestra. Si es mi deseo, podré retirar el material genético de mi muestra en cualquier momento del estudio, haciendo la solicitud por escrito a los investigadores responsables.

¿Puedo conocer los resultados del estudio? Si, puedo tener acceso a mi resultado, sin embargo, al ser un dato aislado su interpretación es difícil. Mi resultado se debe analizar en conjunto con los resultados del resto de los controles y compararlo con los resultados de los pacientes con LLA.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas? Favor de llamar a los investigadores responsables, Dra. Adriana Reyes León, Dra. Consuelo Salas Labadía y Dra. Patricia Pérez Vera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría que están disponibles de lunes a viernes de 9:00 a 17:00 hrs, en el teléfono 10-84-09-00 extensiones 1471 y 1484. En caso de tener dudas sobre mis derechos como participante, puedo comunicarme con la Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética al

teléfono 10-84-09-00 extensión 1581.

Al firmar a continuación, acepto que:

- ✓ He leído este formato de consentimiento.
- ✓ He tenido la oportunidad de realizar preguntas y éstas han sido contestadas claramente.
- ✓ Entiendo que mi participación es voluntaria.
- ✓ Manifiesto que soy mayor de edad y acepto participar en el estudio.
- ✓ Doy permiso para que se use y comparta mi información como se describe en este formato.
- ✓ Puedo elegir no participar en el estudio o abandonar en cualquier momento, comunicándolo a los investigadores responsables del estudio.

_____ Nombre del participante	_____ Fecha
----------------------------------	----------------

_____ Nombre y firma del Padre, o Tutor	_____ Fecha
--	----------------

_____ Nombre y firma de la madre o tutor	_____ Fecha
---	----------------

_____ Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del consentimiento	_____ Fecha
--	----------------

_____ Nombre, firma y dirección del Testigo	_____ Fecha	_____ Relación con el voluntario
--	----------------	-------------------------------------

_____ Nombre, firma y dirección del Testigo	_____ Fecha	_____ Relación con el voluntario
--	----------------	-------------------------------------

Recibí copia de este consentimiento

_____ Nombre y firma	_____ Fecha
-------------------------	----------------

ANEXO 3. Carta de Consentimiento y Asentimiento Informado para pacientes

Carta de Consentimiento Informado para pacientes

Por medio de la presente, se invita a su hijo(a) a participar en el estudio de investigación “POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL GEN *ARID5B* CON VALOR PRONÓSTICO A RECAÍDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”. Para que usted decida si su hijo(a) participará en el estudio debe leer cuidadosamente este formato y preguntar sus dudas.

¿Para qué es este estudio? El objetivo del estudio es buscar cambios en el gen llamado *ARID5B*, el cual es importante para controlar el crecimiento de las células de la sangre. Cuando este gen no funciona adecuadamente en los niños como su hijo(a), se produce leucemia linfoblástica aguda o LLA. Por esta razón es necesario conocer el efecto de los cambios de este gen en nuestra población para entender un poco más sobre la enfermedad de su hijo(a).

¿Quiénes pueden participar en el estudio? Pacientes como su hijo(a) con diagnóstico de LLA.

¿En qué consiste el estudio y qué tendrá que hacer mi hijo(a)? A su hijo(a) se le tomará una muestra de saliva o de la boca con un cepillo suave, para obtener el material genético (ADN) que será utilizado para buscar los cambios en el gen *ARID5B*.

¿Quién pagará los gastos del estudio? Este estudio no tiene ningún costo para usted, y es muy importante aclarar que NO se le pagará a usted o a su hijo(a) ninguna cantidad por su participación.

¿Qué efectos no deseables pueden pasarle a mi hijo(a) al participar en el estudio? La muestra será tomada por personas que cuentan con el entrenamiento necesario, bajo todas las medidas de higiene y seguridad, como son el uso de equipo estéril y desechable. Durante la toma de muestra, es posible que su hijo(a) sienta una molestia leve, sin embargo, el procedimiento es muy sencillo y rápido, por lo que se espera que no haya molestia ni dolor.

¿Qué beneficio puede mi hijo(a) esperar? No existen beneficios inmediatos para su hijo(a), sin embargo, al conocer los cambios en este gen, en un futuro se puede beneficiar a otros niños con LLA, ya que permitirá realizar un diagnóstico más temprano y un tratamiento más oportuno. También es importante mencionar que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas.

