



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS PARA LA SALUD**



**“POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS AL  
DESARROLLO DE LEUCEMIA EN NIÑOS DEL  
ESTADO DE CHIAPAS”**

**TESIS**

que para obtener el Grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS PARA LA SALUD**

Presenta

**LUCIA CANDELARIA GONZALEZ**

**DR. SERGIO DOMINGUEZ ARREVILLAGA**  
**DIRECTOR**



TAPACHULA DE CÓRDOVA Y ORDOÑEZ. 2018

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LEUCEMIA EN NIÑOS DEL  
ESTADO DE CHIAPAS**

**CANDELARIA  
4ª GENERACIÓN**

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; 4 de septiembre de 2018  
Oficio No. CEMESAD/CG/321/18

**C. LUCIA CANDELARIA GONZÁLEZ**  
CANDIDATA AL GRADO DOCTORA  
EN CIENCIAS PARA LA SALUD.  
PRESENTE

Por medio del presente, informo a Usted que una vez recibidos los votos aprobatorios de los miembros del Comité Tutorial de la tesis intitulada:

POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LEUCEMIA EN NIÑOS DEL ESTADO DE CHIAPAS.

Se le **AUTORIZA** la impresión de seis ejemplares impresos y tres digitales (DC's) los cuales deberá entregar:

- |  |   |
|--|---|
| • Un CD con Información de la tesis.                       | Dirección de Desarrollo Bibliotecario de la Universidad Autónoma de Chiapas |
| • Una tesis impresa  | Biblioteca del CEMESAD  |
| • Cinco tesis impresas y un CD con información de la tesis | Área de Titulación del CEMESAD para ser entregado a los Sinodales.          |

Se anexa oficio con los requisitos de entrega de tesis, emitido por la Dirección de Desarrollo Bibliotecario.

Con otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente

*"Por la Conciencia de la Necesidad de Servir"*

**DR. GONZALO LÓPEZ AGUIRRE**  
COORDINADOR GENERAL



AUTONOMA  
CENTRO MESOAMERICANO DE ESTUDIOS  
EN SALUD PÚBLICA Y DESASTRES  
COORDINACIÓN GENERAL

C.c.o. Expediente/archivo

**El presente trabajo de tesis, forma parte del proyecto denominado “FACTORES GENETICOS Y AMBIENTALES ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LEUCEMIA EN NIÑOS DEL ESTADO DE CHIAPAS”, financiado por CONACYT FOSSIS 2015-1 NUMERO 261953.**

**A mi esposo, Aníbal**

**A mis hijos, Lucy Sarahí y Aníbal Abisai**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Primeramente: al Rey de Reyes, Jesucristo, mi Dios y mi Señor. Gracias por su favor sin límite.**

**A mi esposo y mis hijos: Gracias por ser mi motor y mi mayor impulso.**

**A todos los que hicieron posible la realización de esta tesis, principalmente a mi director, Dr Sergio; a Alexander López Roblero, por su apoyo incondicional.**

## CONTENIDO

SIGLAS Y ACRONIMOS.....	8
INDICE DE TABLAS.....	9
INDICE DE FIGURAS.....	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
I. MARCO REFERENCIAL .....	13
1.1 Leucemia infantil.....	13
1.2 Características clínicas.....	14
1.3 Epidemiología.....	15
1.4 Etiología.....	18
1.4.1 Factores genéticos.....	19
1.4.2 Gen MTHFR.....	22
1.4.2.1 rs1801131.....	25
1.4.2.2 rs1801133.....	27
1.4.3 Gen XRCC1.....	28
1.4.3.1 rs25487.....	30
1.4.4 Gen ARID5B.....	31
1.4.4.1 rs7089424.....	33
1.4.4.2 rs10740055.....	34
1.4.5 Gen IKZF1.....	35
1.4.5.1 rs4132601.....	35
1.4.6 Gen CEBPE.....	36
1.4.6.1 rs2239633.....	36
II. OBJETIVOS .....	
2.1. Objetivo general.....	38
2.2. Objetivos específicos .....	38
III. MATERIAL Y METODOS .....	39

3.1. Diseño del estudio.....	39
3.2. Lugar del estudio.....	39
3.3. Población de estudio y recolección de muestras biológicas.....	39
3.4. Materiales.....	40
3.5. Equipo.....	40
3.6. Metodología experimental.....	41
3.6.1.Extracción de ADN.....	41
3.6.2. Genotipificación de SNP.....	45
3.6.2.1. Genotipificación de rs1801131.....	45
3.6.2.2. Genotipificación de rs1801133.....	46
3.6.2.3. Genotipificación de rs25487.....	46
3.6.2.4. Genotipificación de rs7089424.....	47
3.6.2.5. Genotipificación de rs10740055.....	47
3.6.2.6. Genotipificación de rs4132601.....	47
3.6.2.7. Genotipificación de rs2239633.....	48
3.6.2.8. Preparación de la placa de reacción.....	48
3.6.3 Análisis estadístico.....	50
IV. RESULTADOS.....	51
V. DISCUSION.....	57
VI. CONCLUSIONES.....	63
VII. BIBLIOGRAFIA.....	64
VIII. ANEXOS.....	74



## SIGLAS Y ACRONIMOS

SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
GWAS	Genome wide association studies
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
MTHFR	Methylene Tetrahydrofolate Reductase
XRCC1	X-ray Repair Cross-complementing Protein 1
ARID5B	AT-rich Interactive Domain containing protein 5B
IKZF1	Ikaros family Zinc Finger Protein 1
CEBPE	CCAAT/Enhancer Binding Protein Epsilon
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
OR	Odds Ratio
UTR	Untranslated Region
LGR	Leucemia Granulocítica Crónica
bZIP	Basic region leucine zipper

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1	Características de los polimorfismos de un solo nucleótido	20
Tabla 2	SNP's más significativos reportados por GWAS y estudios posteriores	33
Tabla 3	Volúmenes de reacción de la PCR del gen $\beta$ -globina	44
Tabla 4	Condiciones en el termociclador para PCR del gen $\beta$ -globina	45
Tabla 5	Volúmenes de reacción para la genotipificación de los SNP's	48
Tabla 6	Condiciones en el termociclador para PCR en tiempo real	49
Tabla 7	Características sociodemográficas de pacientes con Leucemia y grupo control	51
Tabla 8	Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs1801131 y rs1801133 de casos y controles	52
Tabla 9	Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs25487 de casos y controles	53
Tabla 10	Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs7089424 y rs10740055 de casos y controles	54
Tabla 11	Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs4132601 de casos y controles	54
Tabla 12	Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs2239633 de casos y controles	55
Tabla 13	Análisis estadístico de asociación de SNP's y el desarrollo de LLA	56
Figura 1	Estadística de Leucemia infantil	13
Figura 2	Desarrollo normal de células sanguíneas	13
Figura 3	Tasas de incidencia de Leucemia infantil por edad de diagnóstico	15
Figura 4	Tasas de incidencia de Leucemia infantil por género	16
Figura 5	Tasas de incidencia de Leucemia infantil diagnosticada de 0-14 años por raza/etnia	17
Figura 6	Nuevos pacientes con cáncer infantil de 2007 a 2015 en México	17
Figura 7	Propuesta de adquisición secuencial de alteraciones genéticas que contribuyen a la LLA	19
Figura 8	Ejemplo de un SNP	20
Figura 9	SNP's en regiones reguladoras	21
Figura 10	Estructura del gen MTHFR	22
Figura 11	Ciclo metabólico del Folato	23
Figura 12	Importancia del Folato como regulador de la expresión genética	23
Figura 13	La metilación puede modificar la expresión de genes	24
Figura 14	Localización genómica del SNP rs1801131	25
Figura 15	Localización genómica del SNP rs1801133	28
Figura 16	Localización y estructura del gen XRCC1 y SNP's más comunes	29
Figura 17	Procesos y consecuencias que contribuyen a la estabilidad genómica de la célula	29
Figura 18	Localización genómica del SNP rs25487	30
Figura 19	Estructura del gen ARID5B	32
Figura 20	Distribución de SNP's asociados al desarrollo de Leucemia dentro del gen ARID5B en el intrón 3	32
Figura 21	Estructura del gen IKZF1	35

## RESUMEN

La incidencia de Leucemia aumentó gradualmente, sin embargo, los mecanismos biológicos exactos de la leucemia no han sido totalmente clarificados. Los análisis de genes candidatos y estudios de asociación del genoma han identificado la presencia de susceptibilidad genética a esta enfermedad. Estudios recientes han demostrado que los polimorfismos de un sólo nucleótido, rs1801131 y rs1801133 del gen MTHRF, rs25487 del gen XRCC1, rs7089424 y rs 10740055 del gen ARID5B, rs4132601 del gen IKZF1 y rs2239633 del gen CEBPE, se encuentran asociados con el riesgo de desarrollar Lecemia en niños, por lo que la presente tesis tuvo como objetivo determinar los polimorfismos genéticos que se asocian al desarrollo de Leucemia en niños del Estado de Chiapas. Se realizó un estudio de caso control, el cual incluyó 46 niños diagnosticados con Leucemia y tratados en el Hospital de Especialidades Pediátricas del Centro Regional de Alta Especialidad y el Hospital Regional de Tapachula y 105 controles. Los polimorfismos analizados fueron: rs1801131 y rs1801133 del gen MTHRF, rs25487 del gen XRCC1, rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B, rs4132601 del gen IKZF1 y rs2239633 del gen CEBPE, por PCR en Tiempo Real. Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 21. Nuestros resultados muestran asociaciones significativas en 2 de los SNP's analizados MTHRF rs1801131 (OR=5.76 p= 0.002 y CEBPE rs 2239633 (OR=1.33 p=1e-04). En conclusión, nuestro estudio aporta evidencias que las variantes rs1801131 (MTHRF) y rs2239633 (CEBPE) están asociados con Leucemia en niños del Estado de Chiapas.

**Palabras clave:** Leucemia infantil, Polimorfismos genéticos, asociación, susceptibilidad genética, riesgo.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer es un problema importante de salud pública en todo el mundo (Siegel, Miller y Jemal, 2016), y en países desarrollados, es la segunda causa de muerte, después de los accidentes, en menores de 15 años (Sayeed, Barnes, Cairns, Finlayson y Ali, 2013; Murphy, Xu y Kochanek, 2013; Howlader et al., 2013).

Las neoplasias malignas hematológicas incluyen un grupo diverso de Leucemias y Linfomas, que surgen en las células de los sistemas inmunológico y linfático, respectivamente (Batista, Birmann y Epstein, 2017).

La Leucemia es el cáncer pediátrico más común, con una de las tasas de mortalidad más altas en todo el mundo (Lins et al., 2017; Bernard, Abdelsamad, Johnson, Chapman, Parvathaneni, 2017). A nivel mundial, aproximadamente, se diagnostican 48 casos por millón, en niños menores de 15 años (Lins et al., 2017).

La etiología de la Leucemia infantil es una pregunta importante epidemiológicamente y de salud pública (Amitay y Keinan, 2015). Generalmente, se considera que la causalidad es multifactorial y que la interacción entre las exposiciones exógenas o endógenas y la susceptibilidad genética, juega un papel importante en la etiología de la Leucemia (Ma et al., 2015).

Las variantes polimórficas o polimorfismos, se han relacionado con el riesgo de desarrollar LLA (Hunger y Mullighan, 2015; Treviño et al., 2009; Papaemmanuil et al., 2009; Sherborne et al., 2010; Xu et al., 2013).

Para investigar la base genética de la susceptibilidad a LLA, se han realizado diversos estudios de polimorfismos de varios genes en la leucemogénesis, cuyos hallazgos no han sido consistentes (Pui, Carroll, Meshinchi y Arceci, 2010). Estos análisis se basaron en los polimorfismos de un solo nucleótido involucrados en el riesgo de desarrollar LLA-B, siguiendo dos estrategias: estudios de genes candidatos y estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) (Schiffman, 2016).

La investigación de polimorfismos de un solo nucleótido dentro de genes candidatos, revela que el riesgo de Leucemia puede atribuirse a polimorfismos en los genes implicados en la reparación del ADN, en el metabolismo del folato, el metabolismo xenobiótico, en el sistema inmune y el desarrollo de células B (Schiffman, 2016). Algunos genes candidatos que parecen sugerir una asociación con el riesgo de LLA incluyen MTHFR (metabolismo del folato) y XRCC1 G28152A (reparación del DNA) (Schiffman, 2016).

Los estudios de asociación de genoma completo, identificaron SNP's en los genes asociados con la regulación del crecimiento, hematopoyesis y desarrollo de linfocitos: ARID5B, IKZF1, CEBPE y CDKN2A, que influyen en el riesgo de desarrollar LLA (Schiffman, 2016; Gutiérrez, Martín y García, 2017).

## I. MARCO REFERENCIAL

### 1.1. Leucemia infantil

En la mayoría de los países, la Leucemia es la forma más comúnmente diagnosticada de cáncer en la infancia, que representa alrededor del 31% de todos los cánceres, en menores de 15 años (Figura 1) (Hsu et al., 2015).

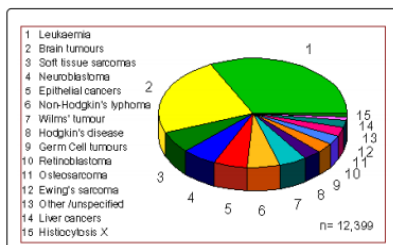


Figura 1. Estadística de Leucemia infantil.

Fuente: Bernard et al., 2017

La Leucemia comprende un grupo de enfermedades hematológicas neoplásicas caracterizada por la proliferación clonal de una célula hematopoyética inmadura (blasto), resultante de alteraciones genéticas adquiridas, que pierde la capacidad normal de diferenciación e interfiere con la hematopoyesis normal (Figura 2) (Medina, 2016).

Las células inmaduras infiltran la médula ósea e invaden los tejidos y órganos. Los más frecuente son el sistema nervioso central, los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado y los testículos en los hombres (Swerdlov, Campo y Harris; 2008).

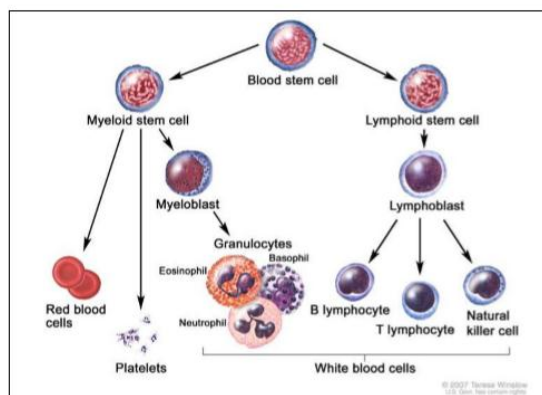


Figura 2. Desarrollo normal de células sanguíneas.

<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/childALL/Patient/page1> NCI

Dependiendo la estirpe celular afectada, se subdividen en Leucemia Linfoide, Mieloide o de estirpe Indiferenciada (Medina, 2016; Mckenzie, 2005).

En general, la Leucemia se clasifica en dos amplios grupos con base en la agresividad de la enfermedad: **Aguda**, se caracteriza por la proliferación progresiva no regulada, y acumulación de precursores hematopoyéticos inmaduros, malignos, en la médula ósea y **Crónica**, tiene más frecuentemente un inicio insidioso, la médula exhibe una acumulación de elementos linfocíticos o mielocíticos diferenciados (Medina, 2016; Mckenzie, 2005).

La Leucemia infantil es universal, con los mismos mecanismos moleculares en niños de diferentes orígenes genéticos y ambientales. También es regional, y los factores que influyen en su ocurrencia y resultado pueden verse afectados por circunstancias étnicas, ambientales, geográficas y sociales (Medina, 2016).

La Leucemia en menores de 15 años es un problema particular, debido a la gravedad de la enfermedad, la población vulnerable y la corta latencia de la enfermedad (Elise et al., 2017).

## 1.2. Características clínicas

Las manifestaciones clínicas iniciales de la Leucemia en el niño son muy diversas y reflejan, principalmente, el resultado del fracaso de la función medular y de la infiltración blástica en órganos y tejidos extramedulares (Pérez y Gómez, 2009).

Más del 50% de los niños con Leucemia, presentan anemia, debilidad, sensación de frío, hepatoesplenomegalia, palidez, fiebre o hematomas en el diagnóstico. Los síntomas abdominales más frecuentes son: anorexia, pérdida de peso, dolor y distensión abdominal. Dentro de los síntomas musculoesqueléticos se destacan, dolor en las articulaciones y cojera (Clarke et al., 2016).

Aunque algunos de los síntomas asociados con la Leucemia infantil pueden ser síntomas de otras enfermedades, un médico debe examinar los síntomas para que la enfermedad sea tratada correctamente (Bernard et al., 2017).

### 1.3. Epidemiología

En menores de 15 años, del total de casos de Leucemias, el 80%, son Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), también llamada linfocítica o linfoide; alrededor del 17% son Leucemia Mieloide Aguda (LMA, también denominada mielocítica, mielogénica o no linfoblástica) y los restantes, 2-3% son esencialmente Leucemia Mielógena Crónica positiva en cromosomas Filadelfia y Leucemia Mielomonocítica juvenil (Gowda et al., 2015; Gloeckler et al., 1999).