¿Puedo negarme a que mi hijo(a) participe en este estudio? Sí lo puede hacer, ya que la participación de su hijo(a) es completamente voluntaria y su decisión no repercutirá en la atención médica que le proporciona el Instituto.

¿Quiénes van tener información de los datos de mi hijo(a)? Los datos de su hijo(a), sólo estarán disponibles para el médico a cargo y los investigadores responsables. Las muestras serán codificadas y los resultados confidenciales. La información que se publique en revistas científicas o se presente en congresos, no incluirá datos personales que permitan conocer la identidad de usted o su hijo(a).

¿Qué se va a hacer con el material genético? El material genético obtenido de la muestra de su hijo(a), será codificado, almacenado y estudiado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría. Una parte de este material genético será analizado en el extranjero como parte de este proyecto y al terminar el estudio, el sobrante del material se regresará y almacenará en el Laboratorio. En caso de que exista un proyecto nuevo relacionado con LLA y se desee utilizar el sobrante de la muestra de su hijo(a), se le informará y se le invitará a participar nuevamente. Ninguna persona ajena al proyecto recibirá información relacionada con su hijo(a) ni con la muestra. Si es su deseo, usted podrá retirar el material genético de la muestra de su hijo(a) en cualquier momento del estudio, haciendo la solicitud por escrito a los investigadores responsables.

¿Puedo conocer los resultados del estudio? Si, usted puede tener acceso al resultado de su hijo(a), sin embargo, al ser un dato aislado su interpretación es difícil; el resultado de su hijo(a) se debe analizar en conjunto con los resultados del resto de los pacientes

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas? Favor de llamar a los investigadores responsables, Dra. Adriana Reyes León, Dra. Consuelo Salas Labadía y Dra. Patricia Pérez Vera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría que están disponibles de lunes a viernes de 9:00 a 17:00 hrs, en el teléfono 10-84-09-00 extensiones 1471 y 1484. En caso de dudas sobre los derechos del participante, favor de comunicarse con la Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética al teléfono 10-84-09-00 extensión 1581.

Al firmar a continuación, acepto que:

- ✓ He leído este formato de consentimiento.
- ✓ He tenido la oportunidad de realizar preguntas y éstas han sido contestadas claramente.
- ✓ Entiendo que la participación de mi hijo(a) es voluntaria.
- ✓ Acepto que mi hijo(a) participe en el estudio.
- ✓ Doy permiso para que se use y comparta la información referente a mi hijo(a) como se describe en este formato.
- ✓ Puedo elegir que mi hijo(a) no participe en el estudio o que lo abandone en cualquier momento, comunicándolo a los investigadores responsables del estudio.

Nombre del niño (o del participante)	Fecha
--------------------------------------	-------

Nombre y firma del Padre, o Tutor	Fecha
-----------------------------------	-------

Nombre y firma de la madre o tutor	Fecha
------------------------------------	-------

Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del consentimiento	Fecha
---	-------

Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario
---------------------------------------	-------	----------------------------

Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario
---------------------------------------	-------	----------------------------

Recibí copia de este consentimiento

Nombre y firma	Fecha
----------------	-------

Carta de Asentimiento Informado para pacientes

Por medio de la presente, se me invita a participar en el estudio de investigación “POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL GEN *ARID5B* CON VALOR PRONÓSTICO A RECAÍDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”. Para que yo decida participar en el estudio debo leer cuidadosamente este formato y preguntar mis dudas.

¿Para qué es este estudio? El objetivo del estudio es buscar cambios en el gen llamado *ARID5B*, el cual es importante para controlar el crecimiento de las células de la sangre. Cuando este gen no funciona adecuadamente en los niños como yo, se produce leucemia linfoblástica aguda o LLA. Por esta razón es necesario conocer el efecto de los cambios de este gen en nuestra población para entender un poco más sobre mi enfermedad.

¿Quiénes pueden participar en el estudio? Pacientes como yo, con diagnóstico de LLA.

¿En qué consiste el estudio y que tendré que hacer? Me tomarán una muestra de saliva o de células de la boca con un cepillo suave, para obtener el material genético (ADN) que será utilizado para buscar los cambios en el gen *ARID5B*.

¿Quién pagará los gastos del estudio? Este estudio no tiene ningún costo para mi, y es muy importante aclarar que NO se me pagará ninguna cantidad por mi participación.