La LLA es más común que la leucemia mieloide aguda. Teshnizi et al, demostraron en un estudio que más del 83% de los pacientes con leucemia tienen LLA (Teshnizi y Ayatollahi, 2015; Hosseini Teshnizi y Taghi Ayatollahi, 2017).

La LLA, se clasifica según el progenitor linfoide afectado: LLA-B y LLA-T (Genescá, Ribera y Ribera, 2014). La LLA-B, representa la mayoría de los casos de LLA (80% a 85%) (Archer et al., 2017).

La incidencia de la Leucemia infantil difiere con respecto a subtipo, edad, género, raza/etnia y región geográfica (Giddings, Whitehead, Metayer y Miller, 2016).

Los niños menores de 5 años tienen un riesgo más alto de desarrollar LLA que los niños de 5 a 19 años. Para la LMA, los picos de incidencia se presentan en la infancia (Figura 3) (Giddings et al., 2016).

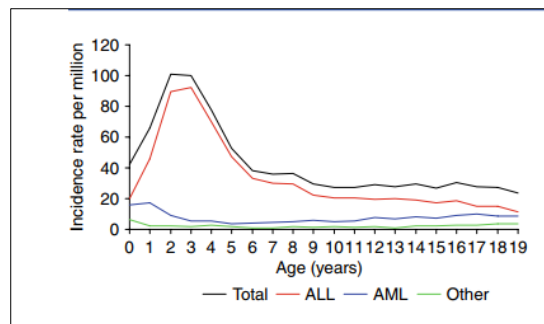


Figura 3. Tasas de incidencia de Leucemia infantil por edad de diagnóstico  
**Fuente:** Reaman y Smith (2014).



En relación al género, los hombres tienen un mayor riesgo de desarrollar LLA que las mujeres. Para la LMA, los hombres tienen un riesgo ligeramente mayor de desarrollar la enfermedad que las mujeres (Figura 4) (Giddings et al., 2016).

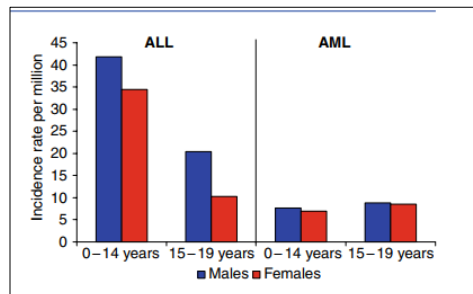


Figura 4. Tasas de incidencia de Leucemia infantil por género  
**Fuente:** Reaman y Smith (2014).

Las tasas de incidencia más altas de LLA infantil, se han observado en Costa Rica, Ecuador y la Ciudad de México, y en niños hispanos en los Estados Unidos, y las tasas de incidencia más bajas se han observado en África y entre los niños afroamericanos en los Estados Unidos. Las tasas de incidencia más altas de LMA infantil, se han observado en Filipinas y Corea, y la incidencia más baja se observa en África (Giddings et al., 2016).

La incidencia mundial de la LLA varía sustancialmente no solo en las distintas regiones geográficas, sino también según las etnias y las razas, con una tasa de 14.8 casos por millón para los negros, 35,6 para los blancos y 40,9 para los hispanos, respectivamente; en parte debido a las variaciones genéticas relacionadas con la ascendencia (Lim, Bhatia, Robison y Yang, 2014).

A diferencia de las tasas de incidencia de la LLA, en la LMA no hay variación según la raza. Según el grupo étnico, se tiene evidencia que las tasas de LLA más altas para las personas de etnicidad hispano latina, que aquellos que no tienen este origen étnico (Figura 5) (Reaman y Smith, 2014).

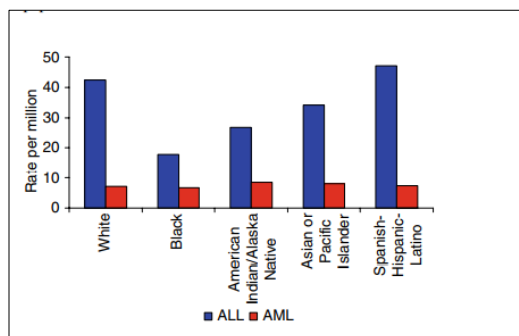


Figura 5. Tasas de incidencia de Leucemia infantil diagnosticada de 0-14 años por raza/etnia  
**Fuente:** Reaman y Smith (2014).

En México, según estimaciones recientes, de los casos de cáncer que se registran anualmente en menores de 18 años, entre 2600 y 3120 casos, el 25% de estos corresponden a LLA (Jiménez, Hidalgo y Ramírez, 2017).

Según el Seguro Médico Popular, del 2007 al 2015, se registraron 24,039 nuevos casos de cáncer infantil (Figura 6). En 2015, la tasa de incidencia más alta se observó para la leucemia, la cual mostró una tasa de 89.5 por población total menor de 18 años en 1,000,000 por año. La frecuencia del 59% para la leucemia es comparable a la tasa del 41% para linfomas y tumores sólidos de ese mismo año, lo cual muestra la enorme carga que en México se tiene, en el tratamiento de cánceres infantiles (Rivera et al., 2017)

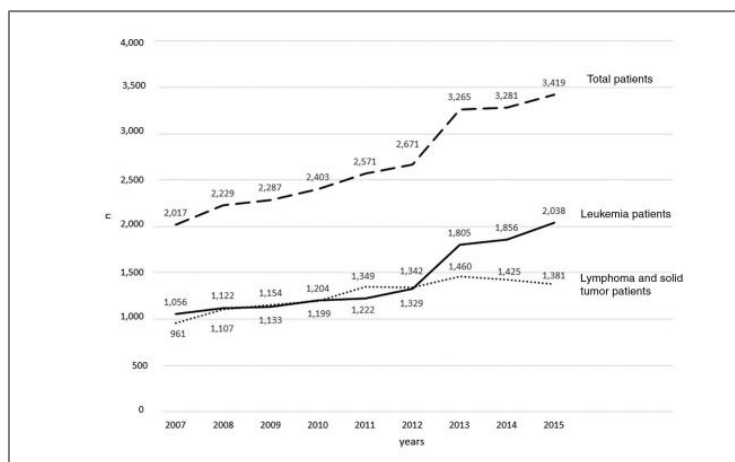


Figura 6. Nuevos pacientes con cáncer infantil de 2007 a 2015 en México  
**Fuente:** Rivera et al (2017)

#### 1.4. Etiología

A diferencia de la mayoría de los cánceres pediátricos, existe un elevado número de información científica, a nivel internacional, relacionado con el papel de varios elementos de riesgo medioambientales internos y externos en la etiología de la Leucemia infantil (Metayer, Dahl, Wiemels, y Miller, 2016).

No obstante, los mecanismos biológicos exactos no se han aclarado completamente (Inaba, Greaves y Mullighan, 2013).

La etiología de la Leucemia infantil es una pregunta importante epidemiológica y de salud pública (Amitay y Keinan, 2015).

La leucemogénesis parece ser el resultado de factores genéticos y ambientales, que ocurren antes y durante el embarazo, pero también después del parto y más adelante en la vida (Cantarella, Ragusa, Giammanco y Tosi, 2017).

El papel de la nutrición también está ganando importancia, como micronutrientes son capaces de interferir con la estabilidad genómica. (Cantarella et al., 2017). El ácido fólico y sus derivados, conocidos como folatos, son esenciales para numerosas funciones corporales, particularmente por su papel en la metilación y síntesis del ADN que ayuda a la división celular rápida y requerimientos de crecimiento asociados con el embarazo y la primera infancia (Lautner et al., 2013).

El metabolismo del folato disfuncional, es un elemento importante en la etiología de la LLA (Li, Ye, Liang, Zhou y Yang, 2015).

Así también, se han identificado varios factores ambientales relacionados con el riesgo de desarrollar LLA, incluida la exposición a la radiación, ciertos productos químicos o infecciones en el primer año de vida (Han et al., 2010) (Cantarella et al., 2017).

Se ha revelado la hipótesis de que el inicio de LLA ocurre en el útero o durante la primera infancia (Kaatsch, 2010).

Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, la etiología y el desarrollo exactos de la LLA infantil siguen siendo poco conocidos. No obstante, es ampliamente reconocido que las variaciones genéticas, las infecciones y los factores ambientales desempeñan un papel importante en el desarrollo de la LLA (Belson, Kingsley y Holmes, 2007; Guo et al., 2014; Ma, Sui, Wang y Li, 2014).

Generalmente, se considera que la causalidad es multifactorial y que la interacción entre las exposiciones exógenas o endógenas y la susceptibilidad genética juega un papel importante en la etiología de la Leucemia (Ma et al., 2015).

#### 1.4.1. Factores genéticos

El componente genético está respaldado por el alto riesgo de desarrollar LLA en algunas enfermedades congénitas, como el síndrome de Down o el síndrome de Li-Fraumeni y de otros trastornos hereditarios del sistema inmunológico como el síndrome de Bloom, el síndrome de Wiskott-Aldrich o el síndrome ataxia telangiectasia (Hsu et al., 2015; Gutiérrez et al., 2017).

Otras alteraciones genéticas que se han relacionado con el riesgo de desarrollar LLA son las variantes polimórficas o polimorfismos (Figura 7) (Hunger y Mullighan, 2015; Treviño et al., 2009; Papaemmanuil et al., 2009; Sherborne et al., 2010; Xu et al., 2013).

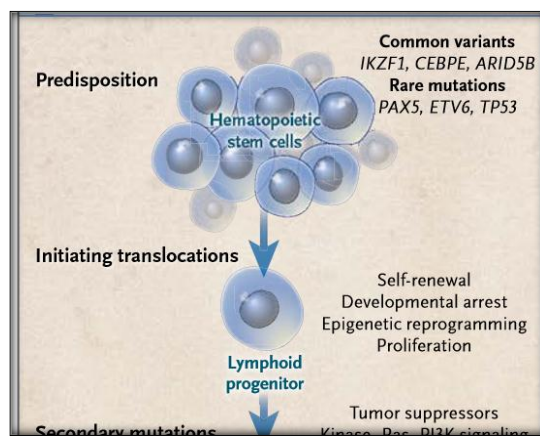


Figura 7. Propuesta de adquisición secuencial de alteraciones genéticas que contribuyen a la LLA.

Fuente: Hunger y Mullighan (2015).

Un polimorfismo genético se define cuando un gen tiene múltiples alelos y donde al menos dos de ellos tienen frecuencias mayores al 1% entre la población (Caratachea, 2007).

Los polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP's por sus siglas en inglés), son un tipo de polimorfismo que implica la variación de un solo par de bases y pueden afectar directamente la estructura o expresión de la proteína (Figura 8) (Echebarria, 2016).

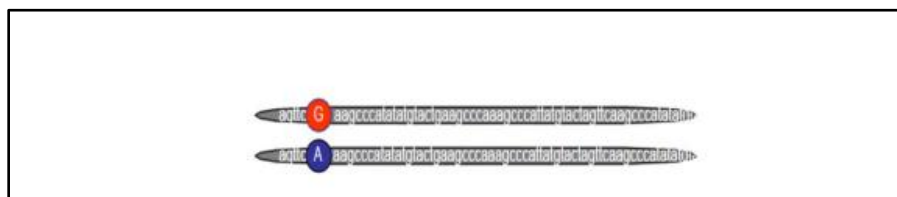


Figura 8. Ejemplo de un SNP, 2 cromosomas de un individuo con el genotipo G/A.  
Fuente: Echebarria (2016).

Los SNP's son la forma más simple de la variación del ADN entre los individuos, se estima que existen aproximadamente 10 millones de SNP's distribuidos en todo el genoma, con una frecuencia media de 1 cada 300 pb (Echebarria, 2016). Las características más importantes de los SNP's se describen en la Tabla 1 (Ramírez y Jiménez, 2017).

Tabla 1. Características de los polimorfismos de un solo nucleótido.

Características	Descripción
Distribución	Un SNP se encuentra en promedio cada 250 pb; se han reportado cerca de 11 millones
Ubicación	Regiones intergénicas (o extragénicas) e intragénicas; en esta región se encuentran genes codificantes de proteínas y no codificantes.
Número de alelos	Generalmente son bialélicas, aunque pueden ser trialélicas y tetraalélicas
Efecto biológico	Neutras y funcionales
Evaluación de los SNP	Fácilmente genotipificados mediante tecnologías automatizadas
Usos en salud	Identificación de individuos genéticamente susceptibles para desarrollar enfermedades multifactoriales, gravedad, actividad y respuesta a medicamentos

La caracterización y detección de las diferencias de distribución de SNP's en diferentes poblaciones ayudará a identificar genes de susceptibilidad humana relacionados con algunas enfermedades (Li, Liao, Zhang y Chen, 2014).

Los SNP's están distribuidos a lo largo de todo nuestro genoma, tanto en regiones génicas como en regiones extragénicas. La ubicación del SNP dentro de un gen, explica su

función. Estos efectos potencialmente funcionales incluyen cambios en las secuencias exónicas, empalme alternativo, cambios en sitios de unión del factor de transcripción, que podrían llevar cambios en el patrón de metilación, o sitios de microARN (miARN), implicados en la regulación negativa de la expresión génica en el nivel post-transcripcional (Figura 9) (Camino, 2016).

En el caso de SNP's localizados en genes que codifican proteínas, el cambio de alelo puede afectar a la secuencia de la proteína (cambio de aminoácido, cambio en la pauta de lectura, proteína truncada) o a su regulación (si están localizados en el promotor, sitios CpG, región UTR) (Echebarria, 2016).

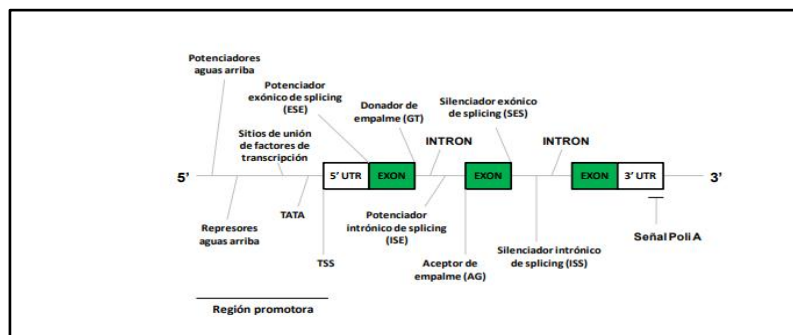


Figura 9. SNP's en regiones reguladoras  
Fuente: Echebarria (2016).

Para investigar la base genética de la susceptibilidad a LLA, se han realizado diversos estudios de polimorfismos de varios genes en la leucemogénesis, cuyos hallazgos no han sido consistentes (Pui, Carroll, Meshinchi y Arceci, 2010).

Estos análisis se basaron en los SNP's involucrados en el riesgo de desarrollar LLA-B, siguiendo dos estrategias: estudios de genes candidatos y estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) (Schiffman, 2016).

Los genes candidatos son aquellos que codifican enzimas relacionadas con el metabolismo de carcinógenos identificados (Pei et al., 2015).

La investigación de SNP's dentro de genes candidatos, revela que el riesgo de Leucemia puede atribuirse a polimorfismos en los genes implicados en la reparación del

ADN, en el metabolismo del folato, el metabolismo xenobiótico, en el sistema inmune y el desarrollo de células B (Schiffman, 2016).

Algunos genes candidatos que parecen sugerir una asociación con el riesgo de LLA incluyen MTHFR (metabolismo del folato) y XRCC1 G28152A (reparación del DNA) (Schiffman, 2016).

Los estudios de asociación de genoma completo, identificaron SNP's en los genes asociados con la regulación del crecimiento, hematopoyesis y desarrollo de linfocitos: ARID5B, IKZF1, CEBPE y CDKN2A, que influyen en el riesgo de desarrollar LLA. Sin embargo, las variantes de riesgo de estos SNP's no se validaron en todas las poblaciones, lo que sugiere que algunos de los loci podrían ser específicos de la población (Schiffman, 2016; Gutiérrez et al., 2017).

Además, estos genes se encuentran frecuentemente implicados en la LLA mediante alteraciones adquiridas, lo cual apoya su papel en la predisposición a este tipo de leucemia (Treviño et al., 2009, Papaemmanuil et al., 2009).

A continuación, se describen los genes y SNP's que se seleccionaron para el presente trabajo de tesis:

#### 1.4.2. Gen MTHFR

El gen Metileno Tetrahidrofolato Reductasa (MTHFR, por sus siglas en inglés), se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 1p36.3 (Tirado, Madera y González, 2016) y está formado por 13 exones (Figura 10).

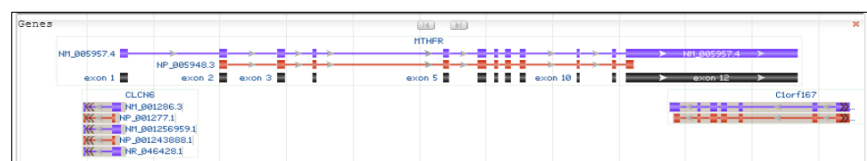


Figura 10. Estructura del gen MTHFR  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4524>

La importancia de este gen estriba en que la proteína que codifica es la 5, 10

metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR), una enzima con la función de generar la forma activa del folato, 5 metilen-tetrahidrofolato, fuente básica de carbono para la remetilación de homocisteína a metionina (Figura 11) (Gervasini y Vagace, 2012; Tirado et al., 2016).

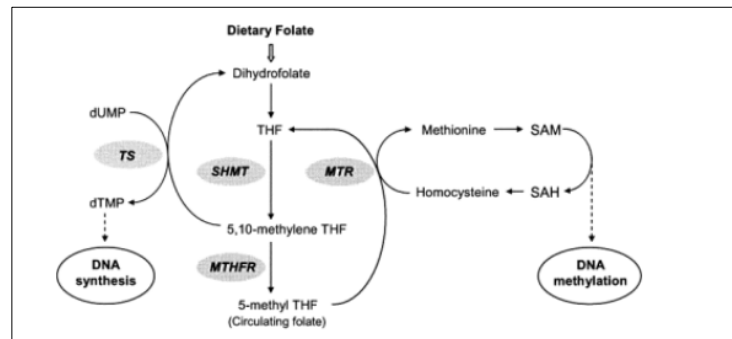


Figura 11. Ciclo metabólico del Folato

<https://www.selfhacked.com/blog/need-know-mthfr-genespolymorphisms->

La enzima MTHFR es fundamental en la homeostasis y metabolismo del folato intracelular (Li et al., 2015; Yang, Hu y Xu, 2012).

El folato participa en la regulación genética indispensable para la multiplicación celular y diferenciación durante la embriogénesis (Figura 12). La importancia del folato consiste en que es un donador de carbonos, que interviene en la biosíntesis de las purinas y pirimidinas; así como en la remetilación de la homocisteína, que produce grupos metilo para la metilación de ADN, proteínas, y lípidos (Tirado et al., 2016).

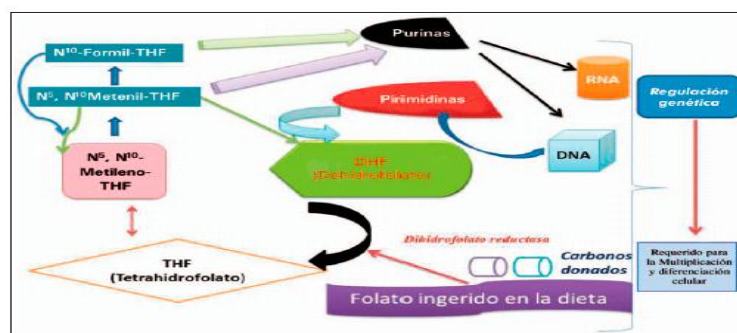


Figura 12. Importancia del folato como regulador de la expresión genética.

Fuente: Tirado et al (2016)

La metilación del ADN se encarga de impedir que los factores de transcripción se unan al ADN para activar la expresión de los genes; es por este mecanismo que el



posicionamiento del grupo metilo en el ADN, modifica la expresión de los genes (Figura 13) (Cantarella et al., 2017).

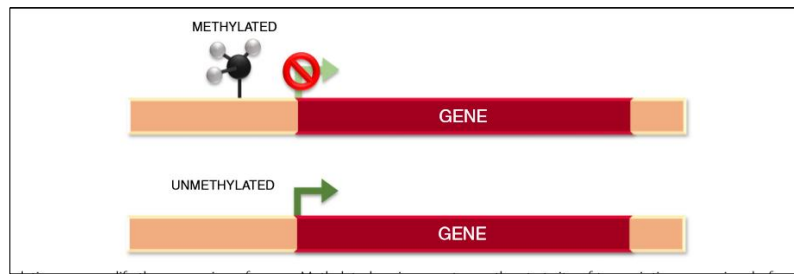


Figura 13. La metilación puede modificar la expresión de genes.  
**Fuente:** Cantarella et al., (2017).

Una alteración en la actividad de la MTHFR puede provocar una disminución de los niveles de folato y por consiguiente alterar la síntesis de ácidos nucleicos (Tirado et al., 2016), así también, la escasa disponibilidad como fuente de los grupos metilo, puede influir en la capacidad de mantener el correcto patrón de metilación, causando principalmente hipometilación de ADN genómico (Cantarella et al., 2017).

Por lo tanto, la leucemogénesis podría ser reducida por la hipometilación del ADN en los tejidos locales y por la disminuida actividad enzimática de la MTHFR en la médula ósea donde la leucemogénesis activa ocurre en los portadores de polimorfismos de la MTHFR (Lien, Young, Gau y Shiao, 2017).

Es razonable que las neoplasias que proliferan rápidamente tienen un requerimiento más alto de síntesis de ADN y podrían ser más susceptibles a la deficiencia de folato y al daño resultante en el ADN (Tirado et al., 2016).

Un Bajo contenido de folato y deficiencia de MTHFR, indujo la formación de tumores intestinales en un modelo de ratones BALB/c (Tirado et al., 2016).

Son 2, los polimorfismos que se han descrito en este gen, C677T (rs1801133) y A1298C (rs1801131), los cuales podrían determinar su actividad enzimática (Tirado et al., 2016).

La variante A1298C ejerce menos efecto sobre la disminución de la actividad enzimática de la MTHFR, en comparación con la variante C677T (Liu et al., 2013). El

genotipo C/C de la variante A1298C aún puede realizar 60% de ésta (Leclerc, Sibani y Rozen, 2004); que no es una disminución significativa comparada con el genotipo T677T que representa el 30% de actividad de la enzima (Liu et al., 2013).

El efecto del polimorfismo en el locus 1298 es menos pronunciado que el del locus 677. La actividad enzimática se reduce aún más en el estado heterocigoto (677CT y 1298AC) que en cualquiera de las dos mutaciones solas (Moulik, Kumar y Agrawal, 2017).

#### 1.4.2.1 rs1801131 (A>C)

Este SNP se localiza en el exón 7 (Figura 14), induce un cambio de Adenina por Citosina, esto genera la sustitución de Alanina por Glutamato, en el codón 429 (Yang et al., 2012).

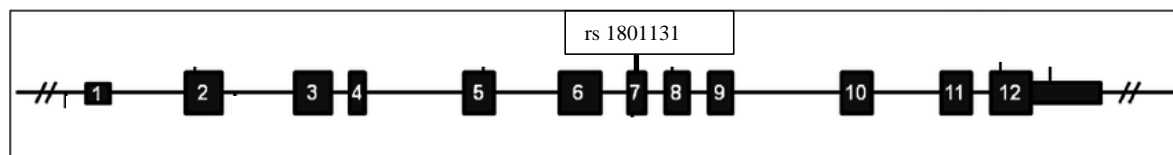


Figura 14. Localización genómica del SNP rs1801131  
**Fuente:** Elaboración propia.

No obstante, algunos datos sugieren que el SNP A1298C del gen MTHFR juega un papel en el aumento del riesgo de Leucemia infantil, esto ha sido refutado por otras investigaciones (Cantarella et al., 2017).

Kaluzna et al (2017), publicaron un estudio de caso control realizado en Polonia, para evaluar la asociación de los SNP's C677T y A1298C MTHFR analizados por separados y juntos, que incluyeron 117 niños con LLA y 404 niños sanos, ambos grupos, menores de 18 años, demostrando que el alelo 677T MTHFR solo o en combinación con el alelo 1298C MTHFR, incrementa significativamente el riesgo de LLA en una población polaca. El mayor riesgo se relacionó con la presencia del haplotipo 677T-1298C, que lleva ambos alelos variantes. Esta observación es novedosa en el contexto de las investigaciones de LLA infantil.

Lien et al (2017), a través de una una revisión sistemática de 6 bases de datos que incluyeron 54 estudios, evaluaron la asociación entre A1298C MTHFR y el riesgo de Leucemia en niños, identificando que en las poblaciones infantiles con LLA y LMA de Europa, el SNP A1298C MTHFR fue protector contra estas malignidades.

Bahari, Hashemi, Naderi y Taheri (2016), realizaron un estudio de caso control, para examinar la asociación entre el SNP A1298C (rs1801131) MTHFR y LLA, que incluyeron 100 niños iraní con LLA y 120 niños sanos, cuyos resultados indicaron que el SNP rs1801131 disminuyó el riesgo de LLA en la población iraní; así mismo recomiendan estudios con mayor tamaño de muestra y diferentes etnias para validar esos hallazgos.

Moulik, Parveen, Kumar, Awasthi y Agrawa (2014), mediante una revisión sistemática que comprendió 27 estudios, evaluaron la asociación del SNP A1298C MTHFR y el riesgo de LLA en niños menores de 16 años, del norte de la India, encontrando que el alelo 1298C fue asociado con un aumento marginal en el riesgo de LLA.

Li, Liao, Zhang y Chen (2014) realizaron un estudio de caso control en China, para investigar la relación entre el SNP A1298C MTHFR y la susceptibilidad a LLA infantil, con 98 niños con LLA menores de 12 años (edad promedio 5.1 años) y 93 controles menores de 14 años (edad promedio 5.7 años), identificándose una relación significativa del SNP A1298C MTHFR con la susceptibilidad a la LLA infantil, concluyendo que podría ser un biomarcador potencial para el riesgo de LLA infantil en la población china.

Gutiérrez et al (2016), llevaron a cabo un estudio en una población pediátrica del noreste de la República Mexicana, demostrando que el genotipo 1298C CC del gen MTHFR está asociado al aumento de riesgo a LLA en la población estudiada (OR 6.48; 95% CI, 1.26–33.2 p=0.025).

#### 1.4.2.2 rs1801133 (C>T)

Es un SNP que se localiza en el exón 4 del gen MTHFR (Figura 15) (Chen et al., 2014). Consiste en un cambio de Citosina por Timidina, que a su vez afecta al aminoácido en la posición 222, dando como resultado Alanina por Valina y consecuentemente atenúa la actividad catalítica (Jin et al., 2017; Pei et al., 2015).



Figura 15. Localización genómica del SNP rs1801133  
**Fuente:** Elaboración propia.

Los individuos homocigotos (T; T) tienen aproximadamente el 30% de la actividad de la enzima MTHFR, y los heterocigotos (C; T) ejercen aproximadamente el 65% de actividad, en comparación con el genotipo más común (C; C) (<https://www.snpedia.com/index.php/Rs1801133>).

Se han realizado una serie de estudios para comprender el papel de este polimorfismo en el desarrollo de la Leucemia infantil, produciendo resultados discordantes (Cantarella et al., 2017).

Lien et al (2017); a través de una revisión sistemática de 6 bases de datos que incluyeron 54 estudios, evaluaron la asociación entre el SNP 677CT del gen MTHFR y el riesgo de Leucemia en niños, identificando que en las poblaciones infantiles con LLA de Europa, Asia Oriental y América, el SNP 677CT MTHFR (tanto TT como CT juntos e individualmente) son protectores, mientras que el alelo CC de tipo salvaje, fue leucemogénico.

Zhang, Zhang, Yan y Wang (2017), con el objetivo de analizar la asociación del SNP 677CT MTHFR y la LLA; realizaron una revisión sistemática que incluyó 39 estudios de casos y controles, encontrando que el polimorfismo C677T MTHFR puede ser un biomarcador de la LLA prometedor y que se requieren estudios para evaluar su papel funcional para las conclusiones definitivas.

Pei et al (2015), publicaron un estudio de casos y controles en Taiwan, incluyendo 266 niños con LLA e igual número de controles, menores de 18 años en Tailandia con la finalidad de evaluar el efecto del SNP C677T MTHFR en el riesgo de LLA infantil, cuyos resultados revelaron que el alelo TT del C677 MTHFR fue un biomarcador protector para la LLA infantil, y la asociación fue más significativa en pacientes varones  $\geq$  de 3.5 años de edad, al inicio de la enfermedad.

Li et al (2015), en una revisión sistemática que comprendió 51 estudios de casos y controles, investigaron la asociación entre el SNP C677T MTHFR y el riesgo de LLA en niños caucásicos, la cual no encontró evidencia de asociación significativa.

Li et al (2014) realizaron un estudio de casos y controles en China, con 98 niños con LLA menores de 12 años (edad promedio 5.1 años) y 93 controles menores de 14 años (edad promedio 5.7 años), para investigar la relación entre el SNP C677T MTHFR y la susceptibilidad a LLA infantil, no encontraron diferencias significativas para las frecuencias de los genotipos 677CC, 677CT y 677TT entre pacientes y controles.

### **1.4.3. Gen XRCC1**

El gen complementario grupo 1 cruzado de reparación de rayos X (XRCC1, por sus siglas en inglés), es uno de los genes más importantes implicados en la reparación del ADN. Está ubicado en el cromosoma 19q13.2-13.3, con 33 kilobases de longitud (Wang, Yin, Xu, Hu y Zhao, 2012).

Consta de 17 exones y codifica una transcripción de 2.2 kb, que corresponde a una proteína de 633 aminoácidos (Figura 16). La proteína, forma complejos con al menos tres enzimas diferentes, poli-ADP-ribosa polimerasa (PARP), ADN ligasa III y ADN polimerasa  $\beta$  (Chi et al., 2015).

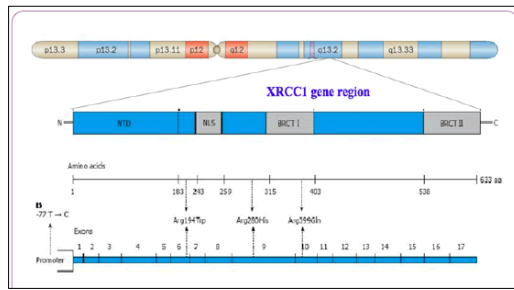


Figura 16. Localización y estructura del gen XRCC1 y SNP's más comunes  
**Fuente:** Norjmaa y Saitoh (2016)

El gen XRCC1, cumple una función importante al ayudar y permitir la reparación de roturas de una cadena mediante la interacción y el reclutamiento de sitios de lesión de ADN en múltiples componentes enzimáticos de reacciones de reparación (Azevedo et al., 2017).

El sistema de reparación de ADN juega un papel importante en el mantenimiento de la integridad y estabilidad del genoma a través de la reversión del daño del ADN (Wang et al., 2012).

Por tanto, las anomalías en la biosíntesis de nucleótidos y las reacciones de metilación son capaces de afectar la síntesis, reparación y metilación del ADN, lo que puede conducir a la inestabilidad genómica de la célula (Figura 17) (Cantarella et al., 2017).

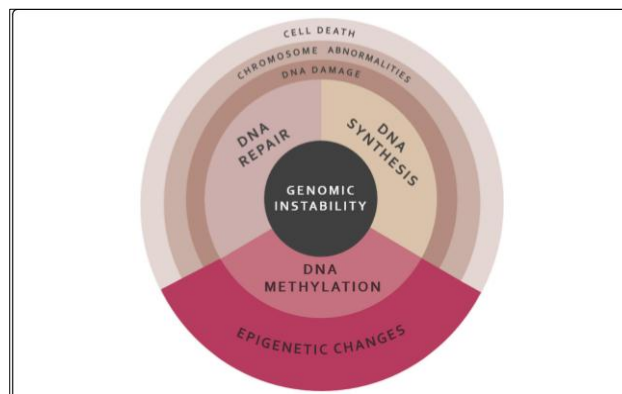


Figura 17. Procesos y consecuencias que contribuyen a la inestabilidad genómica de la célula.  
**Fuente:** Cantarella et al (2017).

Dado que la reparación del daño en el ADN es crítica, las alteraciones en las vías de reparación del ADN pueden intervenir en el desarrollo de la leucemia (Urayama, Chokkalingam, Manabe y Mizutani, 2013; Brisson et al., 2015).

La LLA infantil es el resultado de alteraciones cromosómicas y mutaciones somáticas que alteran el proceso normal por el cual las células progenitoras linfoides se diferencian y envejecen. Estos son los resultados de daño en el ADN no reparado (Urayama et al., 2013; Brisson et al., 2015).

Los SNP's en el gen XRCC1, han sido identificados y demostrados estar vinculadas a varias carcinogénesis, incluyendo la Leucemia (Wang et al., 2012).

Se han registrado más de 300 SNP's validados en el gen XRCC1 en la base de datos dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Sin embargo, solo 3 SNP's han sido ampliamente estudiados, incluyendo Arg194Trp en el exón 6 (rs1799782 en dbSNP, C/T), Arg280His en el exón 9 (rs25489 en dbSNP, G/A) y Arg399Gln en el exón 10 (**rs25487** en dbSNP, G/UN) (Wang et al., 2012).

#### 1.4.3.1 rs25487 (Arg>Gln)

También conocido como Arg399Gln, se localiza en el exón 10. Resulta de una sustitución del nucleótido Guanina por Adenina en el codón 399, lo cual produce Arginina por Glutamina (Figura 18) (Leite et al., 2013)

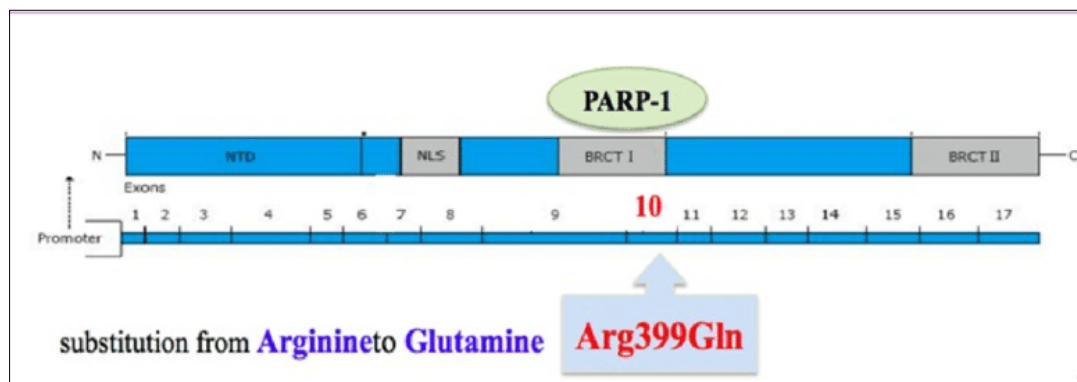


Figura 18. Localización genómica del SNP rs25487  
Fuente: Norjmaa y Saitoh (2016)

La investigación sobre los efectos funcionales de este cambio, ha sugerido que la variante del genotipo AA está asociada con una capacidad de reparación del ADN reducida de 3 a 4 veces (Tengstrom, Mannermaa, Kosma, Hirvonen, y Kataja, 2014).