¿Qué efectos no deseables pueden pasarme al participar en el estudio? La muestra me la tomarán personas que cuentan con el entrenamiento necesario, bajo todas las medidas de higiene y seguridad, como son el uso de equipo estéril y desechable. Durante la toma de muestra, es posible que sienta una molestia leve, sin embargo, el procedimiento es muy sencillo y rápido, por lo que se espera que no tenga molestia ni dolor.

¿Qué beneficio puedo esperar? No existen beneficios inmediatos para mi, sin embargo, el conocer los cambios en este gen, en un futuro se puede beneficiar a otros niños con LLA, ya que permitirá realizar un diagnóstico más temprano y un tratamiento más oportuno. También es importante mencionar que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas.

¿Puedo negarme a participar en este estudio? Sí puedo hacerlo, ya que mi participación es completamente voluntaria y mi decisión no repercutirá en la atención médica que el Instituto me proporciona.

¿Quiénes van tener información de mis datos? Mis datos sólo estarán disponibles para el médico a cargo y los investigadores responsables. Las muestras serán codificadas y los resultados confidenciales. La información que se publique en revistas científicas o se presente en congresos, no incluirá mis datos personales que permitan conocer mi identidad.

¿Qué se va a hacer con el material genético? El material genético obtenido de mi muestra, será codificado, almacenado y estudiado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría. Una parte de este material genético será analizado en el extranjero como parte de este proyecto y al terminar el estudio, el sobrante del material se regresará y almacenará en el Laboratorio. En caso de que exista un proyecto nuevo relacionado con LLA y se desee utilizar el sobrante de mi muestra, se me informará y se me invitará a participar nuevamente. Ninguna persona ajena al proyecto recibirá información relacionada conmigo ni con mi muestra. Si es mi deseo, podré retirar el material genético de mi muestra en cualquier momento del estudio, haciendo la solicitud por escrito a los investigadores responsables.

¿Puedo conocer los resultados del estudio? Si puedo tener acceso a mi resultado, sin embargo, al ser un dato aislado su interpretación es difícil; mi resultado se debe analizar en conjunto con los resultados del resto de los pacientes.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas? Favor de llamar a los investigadores responsables, Dra. Adriana Reyes León, Dra. Consuelo Salas Labadía y Dra. Patricia Pérez Vera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría que están disponibles de lunes a viernes de 9:00 a 17:00 hrs, en el teléfono 10-84-09-00 extensiones 1471 y 1484. En caso de tener dudas sobre mis derechos como participante, puedo comunicarme con la Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética al

teléfono 10-84-09-00 extensión 1581.

Al firmar a continuación, acepto que:

- ✓ He leído este formato de consentimiento.
- ✓ He tenido la oportunidad de realizar preguntas y éstas han sido contestadas claramente.
- ✓ Entiendo que mi participación es completamente voluntaria.
- ✓ Acepto participar en el estudio.
- ✓ Doy permiso para que se use y comparta mi información como se describe en este formato.
- ✓ Puedo elegir no participar en el estudio o abandonar en cualquier momento, comunicándolo a los investigadores responsables del estudio.

_____		_____
Nombre del participante		Fecha
_____		_____
Nombre y firma del Padre, o Tutor		Fecha
_____		_____
Nombre y firma de la madre o tutor		Fecha
_____		_____
Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del consentimiento		Fecha
_____	_____	_____
Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario
_____	_____	_____
Nombre, firma y dirección del Testigo	Fecha	Relación con el voluntario

Recibí copia de este consentimiento

_____		_____
Nombre y firma		Fecha

ANEXO 4. Método de recolección de muestras de saliva (Oragene DNA 0G-500)

El kit Orange DNA OG-500 (DNA Genotek Inc. ®, Ottawa, ON, Canadá) consta de una boquilla, un tubo de recolección y un tapón de rosca (Figura 12). La tapa de la boquilla contiene una solución conservadora, la cual cae en la saliva después de tapar el tubo con la boquilla. La solución ayuda a conservar la muestra por años a temperatura ambiente.

Recomendaciones para la toma de muestra de saliva: Tomar la muestra al menos 30 minutos después de haber ingerido alimentos y/o bebidas, mascar chicle o fumar. Si se está enfermo de gripe o tos, se debe evitar tomar la muestra. Se debe usar guantes y bata. En caso de derrame de líquidos se debe limpiar con gasas y alcohol.