Este SNP ha sido ampliamente analizado y se asocia con una capacidad disminuida para eliminar los aductos de ADN, que son compuestos que resultan de una exposición a carcinogénicos, causando daño en el ADN debido a la oxidación. Por lo que, este SNP puede contribuir a la Leucemia (Wang et al., 2015).

Se han realizado varios estudios sobre la asociación entre el SNP rs25487 del gen XRCC1 y el riesgo de LLA infantil, sin embargo, los hallazgos son contradictorios (Wang et al., 2015).

Wang et al (2015), por medio de una revisión sistemática examinaron la asociación entre el SNP rs25487 del gen XRCC1 y el riesgo de LLA infantil, cuyos hallazgos revelaron que este SNP es un factor de riesgo para LLA en una población asiática.

Du et al (2015), analizaron la asociación entre el SNP rs25487 del gen XRCC1 y el riesgo de tumores malignos hematológicos a través de una revisión sistemática, que incluyó 27 estudios de casos y controles, el análisis final indicó que el SNP podría ser un factor de riesgo para las neoplasias hematológicas en los asiáticos o para la leucemia.

Wang et al (2012), evaluaron la asociación entre el riesgo de LLA infantil y el SNP rs25487 del gen XRCC1, por medio de una revisión sistemática que incluyó 7 estudios con un total de 880 casos y 1311 controles, los resultados demostraron que el SNP rs25487 podría estar asociado con un elevado riesgo de LLA infantil entre la población asiática.

#### **1.4.4. Gen ARID5B**

Este gen codifica un miembro de la familia ARID, caracterizada por un dominio de interacción conservado rico en AT (ARID, por sus siglas en inglés) (Tiessen, 2009). Pertenece a la subfamilia 5, miembro B (Lin et al., 2014).

Está compuesto de 11 exones que abarcan ~ 200 kb, en el cromosoma 10q21.2 (Figura 19) (Xu y Yang, 2014).





Figura 19. Estructura del gen ARID5B  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84159>

Las proteínas ARID constituyen una familia de factores de transcripción. Estas proteínas regulan tanto positiva como negativamente la transcripción y participan en la modificación de la estructura de la cromatina (Gómez, Trejo y Tiessen, 2009).

Los genes que codifican estas proteínas están implicados una gran variedad de procesos biológicos, incluyendo desarrollo embrionario, regulación genética del linaje celular, y control del ciclo celular (Gómez et al., 2009).

El papel específico de ARID5B en la LLA infantil permanece indeterminado, pero la acumulación de pruebas parece indicar que este gen tiene un papel en el desarrollo de LLA. Por ejemplo, los ratones knockout Arid5B presentan anomalías en el desarrollo de los linfocitos B (Lahoud et al., 2001; Paulsson et al., 2010), y la expresión de RNAm de ARID5B es regulado en malignidades hematológicas como la leucemia promielocítica aguda (Chang et al., 2008) y leucemia megacarioblástica aguda (Bourquin et al., 2006).

La creciente evidencia revela que las mutaciones y los polimorfismos de un solo nucleótido de ARID5B están asociados con el desarrollo de LLA y LMA en la niñez (Lin et al., 2014).

Es importante destacar que todos los SNP's significativos en ARID5B se encuentran en el intrón 3 (Figura 20) y el mecanismo por el cual estos afectan el riesgo de LLA, aún no está esclarecido (Gutiérrez et al., 2013).

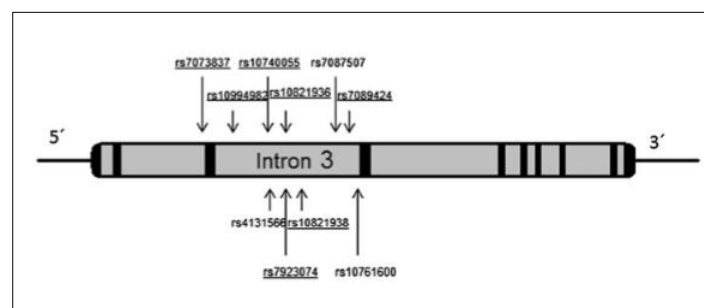


Figura 20. Distribución de SNP's asociados al desarrollo de leucemia dentro del gen ARID5B en el intrón 3  
 Fuente: Gutiérrez et al (2013).

Un total de cinco SNP's en ARID5B se asociaron con LLA infantil los cuales fueron identificados en los dos primeros GWAS realizados por Treviño et al, y Papaemmanuil et al (2009). En estos estudios, la señal de asociación más alta se encontró para los SNP's rs7089424 y rs10821936 (Tabla 2) (Treviño et al., 2009, Papaemmanuil et al., 2009).

Tabla 2. SNP's más significativos reportados por GWAS y estudios posteriores

Gene	SNP	P	Study
ARID5B	rs7073837	$p=1,03 \times 10^{-15}$	Papaemmanuil et al., 2009, Treviño et al., 2009, Migliorini et al., 2013, Xu et al., 2013, Orsi et al., 2012
	rs10740055	$p=1,61 \times 10^{-14}$	
	rs7089424	$p=1,41 \times 10^{-19}$	
	rs10821936	$p=1,40 \times 10^{-15}$	
	rs10994982	$p=5,7 \times 10^{-9}$	
IKZF1	rs6964823	$p=1,8 \times 10^{-13}$	Papaemmanuil et al., 2009, Treviño et al., 2009, Migliorini et al., 2013, Xu et al., 2013, Orsi et al., 2012
	rs4132601	$p=9,3 \times 10^{-20}$	
	rsrs6944602	$p=1,5 \times 10^{-15}$	
	rs11978267	$p=8,8 \times 10^{-11}$	
CEBPE	rs2239633	$p=5,6 \times 10^{-8}$	Papaemmanuil et al., 2009, Migliorini et al., 2013, Xu et al., 2013, Orsi et al., 2012
	rs10143875	$p=1 \times 10^{-3}$	
	rs4982731	$p=1 \times 10^{-12}$	
	rs3731217	$p=1,13 \times 10^{-8}$	

La Asociación de los SNP's rs7089424 y rs10821936 con el riesgo de LLA fue confirmado en varios estudios posteriores y en diferentes grupos étnicos, lo cual apoya la hipótesis de que ARID5B está claramente involucrado en un mecanismo general que contribuye a la etiología de la LLA infantil (Gutiérrez et al., 2017).

#### 1.4.4.1 rs7089424 (G>T)

Es un SNP ubicado en el intrón 3 del gen ARID5B (Gharbi et al., 2016), que consiste en una modificación de Guanina por Timina (Ensembl, 2016).

En el GWAS realizado por Papaemmanuil et al (2009), fue el SNP con la señal de asociación más alta (Gutiérrez et al., 2017).

#### **I.4.4.2 rs10740055 (A>C)**

Es un SNP ubicado en el intrón 3 del gen ARID5B (Gutiérrez et al., 2013), que consiste en una modificación de Adenina por Citosina ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=rs10740055](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=rs10740055))

Diversos estudios han demostrado una asociación entre los polimorfismos del gen ARID5B y la LLA (Al-absi et al., 2017) y han sido reproducibles en diferentes poblaciones (Bekker et al., 2016).

Bekker et al (2016), realizaron un estudio de caso control en niños mexicanos, para evaluar la contribución de los SNP's rs10821936 y **rs7089424** del gen ARID5B, en el desarrollo de la LLA, participaron 285 niños con LLA y 476 controles. Se encontraron asociaciones entre los SNP rs10821936 y **rs7089424** y la LLA.

Al-absi et al (2017), a través de un estudio que incluyó 136 niños de origen yemení con LLA y 153 controles, investigaron la asociación entre 14 SNP's del ARID5B incluyendo **rs10740055** y **rs7089424** y LLA. El modelo aditivo reveló que los SNP con una asociación significativa con LLA fueron rs7073837, **rs10740055**, rs10994982 y rs4948487 (en mujeres); y **rs7089424**, rs7896246, rs10821938 y rs7923074 (en hombres).

Gharbi et al (2016), en población tunecina, identificaron que el SNP **rs7089424** del gen ARID5B, se asoció significativamente con un riesgo mayor de desarrollar LLA pediátrica, cuyos resultados son consistentes con los hallazgos en las poblaciones europeas.

Zeng et al (2014), realizaron una revisión sistemática, cuyos resultados indican que los SNP's rs10994982 y **rs7089424** del gen ARID5B, se asociaron significativamente con un mayor riesgo de LLA infantil.

#### 1.4.5. Gen IKZF1

El gen IKAROS con dedos de zinc familia 1 (IKZF1 por sus siglas en inglés) se localiza en el cromosoma 7p12.2 (Bahari et al., 2016).

Está compuesto por 8 exones, que abarcan un total de de 6 2 kb y que codifica una proteína de 519 aminoácidos (Figura 21) (Olsson y Johansson, 2015).

El gen IKZF1 codifica para un factor de transcripción dedos de zinc, IKAROS, el cual es un regulador clave para la hematopoyesis (Rudant et al., 2015)

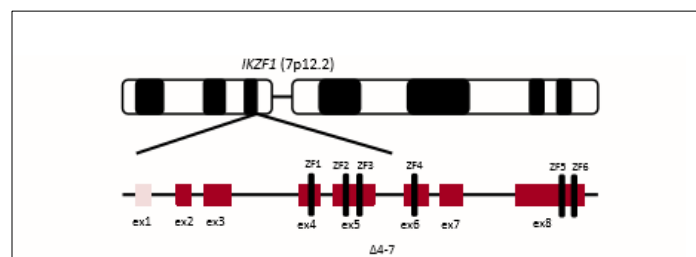


Figura 21. Estructura del gen IKZF1

**Fuente:** Olsson y Johansson (2015)

Estudios de GWAS registraron asociación significativa entre LLA y los SNP's del gen IKZF1 rs4132601, rs6964823, rs6944602 y rs11978267 (Bahari et al., 2016).

##### 1.4.5.1. rs4132601 (G>T)

Este polimorfismo, se localiza en la región no traducida 5'UTR del gen IKZF1 (Gharbi et al., 2016). Es una variación de Guanina por Timina ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?searchType=adhoc\\_search&type=rs&rs=rs4132601](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=rs4132601)).

Algunos estudios demostraron resultados inconsistentes entre SNP's del gen IKZF1 y el riesgo de LLA en diferentes poblaciones (Bahari et al., 2016).

Bahari et al., en India (2016), confirmaron que el SNP rs4132601, alelo G del gen IKZF1 incrementa el riesgo de LLA.

Li et al (2015), a través de una revisión sistemática, sugieren que el SNP rs4132601 del gen IKZF1, es un factor de riesgo para LLA.

#### 1.4.6. Gen CEBPE

El gen proteína epsilon de unión potenciadora de CCAAT (CEBPE, por sus siglas en inglés) se localiza en el cromosoma 14q11.2 (Al-absi et al., 2017).

La proteína codificada por este gen es un factor de transcripción bZIP que puede unirse como un homodímero a ciertas regiones reguladoras de ADN. También puede formar heterodímeros con la proteína relacionada CEBP-delta. La proteína codificada puede ser esencial para la diferenciación terminal y la maduración funcional de las células progenitoras de granulocitos comprometidas. Las mutaciones en este gen han sido asociadas con la Deficiencia de Gránulos Específicos, un trastorno congénito raro. Se han descrito múltiples variantes de este gen, pero se ha determinado la naturaleza de longitud completa de sólo una (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1053>).

##### 1.4.6.1. rs2239633 (C>T)

Está ubicado en la región no traducida 5'UTR del gen CEBPE (Gharbi et al., 2016). En el GWAS realizado por Papemmanuil et al, en CEBPE, la señal de asociación más alta se encontró para este polimorfismo. Es una variación de Citosina por Timina ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=2239633](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2239633)).

Gharbi et al (2016), en población tunecina, identificaron que el SNP rs2239633 del gen CEBPE se asocia significativamente con un riesgo mayor de desarrollar LLA pediátrica, cuyos resultados son consistentes con los hallazgos en las poblaciones europeas.

Sun et al (2015), realizaron un meta análisis incluyendo 22 estudios, el cual aportó pruebas de que el SNP rs2239633 del gen CEBPE, se asocia con un menor riesgo de la LLA-B infantil, en europeos.

Wang, Chen, Sun, Sun y Liu (2015), a través de una revisión sistemática demostraron que el SNP rs2239633 del gen CEBPE, se asoció significativamente con el riesgo de LLA infantil.

En China, Yangqiong et al (2014), a través de una revisión sistemática evaluaron la asociación entre el SNP rs2239633 del gen CEBPE y la susceptibilidad para desarrollar LLA, se encontró asociación significativa. En los análisis de subgrupos por etnicidad, se encontró asociación significativa entre los caucásicos y los hispanos, pero no en los asiáticos. Estos investigadores sugieren que el SNP rs2239633 del gen CEBPE confiere un factor de riesgo en la LLA.

Zhang et al (2015), realizaron una revisión sistemática, cuyos hallazgos confirman que el SNP rs2239633 del gen CEBPE, podría ser considerado un buen marcador de riesgo de LLA infantil en los caucásicos, pero no en el este de Asia.

## **II. OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Determinar los polimorfismos genéticos que se asocian al desarrollo de Leucemia en niños del estado de Chiapas.

### **ESPECÍFICOS**

1. Analizar las características clínicas y sociodemográficas del grupo de estudio.
2. Determinar la frecuencia de los SNP's rs1801131 y rs1801133 del gen MTHRF en niños con Leucemia y niños del grupo control.
3. Determinar la frecuencia del SNP rs25487 del gen XRCC1 en niños con Leucemia y niños del grupo control.
4. Determinar la frecuencia de los SNP's rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B, en niños con Leucemia y niños del grupo control.
5. Determinar la frecuencia del SNP rs4132601 del gen IKZF1 en niños con Leucemia y niños del grupo control.
6. Determinar la frecuencia del SNP rs2239633 del gen CEBPE en niños con Leucemia y niños del grupo control.
7. Analizar la asociación entre los SNP's rs1801131 y rs1801133 del gen MTHRF, rs25487 del gen XRCC1, rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B, rs4132601 del gen IKZF1 y rs2239633 del gen CEBPE y el desarrollo de Leucemia en niños.

### **III. MATERIAL Y METODO**

#### **3.1. Diseño del estudio**

Se realizó un estudio epidemiológico de casos y controles, no pareado.

#### **3.2. Lugar del estudio**

El estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio de investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad “Ciudad Salud” y en el laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Facultad de Ciencias Químicas, UNACH.

#### **3.3. Población de estudio y recolección de muestras biológicas**

Este estudio incluyó un total de 151 niños, 46 niños con diagnóstico confirmado de Leucemia y 105 niños sanos que conformaron el grupo control.

Las muestras de pacientes con diagnóstico confirmado de Leucemia se recolectaron entre agosto del 2016 y octubre del 2017, en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez y en el área de Oncología Pediátrica del Hospital General Tapachula, en cualquier etapa de la enfermedad, de ambos sexos, previa firma de consentimiento informado del padre o tutor del paciente, conforme a la Declaración de Helsinki.

Criterios de exclusión: Presencia de otra neoplasia hematológica, que sea mayor de 18 años.

Criterios de eliminación: Que no acepte participar en el estudio y que no cumpla con los criterios de inclusión establecidos.

Los datos clínicos fueron recolectados de los expedientes de los pacientes. Los datos recopilados incluyeron: edad, sexo y lugar de procedencia.

El grupo control estuvo integrado por niños sin diagnóstico de Leucemia, menores de 18 años de edad, de ambos sexos, provenientes de la casa de salud ubicada en la 2ª sección de Medio monte del municipio de Tuxtla Chico, previa firma de consentimiento informado del padre o tutor del paciente, conforme a la Declaración de Helsinki.



Se recolectó una muestra de sangre por punción de la vena cubital, la cual se conservó hasta su procesamiento a 4 °C.

### **3.4. Materiales**

Para la toma de muestra se utilizaron tubos vacutainer de 5 ml de capacidad; con anticoagulante EDTA.

Para la extracción de ADN genómico se empleó el Kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit de la marca INVITROGEN™ (Carlsbad, California, Estados Unidos) y etanol absoluto de la marca Meyer.

Para las reacciones de qPCR en modalidades de genotipificación se empleó un estuche comercial Taqman Genotyping Master Mix de la marca Applied Biosystems (Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA). El ensayo de genotipificación contiene el conjunto de sondas y cebadores Taqman (Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404) para los SNPs rs 1801131 y rs 1801133 del gen MTHFR, rs 25487 del gen XRCC1, rs 7089424 y rs 10740055 del gen ARID5B, rs 4132601 del gen IKZF1 y rs 2239633 del gen CEBPE.

El material de plástico desechable empleado fue MicroAmp Optical 8 Cap Strip y MicroAmp Fast 8-Tube Strip de la marca Applied Biosystems (Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA), se emplearon guantes latex sin polvo, marca Ambiderm Nitrilo Soft (Álvaro Obregón, México, DF).

### **3.5. Equipo**

Se empleó una microcentrifuga Prism R de la marca Labnet modelo C2500-R (Woodbrig, New Jersey 08837, USA); un vortex Genie 2 de la marca Scientific Industries, INC. (70 Orville Drive, Bohemia, New York 11716 USA); un fotómetro para la cuantificación de las muestras de ADN de la marca eppenderof bio-photometer (Westbury, New York, USA).

Las reacciones de PCR se prepararon en una campana de PCR y se emplearon micropipetas de volumen variable de la marca Accumax Pro (Gandhinagar, Gujarat-India).

La amplificación se realizó en el Termociclador StepOne Real Time PCR System de la marca Applied Biosystems (Lincoln Centre Drive, Foster City, California 99404, USA).

### **3.6. Metodología experimental**

#### **3.6.1. Extracción de ADN**

La extracción y purificación del ADN se realizó empleando el kit comercial *PureLink® Genomic DNA Mini Kit* de la casa comercial Invitrogen (Carlsbad, California, Estados Unidos)

Lisado de sangre

- Se preparó el baño María a 55° C
- Se agregó 200 µL de muestra a un tubo
- Se añadió 20 µL de proteinasa K.
- Posteriormente se añadió 20 µL de RNasas A.
- Se homogenizo en el vortex y se incubo a temperatura ambiente durante 2 minutos.
- Se añadió 200 µL de Genomic Lysis /Binding Buffer.
- Se homogenizó en vortex y se incubó a 55° C por 10 minutos
- Posteriormente se añadió a 200 µL de etanol (96-100%) y se mezcló en un vórtex por 5 segundos y se prosiguió con la siguiente fase de la extracción.

Fase de unión del ADN

- Se pasó la recolección a una columna y se centrifugó a 11,500 rpm
- Se desechó el tubo colector y se colocó la columna en otro tubo

Fase de lavado del ADN

- Se añadió 500 µL de tapón Buffer lavado
- Se centrifugó la columna a 11,500 rpm

- Se desechó el tubo colector y la columna pasó a otro tubo colector
- Se añadió 500  $\mu\text{L}$  de Buffer lavado
- Se centrifugó a velocidad máxima por 3 minutos, posteriormente se desechó el tubo colector y se guardó la columna

#### Fase de elución del ADN

- La columna se colocó en un tubo Eppendorf estéril de 1.5mL.
- Se agregó un volumen de 50uL del buffer de elución *PureLink® Genomic Elution Buffer*, directamente en la membrana de silicona de la columna.
- La columna se centrifugó a 14,000 RPM por 1 minuto.
- La columna fue desechada y el ADN genómico purificado, se recolectó en el tubo Eppendorf.

Para determinar la calidad del ADN, se realizó una electroforesis con gel de agarosa al 0.8% de la muestra obtenida.

#### Preparación del gel de agarosa al 0.8%

Se pesaron 0.16 gr de agarosa en la balanza analítica, los cuales se disolvieron en 20 ml de solución amortiguadora de TAE al 0.5X (Tris-Acetato-EDTA), la solución se calentó en horno de microondas hasta su completa disolución. Finalmente se agregó en los moldes para geles y se esperó hasta su polimerización, aproximadamente 20 minutos.

La electroforesis se llevó acabo con el siguiente protocolo:

- Se colocó el gel en la cámara de electroforesis horizontal.
- Se cargaron las muestras (tomando con la micropipeta un volumen de 1  $\mu\text{L}$  de ADN y un volumen de 3  $\mu\text{L}$  de buffer de carga y se mezcló perfectamente) en los pozos del gel. En el carril número 1 se colocó el marcador de peso molecular para el ADN, en los carriles siguientes las muestras de ADN.
- Se agregó la solución buffer de TAE 0.5X lentamente hasta cubrir el gel

- Se cerró la cámara y se conectaron los electrodos a la fuente de poder, aplicando la corriente aproximadamente a 80 volts, hasta que el colorante alcanzó las  $\frac{3}{4}$  partes del gel (45 min)
- Al terminar la electroforesis, el gel de agarosa se reveló con una solución de Bromuro de Etidio de 3 a 5 minutos, posteriormente se realizó un lavado en agua destilada durante 5 minutos.
- Se colocó el gel en el transiluminador de luz ultravioleta (PROTEINSIMPLE Modelo SA-1000, Santa Clara, CA, USA) para visualización de las bandas de los ácidos nucleicos, mediante la iluminación con luz ultravioleta. Y capturada mediante la cámara del sistema fotodocumentador, lo que nos permitió observar las bandas de ADN.

Posteriormente, se procedió a cuantificar el ADN obtenido, para tener muestras con concentraciones de 50 ng/ $\mu$ L, se usó el equipo Eppendorf Bio-photometer de la empresa Applied Biosystem.

Para la cuantificación del ADN se usó el siguiente protocolo:

1. Se colocó 50  $\mu$ L de agua destilada (blanco) en una celda de poliestireno para medir en un espectrofotómetro de luz UV. Y se ajustó a cero la lectura del equipo, a una densidad óptica de 260 y 280 nm.
2. Se colocó 1 $\mu$ L del ADN a cuantificar y se diluyó con 49  $\mu$ L de agua.
3. Se homogenizó por inmersión y se procedió a leer las absorbancias.

La concentración y el grado de contaminación proteica del ADN obtenido, se calcularon por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{ng de ADN}/\mu\text{L} = (\text{D.O.260}) \times (\text{factor de dilución}) \times (50)$$

El multiplicador 50, es un factor de corrección introducido debido a que la unidad de densidad óptica con luz de longitud de onda 260 nm, corresponde con el valor de absorbancia que tiene 50 ng de ADN/ $\mu$ L

Se considera como valores adecuados de cociente de D.O. (Densidad Óptica) 260/280:

- Los comprendidos entre 1.65 y 2.0, para la medida del grado de contaminación proteica.
- Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o por solventes orgánicos.
- Valores superiores parecen indicar un exceso de ARN.

#### Almacenamiento de muestras de ADN

Las muestras de ADN de concentración aproximada de 50 ng/ $\mu$ L, se almacenaron en tubos cónicos a -20°C, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del ADN, así como su posible contaminación bacteriana.

#### Reacción en cadena de la polimerasa del gen $\beta$ - globina

Se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa del gen  $\beta$ -globina empleando la enzima *DreamTaq<sup>®</sup>DNA Polimerasa*, como control de calidad interno en el laboratorio de Biología molecular de las muestras de ADN extraídas y purificadas previamente.

Para la amplificación de un fragmento de 262 pb del gen  $\beta$ -globina se emplearon los siguientes iniciadores (primers) específicos de la marca *Integrated DNA Technology*.

La secuencia de nucleótidos de cada *primer* es la siguiente:

$\beta$ - globina Forward: 5´ - GGT TGG CCA ATC TAC TCC CAG G-3´

$\beta$ - globina Reverse: 5´ - TGG TCT CCT TAA ACC TGT CTT G -3´

Tabla 3. Volúmenes de reacción de la PCR del gen $\beta$ -globina	
Reactivo	uL por reacción
Agua grado Biología Molecular	15.3
Buffer Dream <sup>®</sup>	2
Desoxirribonucleótidos trifosfatados	0.5
$\beta$ -globina forward	2.5
$\beta$ -globina reverse	2.5
<i>DreamTaq<sup>®</sup>DNA Polimerasa</i>	0.2
ADN molde	2.0

Los tubos preparados se colocaron en un termociclador modelo *Prime Thermal Cyclers* de la marca TECHNE para iniciar la reacción de amplificación con las siguientes condiciones de tiempo y temperatura.

Tabla 4. Condiciones en el termociclador para PCR del gen $\beta$ -globina			
Etapa	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Pre calentamiento	105°C	5 minutos	1
Desnaturalización inicial	94°C	5 minutos	1
Desnaturalización	94°C	20 segundos	40
Hibridación	55°C	30 segundos	
Extensión	72°C	30 segundos	
Extensión final	72°C	5 minutos	1

### 3.6.2. Genotipificación de SNP

La genotipificación de los SNPs rs1801131 y rs1801133 del gen MTHFR, rs25487 del gen XRCC1, rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B, rs4132601 del gen IKZF1 y rs2239633 del gen CEBPE se realizó por PCR en Tiempo Real, mediante la técnica de discriminación alélica.

#### 3.6.2.1. Genotipificación del SNP rs1801131

La detección del SNP rs1801131 (A1298C), se realizó empleando el ensayo C\_\_\_850486\_20 TaqMan® SNP Genotyping Assays de la marca Applied Biosystems (Foster City, CA, USA)

La secuencia de la sonda es la siguiente:

AAGAACGAAGACTTCAAAGACACTT [G/T] TTCACTGGTCAGCTCCTCCCCCA

Este ensayo incluye dos sondas complementarias a cada alelo, marcadas con fluorocromos específicos para diferenciar cada uno. El alelo (C) está marcado con el fluorocromo VIC ® mientras que el alelo (A) está marcado con el fluorocromo FAM™.

#### **3.6.2.2. Genotipificación del SNP rs1801133**

La detección del SNP rs1801133 (C677T) se realizó empleando el ensayo C\_\_\_1202883\_20 TaqMan® SNP Genotyping Assays de la marca Applied Biosystems (Foster City,CA,USA)

La secuencia de la sonda es la siguiente:

GAAAAGCTGCGTGATGATGAAATCG [G/A] TCCCGCAGACACCTTCTCCTTCAA

La tecnología de las sondas TaqMan® de Applied Biosystems, incluyen dos sondas, complementarias a cada uno de los alelos, marcadas con fluorocromos notificadores específicos para identificar cada alelo. En este ensayo el alelo (C) está marcado con el fluorocromo VIC ® y el alelo (T) con FAM™. En este proceso se usaron las condiciones establecidas en el protocolo descrito por el fabricante.

#### **3.6.2.3. Genotipificación del SNP rs25487**

Se empleó el ensayo C\_622564\_10 de la marca Applied Biosystems® TaqMan™ SNP Genotyping assays.

La secuencia que se estudió es la siguiente:

GGGTTGGCGTGTGAGGCCTTACCTC[C/T]GGGAGGGCAGCCGCCGACGCATGCG

En los experimentos de genotipificación, la PCR tiempo real incluye una sonda marcada con fluorocromo específicos para cada alelo. Las sondas contienen diferentes fluorocromos notificadores para diferenciar cada alelo. En este ensayo el alelo 1 (C) está marcado con VIC y el alelo 2 (T) con FAM.

#### **3.6.2.4. Genotipificación del SNP rs7089424**

Se empleó el ensayo C\_\_29243783\_10 de la marca Applied Biosystems® TaqMan™ SNP Genotyping assays.

La secuencia que se estudió es la siguiente:

AGCAGTGTTTGGTTATAGTTTAGTT [G/T] TGTGATGTTTTTTTTCTTGAGTGAT

En los experimentos de genotipificación, la PCR tiempo real incluye una sonda marcada con fluorocromo específicos para cada alelo. Las sondas contienen diferentes fluorocromos notificadores para diferenciar cada alelo. En este ensayo el alelo 1 (G) está marcado con VIC y el alelo 2 (T) con FAM

#### **3.6.2.5. Genotipificación del SNP rs10740055**

Se empleó el ensayo C\_\_496421\_10 de la marca Applied Biosystems® TaqMan™ SNP Genotyping assays.

La secuencia que se estudió es la siguiente:

CTAGGAACTTATACTTAGTTCAAAC[A/C]CAGCTTTCCAAATAGAAACCCTGTG

En los experimentos de genotipificación, la PCR tiempo real incluye una sonda marcada con fluorocromo específicos para cada alelo. Las sondas contienen diferentes fluorocromos notificadores para diferenciar cada alelo. En este ensayo el alelo 1 (A) está marcado con VIC y el alelo 2 (C) con FAM.

#### **3.6.2.6. Genotipificación del SNP rs4132601**

Se empleó el ensayo C\_\_26019772\_10 de la marca applied biosystems. TaqMan™ SNP Genotyping Assays.

La secuencia de la sonda que se usó es la siguiente:

TGCAATCACAGAGAAAGATGCGCCT[G/T]ATCCAAGTTAATATCTCTAAGGT



En los experimentos de genotipificación, la PCR Tiempo Real incluyen una sonda marcada con fluorocromos específicos para cada alelo (Discriminación alélica). Las sondas contienen diferentes fluorocromos notificadoros para identificar cada alelo. En este ensayo el alelo 1 (G) está marcado con VIC y el alelo 2 (T) con FAM. En este proceso se usaron las condiciones establecidas en el protocolo descrito por el fabricante.

### 3.6.2.7. Genotipificación del SNP rs2239633

Se empleó el ensayo C\_\_\_335486\_1\_ de la marca Applied Biosystems. TaqMan™ SNP Genotyping Assays.

La secuencia de la sonda que se usó es la siguiente:

TAGGTCCTAGGAACAAGCTCTACAC[A/G] GAGCCTGCGTGGTGCTCCAGAGCA

En los experimentos de genotipificación, la PCR tiempo real incluyen una sonda marcada con fluorocromos específicos para cada alelo (Discriminación alélica). Las sondas contienen diferentes fluorocromo notificadoros para identificar cada alelo. En este ensayo el alelo 1 (A) está marcado con VIC y el alelo 2 (G) con FAM. En este proceso se usaron las condiciones establecidas en el protocolo descrito por el fabricante.

### 3.6.2.8. Preparación de la placa de reacción

Para la genotipificación de los SNPs rs1801131, rs1801133, rs25487, rs7089424, rs10740055, rs4132601 y rs2239633, se realizaron los cálculos correspondientes para determinar los volúmenes requeridos para preparar la solución Master Mix a un volumen final de 10 µL. en la tabla 10 se muestra los volúmenes de cada reactivo para una reacción (1X). Los reactivos se homogenizaron perfectamente en un tubo Eppendorf de 1.5µL para preparar la solución master mix.

Tabla 5. Volúmenes de reacción para la genotipificación de los SNP	
Reactivo	µL por reacción (1x)
TaqMan® genotyping Master Mix	5 µL
TaqMan® SNP Genotyping Assays	0.5 µL
DNase-Free water	4.5 µL

1. Posteriormente en un tubo de reacción *Applied Biosystems® MicroAmp®* se agregó un volumen de 10uL de la solución Master Mix y se añadió 1 µL de ADN de genotipo desconocido.
2. Se montó un control negativo (NTC) y un control de ADN de genotipo conocido en cada placa para validar la reacción.
3. Una vez que se realizaron las reacciones correspondientes, los tubos fueron sellados perfectamente con tapas ópticas *MicroAmp® optical 8-cap Strip* para disminuir el riesgo de contaminación en la reacción de PCR.
4. La genotipificación se realizó en un termociclador StepOne Real Time PCR System de la marca Applied Biosystems. se colocó la placa de reacción con los tubos sellados perfectamente, para dar inicio al programa, con las siguientes condiciones de tiempo y temperatura:

Tabla 6. Condiciones en el termociclador para PCR en tiempo real.			
Etapa	Temperatura	tiempo	Ciclos
Activación de la enzima	95	10 min.	1
Desnaturalización	95	15 seg.	40
Alineamiento/ Extendido	60	1 min.	

El análisis de los resultados de la genotipificación de los polimorfismos se realizó en el programa *StepOne software v. 2.1* incluido en el sistema del termociclador. Los resultados se exportaron a un documento Excel, para su análisis estadístico.

### **3.6.3 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el análisis de chi-cuadrada para determinar las diferencias en la distribución genotípica entre los casos y controles. Las frecuencias genotípicas y alélicas fueron expresadas por percentiles. Los resultados de análisis de genotipificación se analizaron con el programa SNPstat. La magnitud de la asociación entre LLA y los SNP's se calculó mediante el valor de Odds Ratio (OR por sus siglas en inglés) y el correspondiente intervalo de confianza (IC) del 95%. Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 21. Los valores  $p < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

#### IV. RESULTADOS

##### 1. Describir las características clínicas y sociodemográficas del grupo de estudio.

La población de estudio incluyó un total de 46 pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia, procedentes del Hospital de Especialidades Pediátricas de Tuxtla Gutiérrez (63%) y el Hospital General Tapachula (37%); y 105 niños sanos que conformaron el grupo control.

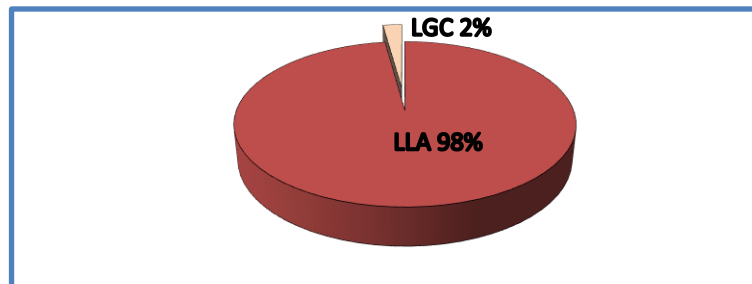
De los 46 pacientes, 29 (63%) fueron varones y 17 (37%) mujeres. La edad media fue de 7.8 años (rango 1-16). En relación al grupo control, 61 (68%) fueron mujeres y 44 (42%) varones; la edad media fue de 9.9 años (rango 4-17) (tabla 7).