Instrucciones de uso:

- Asegurarse de que la boquilla se encuentre bien enroscada en el tubo de recolección.
- Depositar la saliva en la boquilla para que resbale por el tubo.
- Evitar llenar el tubo con burbujas, colocar el tubo en posición vertical)
- La cantidad óptima de saliva que se debe recolectar son aproximadamente 2 ml (línea negra punteada en el tubo).
- Cerrar la tapa de la boquilla a presión hasta que se escuche un chasquido fuerte.
- La solución conservadora se depositará en el tubo para mezclarse con la saliva.
- Colocar el tubo en una gradilla y esperar aproximadamente 5 min.
- Retirar la boquilla y colocar el tapón de rosca, verificar que este bien cerrado.
- Mezclar vigorosamente por inversión para que la solución conservadora se incorpore totalmente a la muestra de saliva.
- Los tubos se almacenarán a temperatura ambiente en contenedores que los protejan del polvo, hasta su uso para la extracción de DNA genómico.
- La boquilla, los guantes y las gasas se deben desechar en un recipiente con bolsa roja de residuos peligrosos biológicos infecciosos (RPBI).

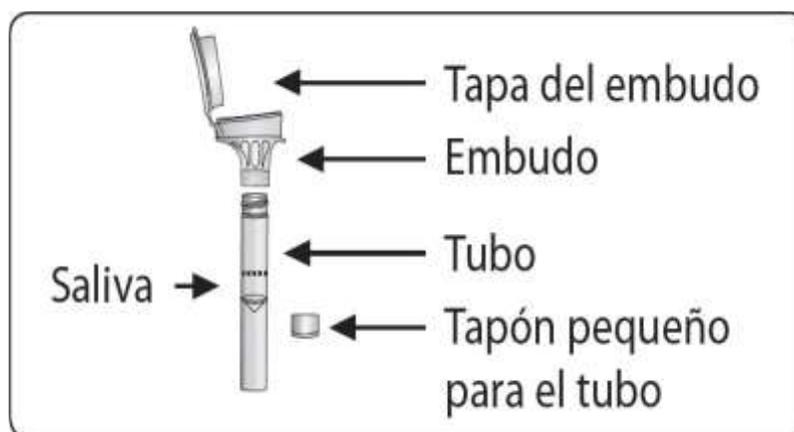


Figura 12. Kit comercial de recolección de saliva Orange DNA OG-500.

ANEXO 5. Método de extracción de DNA genómico de sangre periférica (Kit QIAamp DNA Blood Mini, QIAGEN)

Fundamento: Se utilizan columnas con membrana de sílice que se une específicamente al DNA para eliminar todos los restos celulares como proteínas y cationes divalentes.

Equipo y reactivos:

- Microcentrifuga con rotor para tubos de 2 mL, con capacidad de rotación de 20.000g.
- Incubadora de agua o bloque de calentamiento.
- Microtubos de 1,5 mL estériles.
- Columnas de extracción.
- Proteasa QIAGEN (QIAGEN, Hilden, Germany).
- Etanol al 96-100% a temperatura ambiente.
- Buffers del kit (AL, AW1, AW2 y AE) (QIAGEN, Hilden, Germany).

Metodología:

- 1) En un microtubo de 1.5 ml estéril, adicionar 20 µl de proteasa.
- 2) Adicionar 200 µl de sangre periférica y 200 µl de Buffer AL.
- 3) Agitar en vortex por 15 seg e incubar a 56°C durante 10 minutos.
- 4) Centrifugar brevemente para llevar todo el volumen al fondo del tubo.
- 5) Adicionar 200 µl de etanol al 96 o 100% y agitar con vortex por 15 segundos.
- 6) Centrifugar brevemente para llevar todo el volumen al fondo del tubo.
- 7) Tomar todo el volumen del microtubo y depositarlo en la columna.
- 8) Centrifugar por 1 minuto a 6000 x g a temperatura ambiente.
- 9) Desechar el tubo de recolección de la columna y colocar uno nuevo.
- 10) Adicionar a la columna 500 µl de Buffer AW1
- 11) Centrifugar a 6000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente
- 12) Desechar el tubo de recolección de la columna y colocar uno nuevo.
- 13) Adicionar 500 µl de Buffer AW2.
- 14) Centrifugar a 20,000 x g por 4 minutos a temperatura ambiente.
- 15) Desechar el contenido del tubo de recolección y volver a colocarlo en la columna.
- 16) Centrifugar a 20,000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente.
- 17) Desechar el tubo de recolección y colocar un microtubo de 1.5 ml estéril.
- 18) Adicionar 200 µl de Buffer AE e incubar a temperatura ambiente por 1 minuto.
- 19) Centrifugar a 6000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente.
- 20) Desechar la columna y guardar el microtubo con el DNA a 4°C.
- 21) Verificar la integridad y calidad del DNA por electroforesis en geles de agarosa.
- 22) Determinar la concentración por espectrofotometría.