Tabla 7. Características sociodemográficas de pacientes con Leucemia y grupo control.

Característica	Casos (n=46)	Controles (n=105)
Edad promedio±DE	7.8±4.64	9.94±3.10
Género, n (%)		
Niños	29 (63)	44 (42)
Niñas	17 (37)	61 (68)

DE: Desviación estándar

En relación al tipo de Leucemia de los pacientes, 46 (98%) de los casos fue LLA y 1 (2%) fue Leucemia Granulocítica Crónica (LGC).



Gráfica porcentual del tipo de Leucemia.

**2. Determinar la frecuencia de los SNP's rs1801131 y rs1801133 del gen MTHFR en niños con Leucemia y niños del grupo control.**

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNPs A1298C y C677T del gen MTHFR se observa en la tabla 8.

Las frecuencias genotípicas de 1298AA, 1298AC, 1298CC fue 74%, 26% y 0% para los casos y 93%, 6% y 1% para los controles, respectivamente. La frecuencia del alelo C en el grupo de casos fue significativamente más alta que en el grupo control (13% contra 4%  $p=0.002$ ). De la misma forma, según la tabla 13, se observa una asociación significativa con el modelo genético dominante (OR=4.94, 95% CI, 1.80-13.57)  $p=0.001$  lo cual nos indica que la presencia de una o dos copias del alelo C aumenta el riesgo de 4.94 veces a desarrollar leucemia.

Las frecuencias genotípicas de 677CC, 677CT, 677TT fue 9%, 48% y 43% para los casos y 8%, 3% y 62% para los controles, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas ni en las frecuencias alélicas en el grupo de casos ni en el grupo control (tabla 8).

**Tabla 8.** Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs1801131 y rs1801133 de casos y controles

GEN (rs)		Genotipo				Alelo		
		Control n (%)	LLA n (%)	EHW <i>p</i> -value		Control n (%)	LLA n (%)	<i>p</i> -value
MTHFR rs1801131	A/A	98 (93)	34 (74)	0.13	A	202 (96)	80 (87)	0.002*
	A/C	6 (6)	12 (26)		C	8 (4)	12 (13)	
	C/C	1 (1)	0 (0)					
MTHFR rs1801133	C/C	8 (8)	4 (9)	0.17	C	48 (23)	30 (33)	0.057
	C/T	32 (30)	22 (48)		T	162 (77)	62 (67)	
	T/T	65 (62)	20 (43)					

EHW: Equilibrio Hardy-Weinberg.

**3. Determinar la frecuencia del SNP rs25487 del gen XRCC1 en niños con Leucemia y niños del grupo control.**

Las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs25487 se observa en la tabla 9. Las frecuencias genotípicas de GG, GA y AA fue 46%, 44% y 10% para los casos y 59%, 34% y 7% para los controles, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas ni en las frecuencias alélicas en el grupo de casos ni en el grupo control.

**Tabla 9.** Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs25487 de casos y controles.

GEN (rs)		Genotipo				Alelo		
		Control n (%)	LLA n (%)	EHW p-value		Control n (%)	LLA n (%)	p-value
XRCC1 rs25487	G/G	62 (59)	18 (46)	0.59	G	160 (76)	53 (78)	0.15
	G/A	36 (34)	17 (44)		A	50 (24)	25 (22)	
	A/A	7 (7)	4 (10)					

EHW: Equilibrio Hardy-Weinberg.

**4. Determinar la frecuencia de los SNP's rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B, en niños con Leucemia y niños del grupo control.**

Las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs7089424 se observa en la tabla 10. Las frecuencias genotípicas de AA, AC y CC fue 4%, 41% y 54% para los casos y 9%, 45% y 47% para los controles, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas ni en las frecuencias alélicas en el grupo de casos ni en el grupo control.

Las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs10740055 se observa en la tabla 10. Las frecuencias genotípicas de TT, TG y GG fue 4%, 96% y 0% para los casos y 6%, 94% y 0% para los controles, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en las

frecuencias genotípicas ni en las frecuencias alélicas en el grupo de casos ni en el grupo control.

**Tabla 10.** Frecuencia genotípicas y alélicas del los polimorfismos rs7089424 y rs10740055 de casos y controles

GEN (rs)		Genotipo				Alelo		
		Control n (%)	LLA n (%)	HWE p-value		Control n (%)	LLA n (%)	p-value
ARID5B rs7089424	A/A	9 (9)	2 (4)	0.82	A	65 (31)	23 (25)	0.29
	A/C	47 (45)	19 (41)		C	145 (69)	69 (75)	
	C/C	49 (47)	25 (54)					
ARID5B rs10740055	T/T	6 (6)	2 (4)	0.001	T	111 (53)	48 (52)	0.91
	T/G	99 (94)	44 (96)		G	99 (47)	44 (48)	
	G/G	0	0					

EHW: Equilibrio Hardy-Weinberg.

**5. Determinar la frecuencia del SNP rs4132601 del gen IKZF1 en niños con Leucemia y niños del grupo control.**

Las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs4132601 se observa en la tabla 11. Las frecuencias genotípicas de AA, AC y CC fue 43%, 46% y 11% para los casos y 56%, 37% y 7% para los controles, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas ni en las frecuencias alélicas entre los 2 grupos.

**Tabla 11.** Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs4132601 de casos y controles.

GEN (rs)		Genotipo				Alelo		
		Control n (%)	LLA n (%)	EHW p-value		Control n (%)	LLA n (%)	p-value
IKZF1 rs4132601	A/A	59 (56)	20 (43)	0.8	A	157 (75)	61 (66)	0.13
	A/C	39 (37)	21 (46)		C	53 (25)	31 (34)	
	C/C	7 (7)	5 (11)					

EHW: Equilibrio Hardy-Weinberg.

**6. Determinar la frecuencia del SNP rs2239633 del gen CEBPE en niños con Leucemia y niños del grupo control.**

Las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs2239633 se observa en la tabla 12. Las frecuencias genotípicas de CC, CT y TT fue 29%, 55% y 16% para los casos y 41%, 59% y 0% para los controles, respectivamente. La frecuencia del genotipo homocigoto CC en el grupo de casos fue significativamente más baja que en el grupo control (29% contra 41%  $p=0.01$ ).

**Tabla 12.** Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs2239633 de casos y controles.

GEN (rs)		Genotipo				Alelo		
		Control n (%)	LLA n (%)	EHW <i>p</i> -value		Control n (%)	LLA n (%)	<i>p</i> -value
CEBPE rs2239633	C/C	43 (41)	12 (29)	0.001	C	148 (70)	47 (56)	0.01*
	C/T	62 (59)	23 (55)		T	62 (30)	37 (44)	
	T/T	0 (0)	7 (16)					

EHW: Equilibrio Hardy-Weinberg.

7. Analizar la asociación entre los SNPs rs 1801131 y rs 1801133 del gen MTHFR, rs 25487 del gen XRCC1, rs 7089424 y rs 10740055 del gen ARID5B, rs 4132601 del gen IKZF1 y rs 2239633 del gen CEBPE y el desarrollo de Leucemia en niños y niños del grupo control.

Para estudiar la asociación entre los 7 polimorfismos genéticos seleccionados y el desarrollo de Leucemia, se compararon las frecuencias genotípicas y alélicas entre los grupos de estudio.

El análisis de asociación por frecuencias genotípicas mostró que los SNP's rs1801131 del gen MTHFR y rs2233696 del gen CEBPE, se encontraron asociados con la Leucemia, los cuales mostraron los dos resultados más significativos (Tabla 13).



**Tabla 13.** Análisis estadístico de asociación de SNPs con el desarrollo de LLA.

Modelo genético	Genotipo	Control n (%)	LLA n (%)	OR 95%IC	p-value	
MTHFR	A/A	98 (93.3%)	34 (73.9%)	1	0.002	
	rs1801131	A/C	6 (5.7%)	12 (26.1%)		5.76 (2.01-16.55)
	Codominante	C/C	1 (1%)	0 (0%)		0.00 (0.00-NA)
Dominante	A/C-C/C	7 (6.7%)	12 (26.1%)	4.94 (1.80-13.57)	0.001	
	A/A-C/C	99 (94.3%)	34 (73.9%)	1		
Log-additive	---	---	---	3.76 (1.45-9.74)	0.005	
rs1801133	C/C	8 (7.6%)	4 (8.7%)	1	0.63	
Codominante	C/T	32 (30.5%)	22 (47.8%)	1.37 (0.36-5.13)		
	T/T	65 (61.9%)	20 (43.5%)	0.61 (0.16-2.25)		
Dominante	C/T-T/T	97 (38.1%)	42 (56.5%)	0.86 (0.24-3.03)	0.82	
CEBPE	C/C	43 (41%)	12 (29%)	1	0.0001	
rs2239633	C/T	62 (59%)	23 (55%)	1.33 (0.60-2.96)		
Codominante	T/T	0 (0%)	7 (17%)	0.00 NA		
Dominante	C/T-T/T	62 (59%)	30 (71.4%)	1.73 (0.80-3.76)	0.16	
Log-additive	---	---	---	2.63 (1.32-5.24)	0.004	
IKAROS	A/A	59(56.2%)	20 (43.5%)	1	0.32	
rs4132601	A/C	39(37.1%)	21 (45.6%)	1.59 (0.76-3.31)		
Codominante	C/C	7 (6.7%)	5 (10.9%)	2.11 (0.60-7.39)		
Dominante	A/C-C/C	46 (43.8%)	26 (56.5%)	1.67 (0.83-3.35)	0.15	
ARID5B	T/T	6 (5.7%)	2 (4.3%)	1	0.73	
rs10740055	T/G	99 (94.3%)	44 (95.7%)	1.33 (0.26-6.87)		
Codominante	G/G	0 (0%)	0 (0%)	---		
rs7089424	A/A	9 (8.6%)	2 (4.3%)	1	0.46	
Codominante	A/C	47 (44.8%)	19 (41.3%)	1.81 (0.35-9.21)		
	C/C	49 (46.7%)	25 (54.4%)	2.29 (0.46-1.44)		
Dominante	A/C-C/C	96 (91.4%)	44 (95.7%)	2.06 (0.42-9.95)	0.36	
XRCC1	G/G	62 (59%)	18 (46%)	1	0.37	
rs25487	G/A	36 (34%)	17 (44%)	1.63 (0.75-3.55)		
Codominante	A/A	7 (7%)	4 (1%)	1.97 (0.52-7.49)		
Dominante	G/A-A/A	43 (41%)	21 (53.9%)	1.68 (0.80-3.53)	0.17	

OR: Odds Ratio

## V. DISCUSION

En 2009, se realizó el primer estudio de asociación del genoma completo en LLA infantil, que se integró por 2 estudios de casos y controles, conformado por 907 casos de LLA infantil y 2,398 controles; y se demostró la asociación significativa de IKZF1 rs4132601, ARID5B rs7089424 y CEBPE rs2239633. Lo anterior, evidencia que los alelos de susceptibilidad de baja penetrancia comunes, contribuyen al riesgo de desarrollar LLA infantil (Papaemmanuil et al., 2009).

En la presente tesis, mediante un estudio de casos y controles, se determinaron que 2 SNP's mostraron asociación significativa, **rs1801131 en MTHFR** y **rs2239633 en CEBPE**, con el desarrollo de Leucemia en niños del Estado de Chiapas.

En relación al polimorfismo rs1801131 (A1298C), en nuestro estudio encontramos una asociación significativa con el modelo genético dominante (OR=4.94, 95% CI, 1.80-13.57)  $p=0.001$ , lo cual nos indica que la presencia de una o dos copias del alelo C aumenta el riesgo de 4.94 veces a desarrollar leucemia.

Nuestros resultados son similares a los obtenidos por Kaluzna et al (2017), quienes demostraron que el alelo 677T MTHFR solo o en combinación con el alelo **1298C** MTHFR, incrementa significativamente el riesgo de LLA en una población polaca menor de 18 años.

Moulik et al (2014), en el norte de la India, también obtuvieron un hallazgo similar, a través de una revisión sistemática, encontraron que el alelo **1298C** fue asociado con un aumento en el riesgo de LLA (OR 4.44, 95% CI 2.19-8.99,  $p<0.0001$  para el genotipo CC). El alelo C fue asociado con un incremento en el riesgo de LLA infantil (OR 1.87, 95% CI 1.39-2.51,  $p=0.0001$ )

De la misma manera, nuestros resultados son semejantes a los reportados por Li et al (2014), en China, los cuales identificaron asociación significativa del SNP A1298C con la susceptibilidad a la LLA infantil. La frecuencia del alelo **1298C** fue significativamente más alta en los pacientes con LLA que en el grupo control (23.5% contra 14.5%,  $p=0.026$ ). La

frecuencia del alelo C (genotipo AC+CC) en los pacientes con LLA fue significativamente mayor, que en el grupo control (44.96% contra 28%,  $p=0.015$ ).

En otro estudio realizado en la República de Filipinas, Alcasabas et al (2008), también encontraron que el SNP **A1298C** fue asociado significativamente con riesgo para LLA. Ellos descubrieron que los pacientes con LLA tuvieron mayor frecuencia de los genotipos AC, CC, y AC+CC que el grupo control (70% contra 59.4%), (OR 1.57, 95% CI 1.08–2.28,  $p=0.02$ ).

En México, Gutiérrez et al (2016), también obtuvieron resultados semejantes a los nuestros, ellos encontraron una asociación significativa con el genotipo CC, los portadores de dos copias del alelo C tienen un aumento del riesgo de 6.48 veces (OR=6.48; 95% CI, 1.26–33.2;  $p=0.025$ ).

Se han reportado también diversos estudios, cuyos hallazgos evidencian al SNP A1298C como un factor protector contra la LLA. En una revisión sistemática realizada por Lien et al (2017); identificaron que los genotipos CC y AC tienen un rol protector contra LLA y LMA en poblaciones infantiles de Europa (RR=0.89.48; 95% CI, 0.82–0.98,  $p=0.0124$ ).

Así también, en Irán, en una investigación realizada por Bahari et al (2016), demostraron que el genotipo heterocigoto AC disminuye el riesgo de LLA, en comparación con el genotipo homocigoto AA (OR=0.43, 95% CI, 0.21–0.90,  $p=0.037$ ). El alelo C no fue asociado con LLA (OR=1.36, 95% CI, 0.93–1.98,  $p=0.12$ ).

Por el contrario, otros estudios evidenciaron no asociación entre el SNP A1298C y LLA. En Taiwan, Pei et al (2015), encontraron que la frecuencia de los genotipos AA, AC, CC y AC+CC, fue similar en los pacientes con LLA y el grupo control ( $p=0.8984$ ).

En una revisión sistemática realizada por Zintzaras et al (2012), de la misma manera, identificaron que el SNP A1298C no fue asociado significativamente con la susceptibilidad a LLA.

En relación al segundo polimorfismo SNP **rs2239633 en CEBPE**, que mostró asociación significativa con el desarrollo de Leucemia, se han reportado resultados similares en estudios previos.

En China, Wang et al (2015), en una revisión sistemática encontraron que el **SNP rs2239633** en CEBPE, fue asociado significativamente con el riesgo de LLA infantil, con el modelo genético aditivo (OR=1.19, 95% CI 1.11–1.28,  $p<0.01$ ). En el análisis estratificado por etnicidad, se encontró asociación significativa entre el **rs2239633** en CEBPE y LLA en el subgrupo Caucásico (OR=1.19, 95% CI 1.09–1.30,  $p<0.01$ ) y el subgrupo Hispánico (OR=1.39, 95% CI 1.18–1.63,  $p<0.01$ ). No se encontró asociación significativa en el subgrupo Asiático (OR=1.05, 95% CI 0.90–1.22,  $p=0.53$ )

De igual forma, en una revisión sistemática, Zhang et al (2015), encontraron asociación significativa del SNP **rs2239633** en CEBPE con el riesgo de LLA infantil bajo el modelo dominante (OR=1.27, 95% CI 1.15–1.39,  $p<0.00001$ ) y el modelo recesivo (OR=1.23, 95% CI 1.14–1.33,  $p<0.00001$ ). Con base en estos modelos genéticos, encontraron asociación significativa del SNP **rs2239633** en CEBPE con LLA en Caucásicos, modelo dominante (OR=1.31, 95% CI 1.18–1.46,  $p<0.00001$ ), y modelo recesivo (OR=1.32, 95% CI 1.21–1.44,  $p<0.00001$ ), pero no encontraron asociación significativa con la población del este de Asia.

En 2014, Yangqiong et al., en un meta análisis, reportaron asociación significativa entre el SNP rs2239633 del gen CEBPE y la susceptibilidad para desarrollar LLA infantil (OR=1.19, 95% CI 1.11–1.28). En los análisis de subgrupos por etnicidad, se encontró asociación significativa entre los caucásicos (OR=1.19, 95% CI 1.09–1.30) y los hispanos (OR=1.39, 95% CI 1.18–1.63), pero no en los asiáticos (OR=1.05, 95% CI 0.90–1.22).

En 2009, como se mencionó anteriormente, Papaemmanuil et al., demostraron asociación significativa de **rs2239633** en CEBPE con el riesgo de desarrollar LLA infantil. (OR=1.34,  $p=2.88 \times 10^{-7}$ ).