Desechos RPBI: Guantes, puntas, tubos de recolección, tubos de heparina con residuos de sangre periférica tapados y gasas que hayan tenido contacto con residuos de sangre. Los residuos líquidos de sangre se inactivaron con hipoclorito de sodio al 12% una hora antes de desecharlos en la tarja con agua corriente abundante.

Desechos CRETI: Todos los geles de agarosa teñidos con GelRed. Todos los residuos se desecharon en frascos ambar etiquetados como “desechos de extracción de DNA”.

El protocolo original se puede descargar en la página: [https://www.qiagen.com/us /shop/sample-technologies/dna/genomic-dna/qiaamp-dna-blood-mini-kit/#resources](https://www.qiagen.com/us/shop/sample-technologies/dna/genomic-dna/qiaamp-dna-blood-mini-kit/#resources)

ANEXO 6. Método de extracción de DNA genómico de saliva (Kit prepIT-L2P, DNA Genotek)

Fundamento: Se basa en métodos de precipitación. En la primera precipitación se eliminan las impurezas y los restos celulares, en la segunda se precipitan el DNA con etanol. Las nucleasas de la saliva se inactivan con una incubación a 50°C y las impurezas se eliminan con la incubación en hielo.

Equipo y reactivos:

- Microcentrifuga con rotor para tubos de 2 mL, con capacidad de rotación de 15.000 g.
- Microtubos de 1,5 mL estériles.
- Incubadora de aire o de agua o bloque de calentamiento a 50°C.
- Reactivo PT-L2P
- Etanol al 95%-100%) a temperatura ambiente.
- Etanol al 70% a temperatura ambiente.
- Buffer TE (10mM-Tris-HCl-EDTA1mM-pH 8,0) o solución similar para eluir el DNA.

Metodología:

- 1) Incubar el tubo con saliva a 50°C en una incubadora de aire durante 2 horas.
- 2) Transferir 500 µl de saliva a un microtubo de 1.5 mL estéril.
- 3) Adicionar 20 µl del reactivo PT-L2P y agitar en vortex por 6 segundos
- 4) Incubar en hielo por 10 minutos.
- 5) Centrifugar a temperatura ambiente por 10 minutos a 15,000 x g.
- 6) Transferir cuidadosamente el sobrenadante claro a un microtubo de 1.5 ml estéril.
- 7) Adicionar 600 µl de etanol al 95 o 100% a temperatura ambiente.
- 8) Mezclar por inversión 10 veces e incubar a temperatura ambiente por 10 minutos.
- 9) Centrifugar a 15,000x x g por 3 minutos a temperatura ambiente.
- 10) Cuidadosamente eliminar el sobrenadante para evitar agitar la pastilla.
- 11) Adicionar 250 µl de etanol al 70% e incubar a temperatura ambiente 1 minuto.
- 12) Centrifugar por 5 minutos a 15,000 x g a temperatura ambiente.
- 13) Desechar el sobrenadante y dejar secar la pastilla por 15 minutos a temperatura ambiente en un ambiente libre del polvo.
- 14) Adicionar 100 µl de Buffer TE y agitar en vortex por 5 segundos.
- 15) Incubar 24 hrs a temperatura ambiente para rehidratar totalmente la pastilla del DNA.
- 16) Guardar los microtubos con el DNA a 4°C.
- 17) Verificar la integridad y calidad del DNA por electroforesis en geles de agarosa.
- 18) Determinar la concentración por espectrofotometría.

Desechos RPBI: Guantes, puntas, tubos, y gasas que hayan tenido contacto con residuos de saliva.

Desechos CRET: Todos los geles de agarosa teñidos con GelRed. Todos los residuos se desecharon en frascos ambar etiquetados como “desechos de extracción de DNA”.

El protocolo original se puede descargar en: <https://www.dnagenotek.com/ROW/pdf/PD-PR-00262.pdf>.