Estudios previos, evidencian que el rs2239633 en CEBPE, confiere un efecto protector contra la LLA. En Túnez, Gharbi et al (2016), identificaron que el SNP rs2239633 en CEBPE se asocia significativamente con un riesgo menor de desarrollar LLA infantil, con los modelos genéticos siguientes, el genotipo heterocigoto CT, bajo el modelo codominante

(OR=0.34, 95% CI 0.15–0.72,  $p=0.0025$ ) y el genotipo homocigoto TT, modelo dominante (OR=0.25, 95% CI 0.08–0.77,  $p=0.0088$ ) y los genotipos CT+TT en el modelo codominante (OR=0.32, 95% CI 0.15–0.65,  $p=0.00064$ ). El análisis de regresión logística demostró que el alelo T fue asociado con un efecto protector en el riesgo de LLA infantil (OR=0.47, 95% CI 0.29–0.75,  $p=0.0010$ ).

Sun et al (2015), en una revisión sistemática, encontraron que el SNP rs2239633 en CEBPE, se asocia significativamente con un bajo riesgo de desarrollar LA infantil (A contra G, OR=0.87, 95% CI 0.80–0.94,  $p<0.001$ ). En el análisis estratificado por etnicidad, la asociación fue observada en europeos (A contra G, OR=0.80, 95% CI 0.76–0.84,  $p<0.001$ ) pero no en asiáticos.

Se han reportado resultados contradictorios, los cuales evidencian la no asociación del SNP rs2239633 en CEBPE con el riesgo de LLA. En Yemen, Al-absi et al (2017), no encontraron asociación significativa entre el rs2239633 y la susceptibilidad de LLA. La frecuencia de los genotipos TC, CC, y TC+CC, fue similar en los pacientes con LLA y el grupo control (OR=0.75, 95% CI 0.28–2.06,  $p=0.581$ ). La frecuencia del alelo C no fue asociado significativamente con el riesgo de LLA infantil (OR=1.25, 95% CI 0.84–1.88,  $p=0.274$ ).

En México, Bekker et al (2016), obtuvieron resultados contrarios a los nuestros, ellos no encontraron asociación significativa del rs2239633 en CEBPE con el riesgo de desarrollar LLA. Las frecuencias de los genotipos GA y AA, fue similar en los pacientes con LLA y el grupo control (OR=0.83; 95% CI, 0.6–1.0).

De los SNP's que no tuvieron asociación con LLA, en el presente trabajo de investigación: rs1801133, rs25487, rs7089424, rs10740055 y rs4132601, a la par estos resultados son similares con otros estudios descritos a continuación.

Li et al (2015), en una revisión sistemática que comprendió 51 estudios de casos y controles, no encontró evidencia de asociación significativa entre el SNP C677T (rs1801133) y el riesgo de LLA en niños caucásicos.

En China, Li et al (2014) no encontraron diferencias significativas para las frecuencias de los genotipos 677CC, 677CT y 677TT entre pacientes con LLA menores de 12 años y el grupo control.

Goričar et al (2015), en un estudio que incluyó 121 niños con LLA y 184 controles de origen esloveno, el rs25487 no presentó asociación con susceptibilidad a LLA.

En Polonia, Stanczyk et al (2011), realizaron un estudio de 97 niños con LLA (edad promedio  $5.4 \pm 2.5$ ) y 131 niños sanos (edad promedio  $6.2 \pm 2.8$ ), cuyos hallazgos también sugieren que el SNP Arg399Gln, no está asociado con el riesgo de LLA infantil en la población polaca.

Canalle et al (2011), llevaron a cabo un estudio en población brasileña, conformada por 206 niños con LLA y 364 controles, en el cual no se observaron diferencias significativas entre los grupos analizados con respecto al codón 399 de XRCC.

En México, Meza et al (2009), realizaron un estudio en 120 niños con LLA diagnosticado clínica e histopatológicamente en Guadalajara, Jalisco, y un grupo control compuesto por 120 individuos sanos seleccionados al azar de donantes de sangre, en cuyos resultados no se observaron diferencias significativas en las frecuencias de alelos y genotipos para el SNP Arg399Gln entre pacientes y controles.

Urayama et al (2018), en un estudio que incluyó 527 pacientes con LLA (entre 0.3 y 16.8 años) y 3,882 controles, con una edad promedio de 4.5 años, encontraron que el rs4132601 en IKZF1 no mostró asociación con LLA en población japonesa.

Kreile et al (2016), en la República de Letonia, a través de un estudio integrado por 77 pacientes (entre 1 y 18 años) y 122 controles, no encontraron asociación estadísticamente significativa entre el rs4132601 en IKZF1 y LLA infantil.

Kennedy et al (2015), realizaron un estudio en una población multiétnica (blancos no hispanos, blancos hispanos y negros) residentes en Houston, Texas, que incluyó 161 niños

con LLA y 231 controles, en cuyos resultados no se encontró asociación significativa para rs4132601 en IKZF1 y LLA infantil.

Lin et al (2014), en un estudio realizado en una población china, integrada por 79 niños con LLA y 80 controles, observaron que los SNP's rs4132601 en IKZF1 y rs10740055 y rs7089424 en ARID5B, no tuvieron diferencia significativa entre LLA y controles.

En China, Wang et al (2013) en un estudio conformado de 570 niños con LLA y 673 controles, no encontraron asociación significativa entre el rs4132601 en IKZF1 y LLA.

## VI. CONCLUSIONES

- Los polimorfismos rs1801131 del gen MTHFR y rs2239633 del gen CEBPE están asociados estadísticamente a LLA.
- Los pacientes que son portadores heterocigotos y homocigotos del alelo C del polimorfismo rs1801131 del gen MTHFR tienen 4.94 veces más riesgo de desarrollar Leucemia.
- En nuestra población de estudio, los SNP's rs1801133 del gen MTHFR, rs25487 del gen XRCC1, rs7089424 y rs10740055 del gen ARID5B y rs4132601 del gen IKZF1 no están asociados estadísticamente con LLA.





## VII. BIBLIOGRAFIA

- Al-absi, B., Noor, S. M., Saif-Ali, R., Salem, S. D., Ahmed, R. H., Razif, M. F., & Muniandy, S. (2017). Association of ARID5B gene variants with acute lymphoblastic leukemia in Yemeni children. *Tumor Biology*, 39(4), 1010428317697573.
- Alcasabas, P., Ravindranath, Y., Goyette, G., Haller, A., Del Rosario, L., Lesaca- Medina, M. Y., ... & Everson, R. B. (2008). 5, 10- methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Filipino children. *Pediatric blood & cancer*, 51(2), 178-182.
- Amitay, E. L., & Keinan-Boker, L. (2015). Breastfeeding and childhood leukemia incidence: a meta-analysis and systematic review. *JAMA pediatrics*, 169(6), e151025-e151025.
- Archer, N. P., Perez-Andreu, V., Stoltze, U., Scheurer, M. E., Wilkinson, A. V., Lin, T. N., ... & Rabin, K. R. (2017). Family-based exome-wide association study of childhood acute lymphoblastic leukemia among Hispanics confirms role of ARID5B in susceptibility. *PloS one*, 12(8), e0180488.
- Azevedo, A. P., Silva, S. N., De Lima, J. P., Reichert, A., Lima, F., Júnior, E., & Rueff, J. (2017). DNA repair genes polymorphisms and genetic susceptibility to Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in a Portuguese population: The role of base excision repair genes polymorphisms. *Oncology letters*, 13(6), 4641-4650.
- Bahari, G., Hashemi, M., Naderi, M., & Taheri, M. (2016). IKZF1 gene polymorphisms increased the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in an Iranian population. *Tumor Biology*, 37(7), 9579-9586.
- Batista, J. L., Birmann, B. M., & Epstein, M. M. (2017). Epidemiology of Hematologic Malignancies. In *Pathology and Epidemiology of Cancer* (pp. 543-569). Springer International Publishing.
- Bekker-Méndez, V. C., Núñez-Enríquez, J. C., Escalante, J. L. T., Alvarez-Olmos, E., González-Montalvoc, P. M., Jiménez-Hernández, E., ... & Ortiz-Maganda, M. P. (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.
- Belson M, Kingsley B, Holmes A (2007) Risk factors for acute leukemia in children: a review. *Environ Health Perspect* 115:138– 145.
- Bernard SC, Abdelsamad EH, Johnson PA, Chapman DL, Parvathaneni M (2017) Pediatric Leukemia: Diagnosis to Treatment—A Review. *J Cancer Clin Trials* 2: 131.
- Bhandari, P., Ahmad, F., Mandava, S., & Das, B. R. (2016). Association of Genetic Variants in ARID5B, IKZF1 and CEBPE with Risk of Childhood de novo B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia in India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(8), 3989-3995.

- Bourquin, J. P., Subramanian, A., Langebrake, C., Reinhardt, D., Bernard, O., Ballerini, P., Baruchel, A., Cavé, H., Dastugue, N., Hasle, H., Kaspers, G. L., Lessard, M., Michaux, L., Vyas, P., van Wering, E., Zwaan, C. M., Golub, T. R. and Orkin, S. H. (2006) 'Identification of distinct molecular 238 phenotypes in acute megakaryoblastic leukemia by gene expression profiling', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(9), 3339-44.
- Brisson, G. D., Alves, L. R. and Pombo-de-Oliveira, M. S. (2015) 'Genetic susceptibility in childhood acute leukaemias: a systematic review', *Ecancermedicalscience*, 9, 539.
- Camino, Á. G. (2016). Genetic variants involved in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Susceptibility (Doctoral dissertation, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea).
- Canalle, R., Silveira, V. S., Alberto Scrideli, C., Queiroz, R. G., Fernando Lopes, L., & Gonzaga Tone, L. (2011). Impact of thymidylate synthase promoter and DNA repair gene polymorphisms on susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & lymphoma*, 52(6), 1118-1126.
- Cantarella, C. D., Ragusa, D., Giammanco, M., & Tosi, S. (2017). Folate deficiency as predisposing factor for childhood leukaemia: a review of the literature. *Genes & Nutrition*, 12(1), 14.
- Caratachea, M. A. C. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 20(3), 213-221.
- Chang, L. W., Payton, J. E., Yuan, W., Ley, T. J., Nagarajan, R. and Stormo, G. D. (2008) 'Computational identification of the normal and perturbed genetic networks involved in myeloid differentiation and acute promyelocytic leukemia', *Genome Biol*, 9(2), R38
- Chen, J. X., Shi, Q., Wang, X. W., Guo, S., Dai, W., Li, K., ... & Gao, T. W. (2014). Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) and risk of vitiligo in Han Chinese populations: a genotype–phenotype correlation study. *British Journal of Dermatology*, 170(5), 1092-1099.
- Chi, X. X., Liu, Y. Y., Shi, S. N., Cong, Z., Liang, Y. Q., & Zhang, H. J. (2015). XRCC1 and XPD genetic polymorphisms and susceptibility to age-related cataract: a meta-analysis. *Molecular vision*, 21, 335.
- Clarke RT, Van den Bruel A, Bankhead C, et al (2016). Clinical presentation of childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Disease in Childhood*. 101:894-901.
- Du, L., Liu, Y., Xue, P., Song, C., Shen, J., He, Q., ... & Zhang, Y. (2015). The Arg399Gln polymorphism in the XRCC1 gene is associated with increased risk of hematological malignancies. *Tumor Biology*, 36(6), 4545-4554.
- Echebarria Barona, A. B. (2016). Implicación de los polimorfismos genéticos en la neurotoxicidad por Vincristina en pacientes pediátricos diagnosticados de Leucemia Linfoblástica Aguda.

- Elise G. Elliott, Pauline Trinh, Xiaomei Ma, Brian P. Leaderer, Mary H. Ward, Nicole C. Deziel. (2017). Unconventional oil and gas development and risk of childhood leukemia: Assessing the evidence, *Science of The Total Environment*. 576:138-147. ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.072>.
- Ensembl. 2016. Explorer this variant, RS7089424 SNP. Abril 2016. Disponible en: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Explore?r=10:6199190061992900;t=ogle\\_HGVS\\_names=open;v=rs7089424;vdb=variation;vf=4002748](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=10:6199190061992900;t=ogle_HGVS_names=open;v=rs7089424;vdb=variation;vf=4002748)
- Genescá, E., Ribera, J., & Ribera, J. M. (2015). Leucemia aguda linfoblástica de precursores T: de la biología a la clínica. *Medicina Clínica*, 144(5), 223-229.
- Gervasini G, Vagace JM. (2012). Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front. Genet.* 3, 249
- Gharbi Hanene, Hassine Ben Islem, Soltani Ismail, Safra Ines , Ouerhani Slah, Othmen Haj Hind Bel, Teber Mouheb, Farah Ahlem , Amouri Hassiba, Toumi Houda Nourel, Abdennebi Salima, Abbes Salem & Menif Samia (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
- Giddings, B. M., Whitehead, T. P., Metayer, C., & Miller, M. D. (2016). Childhood leukemia incidence in California: high and rising in the Hispanic population. *Cancer*, 122(18), 2867-2875.
- Gloeckler L, Percy C, Bunin GR. (1999). Introduction. In: *Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975–1995*. Bethesda: Surveillance Epidemiology and End Results. US Department of Health & Human Services. NIH Publication (99–4649). p. 1–16.
- Gómez-Merino, F., Trejo-Téllez, L., y Tiessen, A. (2009). Cap 6. Factores de Transcripción. p 165. En: *Fundamentos y Metodologías Innovadoras para el Mejoramiento Genético de Maíz*, A. Tiessen, ed. Edición 1 versión 1.36 (Bogotá, Colombia: Fundación Ciencia Activa), ISBN: 978- 970-95522-3-2
- Goričar, K., Erčulj, N., Kotnik, B. F., Debeljak, M., Hovnik, T., Jazbec, J., & Dolžan, V. (2015). The association of folate pathway and DNA repair polymorphisms with susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Gene*, 562(2), 203-209.
- Gowda, C., Francis, O. L., Ding, Y., Shiraz, P., Payne, K. J., & Dovat, S. (2015). Pediatric High Risk Leukemia—Molecular Insights. In *Leukemias-Updates and New Insights*. InTech.
- Guo L-M, Xi J-S, Ma Y, et al. (2014) ARID5B gene rs10821936 polymorphism is associated with childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis based on 39,116 subjects. *Tumor Biol* 35:709–713.

- Gutiérrez, O., Lares, I., Galaviz, C., Reyes, E., Almanza, H., Sosa, M., Bailón, C. (2016). Involvement of MTHFR and TPMT genes in susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Mexican. *Drug Metabol*, 31(1), 41-46.
- Gutiérrez-Camino, Á., López-López, E., Martín-Guerrero, I., Sánchez-Toledo, J., De Andoin, N. G., Baneres, A. C., ... & García-Orad, Á. (2013). Intron 3 of the ARID5B gene: a hot spot for acute lymphoblastic leukemia susceptibility. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 139(11), 1879-1886.
- Gutiérrez-Camino, A., Martín-Guerrero, I., & García-Orad, A. (2017). Genetic susceptibility in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Medical Oncology*, 34(10), 179.
- Han S, Lee KM, Park SK, et al. (2010). Genome-wide association study of childhood acute lymphoblastic leukemia in Korea. *Leuk Res.*; 34(10):1271–1274.
- Hosseini Teshnizi S, Taghi Ayatollahi SM (2017). Comparison of cox regression and parametric models: Application for assessment of survival of pediatric cases of acute leukemia in Southern Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 18:981–5.
- Howlander N, Noone AM, Krapcho M, et al (2013). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010*. Bethesda, MD: National Cancer Institute.
- Hsu, L.-I., Chokkalingam, A. P., Briggs, F. B. S., Walsh, K., Crouse, V., Fu, C., Buffler. (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 & Control: CCC*, 26(4), 609–619. <http://doi.org/10.1007/s10552-015-0550-3>
- <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/childALL/Patient/page1> NCI
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1053>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4524>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84159>
- [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?searchType=ad hoc\\_search&type=r s&rs=rs4132601](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?searchType=ad hoc_search&type=r s&rs=rs4132601)
- [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=rs10740055](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=rs10740055)
- <https://www.selfhacked.com/blog/need-know-mthfr-genespolymorphisms->
- <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1801133>
- Hunger, S. P., & Mullighan, C. G. (2015). Acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine*, 373(16), 1541-1552.

- Inaba H, Greaves M and Mullighan CG (2013). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 381:1943–1955.
- Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A., & Ramírez-Bello, J. (2017). Leucemia linfoblástica aguda infantil: una aproximación genómica. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 74(1), 13-26
- Jin, H., Cheng, H., Chen, W., Sheng, X., Brown, M., & Tian, J. (2017). An evidence-based approach to globally assess the covariate-dependent effect of MTHFR SNP rs1801133 on plasma homocysteine: a systematic review and meta-analysis. *bioRxiv*, 204487.
- Kaatsch P (2010). Epidemiology of childhood cancer. *Cancer Treat Rev* 36:277–285.
- Kaluźna, E. M., Strauss, E., Świątek-Kościelna, B., Zając-Spychała, O., Gowin, E., Nowak, J. S., & Januskiewicz-Lewandowska, D. (2017). The methylenetetrahydrofolate reductase 677T-1298C haplotype is a risk factor for acute lymphoblastic leukemia in children. *Medicine*, 96(51).
- Kennedy, A. E., Kamdar, K. Y., Lupo, P. J., Okcu, M. F., Scheurer, M. E., & Dorak, M. T. (2015). Genetic markers in a multi-ethnic sample for childhood acute lymphoblastic leukemia risk. *Leukemia & lymphoma*, 56(1), 169-174.
- 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: AMS*, 12(3), 479.
- Lahoud, M. H., Ristevski, S., Venter, D. J., Jermin, L. S., Bertonecello, I., Zavarsek, S., Hasthorpe, S., Drago, J., de Kretser, D., Hertzog, P. J. and Kola, I. (2001) 'Gene targeting of Desrt, a novel ARID class DNA-binding protein, causes growth retardation and abnormal development of reproductive organs', *Genome Res*, 11(8), 1327-34
- Lautner-Csorba, O., Gézsi, A., Erdélyi, D. J., Hullám, G., Antal, P., Semsei, Á., Kutszegi, N., Kovács, G., Falus, A. and Szalai, C. (2013) 'Roles of genetic polymorphisms in the folate pathway in childhood acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian relevance and effect size analysis', *PLoS One*, 8(8), e69843.
- Leclerc, D., Sibani, S., and Rozen, R., (2004). Molecular Biology of MTHFR and Overview of Mutations/Polymorphisms. *Madam Curie Bioscience Database* [Online] Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6561/> [Accessed 20 May 2015].
- Leite, S. T. A. P., Marques-Guimarães, N., Silva-Oliveira, J. C., Dutra-Souto, F. J., Alves-dos-Santos, R., & Bassi-Branco, C. L. (2013). The X-ray repair cross complementing protein 1 (XRCC1) rs25487 polymorphism and susceptibility to cirrhosis in Brazilian patients with chronic viral hepatitis. *Annals of hepatology*, 12(5), 733-739.
- Li, S. Y., Ye, J. Y., Liang, E. Y., Zhou, L. X. and Yang, M. (2015) 'Association between MTHFR C677T polymorphism and risk of acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis based on 51 casecontrol studies', *Med Sci Monit*, 21, 740-8.

- Li, S., Ren, L., Fan, L., & Wang, G. (2015). IKZF1 rs4132601 polymorphism and acute lymphoblastic leukemia susceptibility: a meta-analysis. *Leukemia & lymphoma*, 56(4), 978-982.
- Li, X., Liao, Q., Zhang, S., & Chen, M. (2014). Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms with the susceptibility of childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL) in Chinese population. *European journal of medical research*, 19(1), 5.
- Lien, S. Y. A., Young, L., Gau, B. S., & Shiao, S. P. K. (2017). Meta-prediction of MTHFR gene polymorphism-mutations, air pollution, and risks of leukemia among world populations. *Oncotarget*, 8(3), 4387.
- Lim, J. Y., Bhatia, S., Robison, L. L. and Yang, J. J. (2014) 'Genomics of racial and ethnic disparities in childhood acute lymphoblastic leukemia', *Cancer*, 120(7), 955-62.
- Lin, C., Song, W., Bi, X., Zhao, J., Huang, Z., Li, Z., & Zhao, H. (2014). Recent advances in the ARID family: focusing on roles in human cancer. *OncoTargets and therapy*, 7, 315.
- 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.
- Lins, M. M., Santos, M. D. O., Albuquerque, M. D. F. P. M., Castro, C. C. L., Mello, M. J. G., & Camargo, B. (2017). Incidence and survival of childhood leukemia in Recife, Brazil: A population- based analysis. *Pediatric blood & cancer*, 64(8).
- Liu, R., Yu, S., Mianwang, H., Zhao, G., Yang, X., Qiao, Feng, J., Fang, X., and Steiner, T.J., (2013). Healthcare utilization for primary headache disorders in China: a population based door to door survey. *Journal of Headache Pain*. 14 (1), pp. 14-47.
- Ma, L., Liu, H., Ruan, L., Yang, X., Yang, H., & Feng, Y. (2015). Multidrug resistance gene 1 C1236T polymorphism and susceptibility to leukemia: A meta-analysis. *Biomedicalreports*, 3(1), 83-87.
- Ma Y, Sui Y, Wang L, Li H (2014) Effect of GSTM1 null genotype on risk of childhood acute leukemia: a metaanalysis. *Tumor Biol* 35:397–402.
- Mckenzie. (2005). *Hematología*. México. Manual moderno. 2ª edición.
- Medina, S. A (2016). Introduction: Childhood Leukemia. In *Etiology of Acute Leukemias in Children* (pp. 1-48). Springer International Publishing Switzerland. DOI 10.1007/978-3-319-05798-9\_1

- Metayer, C., Dahl, G., Wiemels, J., & Miller, M. (2016). Childhood leukemia: a preventable disease. *Pediatrics*, 138(Supplement 1), S45-S55.
- Migliorini, G., Fiege, B., Hosking, F. J., Ma, Y., Kumar, R., Sherborne, A. L., da Silva Filho, M. I., Vijayakrishnan, J., Koehler, R., Thomsen, H., Irving, J. A., Allan, J. M., Lightfoot, T., Roman, E., Kinsey, S. E., Sheridan, E., Thompson, P., Hoffmann, P., Nöthen, M. M., Mühleisen, T. W., Eisele, L., Zimmermann, M., Bartram, C. R., Schrappe, M., Greaves, M., Stanulla, M., Hemminki, K. and Houlston, R. S. (2013) 'Variation at 10p12.2 and 10p14 influences risk of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia and phenotype', *Blood*, 122(19), 3298-307.
- Moulik, N. R., Kumar, A., & Agrawal, S. (2017). Folic acid, one-carbon metabolism & childhood cancer. *Indian Journal of Medical Research*, 146(2), 163.
- Moulik, N. R., Parveen, F., Kumar, A., Awasthi, S., & Agrawal, S. (2014). MTHFR gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia among North Indian children: a case-control study and meta-analysis updated from 2011. *Journal of human genetics*, 59(7), 397.
- Murphy SL, Xu J, Kochanek KD (2013). Deaths: Final Data for 2010. *National Vital Statistics Reports*. 61(4). Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics.
- Norjmaa, B., Tulgaa, K., & Saitoh, T. (2016). Base excision repair pathway and polymorphisms of XRCC1 gene. *Journal of MPE Molecular Pathological Epidemiology*, 1(1).
- Olsson, L., & Johansson, B. (2015). Ikaros and leukaemia. *British journal of haematology*, 169(4), 479-491.
- Orsi, L., Rudant, J., Bonaventure, A., Goujon-Bellec, S., Corda, E., Evans, T. J., Petit, A., Bertrand, Y., Nelken, B., Robert, A., Michel, G., Sirvent, N., Chastagner, P., Ducassou, S., Rialland, X., Hémon, D., Milne, E., Scott, R. J., Baruchel, A. and Clavel, J. (2012) 'Genetic polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: GWAS of the ESCALE study (SFCE)', *Leukemia*, 26(12), 2561-4
- Papaemmanuil E, Hosking FJ, Vijayakrishnan J, et al (2009). Loci on 7p12.2, 10q21.2 and 14q11.2 are associated with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*, 41, 1006-10.
- Paulsson, K., Forestier, E., Lilljebjörn, H., Heldrup, J., Behrendtz, M., Young, B. D. and Johansson, B. (2010) 'Genetic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(50), 21719-24.
- Pei J-S, Hsu C-M, Tsai C-W, Chang W-S, Ji H-X, Hsiao C-L, et al. (2015) The Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes with the Risk of Childhood



- Pérez J. C. & Gómez Almaguer D. (2009). Hematología. La sangre y sus enfermedades. Segunda edición. Ed. Mc Graw Hill. México. Pp. 71- 87.
- Pui, C. H., Carroll, W. L., Meshinchi, S., & Arceci, R. J. (2010). Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *Journal of Clinical Oncology*, 29(5), 551-565.
- Ramírez-Bello, J., & Jiménez-Morales, M. (2017). Implicaciones funcionales de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes codificantes de proteínas y no codificantes en enfermedades multifactoriales. *Gaceta Médica de México*, 153(2), 238-250.
- Reaman, G. H., & Smith, F. O. (2014). *Childhood leukemia*. Springer.
- Rivera- Luna, R., Zapata- Tarres, M., Shalkow- Klincovstein, J., Velasco- Hidalgo, L., Olaya- Vargas, A., Finkelstein- Mizrahi, N., ... & Aguilar- Ortiz, M. R. (2017). The burden of childhood cancer in Mexico: Implications for low- and middle- income countries. *Pediatric blood & cancer*, 64(6), e26366.
- Rudant, J., Orsi, L., Bonaventure, A., Goujon-Bellec, S., Baruchel, A., Petit, A., ... & Saunet, L. (2015). ARID5B, IKZF1 and non-genetic factors in the etiology of childhood acute lymphoblastic leukemia: the ESCALE study. *PloS one*, 10(3), e0121348.
- Sayed S, Barnes I, Cairns BJ, Finlayson A, Ali R (2013) Childhood Cancer Incidence in British Indians & Whites in Leicester, 1996–2008. *PLoS ONE* 8(4): e61881. doi: 10.1371/journal.pone.006188
- Schiffman, J. D. (2016). Applying molecular epidemiology in pediatric leukemia. *Journal of Investigative Medicine*, 64(2), 355-360.
- Schmiegelow K, Vestergaard T, Nielsen SM, Hjalgrim H. (2008). Etiology of common childhood acute lymphoblastic leukemia: the adrenal hypothesis. *Leukemia*; 22(12):2137–41.Epub2008/08/23.doi:10. 1038/leu.2008.212 PMID: 18719616.
- Sherborne, A. L., Hosking, F. J., Prasad, R. B., Kumar, R., Koehler, R., Vijayakrishnan, J., Papaemmanuil, E., Bartram, C. R., Stanulla, M., Schrappe, M., Gast, A., Dobbins, S. E., Ma, Y., Sheridan, E., Taylor, M., Kinsey, S. E., Lightfoot, T., Roman, E., Irving, J. A., Allan, J. M., Moorman, A. V., Harrison, C. J., Tomlinson, I. P., Richards, S., Zimmermann, M., Szalai, C., Semsei, A. F., Erdelyi, D. J., Krajcinovic, M., Sinnett, D., Healy, J., Gonzalez Neira, A., Kawamata, N., Ogawa, S., Koeffler, H. P., Hemminki, K., Greaves, M. and Houlston, R. S. (2010) 'Variation in CDKN2A at 9p21.3 influences childhood acute lymphoblastic leukemia risk', *Nat Genet*, 42(6), 492-4.
- Siegel, R. L., Miller, K. D. and Jemal, A. (2016), *Cancer statistics, 2016*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 66: 7–30. doi:10.3322/caac.21332

- Stanczyk, M., Sliwinski, T., Cuchra, M., Zubowska, M., Bielecka-Kowalska, A., Kowalski, M., ... & Majsterek, I. (2011). The association of polymorphisms in DNA base excision repair genes XRCC1, OGG1 and MUTYH with the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Molecular biology reports*, 38(1), 445-451.
- Sun J, Zheng J, Tang L, Healy J, Sinnett D, Dai Y-e (2015). Association between CEBPE Variant and Childhood Acute Leukemia Risk: Evidence from a Meta-Analysis of 22 Studies. *PLoS ONE* 10(5): e0125657. doi: 10.1371/journal.pone.0125657
- Swerdlov, S., Campo, E. and Harris, N. (2008) 'WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues'.
- Tengstrom, M., Mannermaa, A., Kosma, V. M., Hirvonen, A., & Kataja, V. (2014). XRCC1 rs25487 polymorphism predicts the survival of patients after postoperative radiotherapy and adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Anticancer research*, 34(6), 3031-3037.
- Teshnizi SH, Ayatollahi SM (2015). A comparison of logistic regression model and artificial neural networks in predicting of student's academic failure. *Acta Inform Med.* 23:296–300.
- Tiessen A. (2009). *Fundamentos y Metodologías Innovadoras para el Mejoramiento Genético de Maíz*, Edition: I, Chapter: 6. Factores de transcripción, Publisher: Fundación Ciencia Actva. 153-188
- Tirado Amador, L.R., Madera Anaya, M.V., & González Martínez, F.D. (2016). Interacciones genéticas y epigenéticas relacionadas con fisuras de labio y paladar no sindrómicas. *Avances en Odontostomatología*, 32(1), 21-34. <https://dx.doi.org/10.4321/S0213-12852016000100003>
- Treviño LR, Yang W, French D, et al (2009). Germline genomic variants associated with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*, 41, 1001-5.
- Urayama, K. Y., Chokkalingam, A. P., Manabe, A. and Mizutani, S. (2013) 'Current evidence for an inherited genetic basis of childhood acute lymphoblastic leukemia', *Int J Hematol*, 97(1), 3-19.
- Urayama, K. Y., Takagi, M., Kawaguchi, T., Matsuo, K., Tanaka, Y., Ayukawa, Y., ... Manabe, A. (2018). Regional evaluation of childhood acute lymphoblastic leukemia genetic susceptibility loci among Japanese. *Scientific Reports*, 8, 789. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-19127-7>
- Wang, C., Chen, J., Sun, H., Sun, L., & Liu, Y. (2015). CEBPE polymorphism confers an increased risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 11 case-control studies with 5,639 cases and 10,036 controls. *Annals of hematology*, 94(2), 181-185.

- Wang, F., Zhao, Q., He, H. R., Zhai, Y. J., Lu, J., Hu, H. B., ... & Li, Y. J. (2015). The association between XRCC1 Arg399Gln polymorphism and risk of leukemia in different populations: a meta-analysis of case-control studies. *OncoTargets and therapy*, 8, 3277.
- Wang, L., Yin, F., Xu, X., Hu, X., & Zhao, D. (2012). X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) genetic polymorphisms and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *PloS one*, 7(4), e34897
- 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.
- Xu, H.; Yang, J.J. (2014). ARID5B (AT rich interactive domain 5B (MRF1-like). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 18(3):150-151. On line version: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Genes/ARID5BID51529ch10q21.html>
- Xu, H., Yang, W., Perez-Andreu, V., Devidas, M., Fan, Y., Cheng, C., Pei, D., Scheet, P., Burchard, E. G., Eng, C., Huntsman, S., Torgerson, D. G., Dean, M., Winick, N. J., Martin, P. L., Camitta, B. M., Bowman, W. P., Willman, C. L., Carroll, W. L., Mullighan, C. G., Bhojwani, D., Hunger, S. P., Pui, C. H., Evans, W. E., Relling, M. V., Loh, M. L. and Yang, J. J. (2013) 'Novel Susceptibility Variants at 10p12.31-12.2 for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Ethnically Diverse Populations', *J Natl Cancer Inst*
- Yang L, Hu X, Xu L. (2012). Impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms on methotrexate-induced toxicities in acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Tumour Biol*; 33(5):1445-54. doi: 10.1007/s13277-012-0395-2.
- Yangqiong Pan, Hao Chen, Hong Liang, Xiaowen Wang, Lingling Wang (2014). Meta-analysis of the association between CCAAT/enhancer binding protein-ε polymorphism and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Clin Exp Med*; 7(12):5553-5557
- 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 Pac J Cancer Prev*, 15(15), 6211-7.
- Zhang, B., Zhang, W., Yan, L., & Wang, D. (2017). The association between MTHFR gene C677T polymorphism and ALL risk based on a meta-analysis involving 17,469 subjects. *Clinica Chimica Acta*, 466, 85-92.
- Zhang, X. X., Du, Y. F., Zhai, Y. J., Gao, F., Yang, Y. J., Ma, X. C., & Zheng, J. (2015). A common genetic variation in CEBPE and acute lymphoblastic leukemia: A meta-analysis of the available evidence. *OncoTargets and therapy*, 8, 2443.
- Zintzaras, E., Doxani, C., Rodopoulou, P., Bakalos, G., Ziogas, D. C., Ziakas, P., & Voulgarelis, M. (2012). Variants of the MTHFR gene and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children: a synthesis of genetic association studies. *Cancer epidemiology*, 36(2), 169-176.

## VIII. ANEXOS

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACION EN EL PROYECTO DE INVESTIGACION:

#### **“POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LEUCEMIA EN NIÑOS DEL ESTADO DE CHIAPAS”**

En forma voluntaria, acepto y autorizo que mi hijo participe en este proyecto de investigación, cuyo objetivo es identificar polimorfismos genéticos asociados al desarrollo de Leucemia en niños  $\leq$  de 18 años. Entiendo que su participación consiste en la extracción de una muestra sanguínea, lo cual no conlleva posibles riesgos y/o complicaciones inherentes. El tiempo de duración de su participación, será únicamente el día que le extraigan la muestra. Comprendo que el estudio está diseñado para incrementar los conocimientos médicos y que los resultados de este estudio serán publicados en revistas científicas, conservando la privacidad y confidencialidad, para lo cual, la información no tendrá mi nombre. Asimismo esta información no será utilizada para fines distintos a lo aquí está considerado.

Mi hijo tiene la plena libertad de no participar en esta investigación en cualquier momento, sin que esto le perjudique en la atención médica que viene recibiendo en este Hospital.

Manifiesto que estoy satisfecho (a) con la información recibida del investigador, quien me ha dado la oportunidad de preguntar y resolver las dudas y todas ellas han sido resueltas a satisfacción. Yo he entendido sobre el objetivo de este proyecto, además comprendo y acepto el alcance de la participación de mi hijo que aquí autorizo.

---

(NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE)