

**VARIANTES EN LOS GENES DE LA BIOGÉNESIS DE LOS MICROARNS *DROSHA*, *XPO5*
Y *DICER1* Y EL RIESGO GENÉTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA**

Camila Estefanía Bravo Cidro

Matrícula: 2173063326

División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Dr. Marisol López López (Asesor interno)

Prof. Titular “C” T.C.

Departamento Sistemas Biológicos

División Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón (Asesor externo)

**Investigador en Ciencias Médicas E, Consorcio de Oncogenómica y Enfermedades
Óseas. Instituto Nacional de Medicina Genómica, México**

Fecha: 24/Ene/2024

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Epidemiología.....	3
Evolución clínica.....	3
Diagnóstico	3
<i>Diagnóstico hematológico</i>	3
<i>Diagnóstico citogenético</i>	4
<i>Diagnóstico molecular</i>	4
Tratamiento.....	4
Seguimiento de la enfermedad	5
<i>Respuesta hematológica</i>	5
<i>Respuesta citogenética</i>	5
<i>Respuesta molecular</i>	5
Índices pronósticos	6
<i>Índice Sokal</i>	6
<i>Índice Hasford</i>	7
<i>Escala del estudio europeo de resultados y tratamiento para la LMC (EUTOS, del inglés, European Treatment and Outcome Study)</i>	7
Variabilidad genética en el genoma humano.....	7
• <i>Variantes de un solo nucleótido (SNV, del inglés, single nucleotide variant)</i>	8
• <i>Microsatélites o repetidos cortos en tándem (STR; del inglés, short tandem repeat)</i>	9
• <i>Minisatélites o repetidos de número variable en tándem (VNTR; del inglés, variable number of tandem repeats)</i>	9
• <i>Variantes en el número de copias (CNV; del inglés, copy number variation)</i>	9
<i>Asociación de SNVs con padecimientos humanos</i>	9
MicroARN	10
<i>MicroARN y el desarrollo de diferentes padecimientos</i>	10
ANTECEDENTES.....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	12
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12

METODOLOGÍA	13
Tipo de investigación.....	13
Población de estudio	13
Extracción y purificación del ADN	14
Evaluación de la integridad del ADN por electroforesis en geles de agarosa	14
Genotipificación de las variantes estudiadas por medio de ensayos TaqMan®	16
Análisis estadístico	18
Equilibrio de Hardy-Weinberg	18
Análisis de la asociación para cada una de las variantes analizadas y comparación de las frecuencias alélicas entre poblaciones continentales.....	19
Ensayos <i>in silico</i>	19
RESULTADOS	20
Características de los participantes del estudio	20
Cuantificación de la concentración y evaluación de la integridad de las muestras de ADN	21
Genotipificación de las muestras.....	21
Determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg.....	22
Frecuencias alélicas de las SNVs en la población de estudio general.....	23
Asociación por edad al riesgo de padecer LMC.....	26
Asociación de las variantes analizadas con los índices de riesgo pronóstico Sokal, Hasford y EUTOS	28
Ensayos <i>in silico</i>	28
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS.....	34

RESUMEN

Introducción: La leucemia mieloide crónica es un trastorno caracterizado por la proliferación descontrolada de células inmaduras en la sangre y médula ósea. Fue descubierta en 1840 y se relaciona con un cromosoma anómalo llamado Filadelfia. Tiene tres fases: crónica, acelerada y blástica, y se diagnostica mediante pruebas hematológicas, citogenéticas y moleculares. El tratamiento ha mejorado con inhibidores de tirosina cinasa como el imatinib. La diversidad genética es esencial en biología, y los microARNs son pequeñas moléculas que influyen en la regulación genética y se asocian con varias enfermedades, incluida la leucemia mieloide crónica. **Antecedentes:** Las variantes genéticas en genes relacionados con la biogénesis de los microARNs son clave en diversas enfermedades como las cardiovasculares, el cáncer y las metabólicas. Comprender y detectar estas variantes es fundamental para avanzar en la investigación y el tratamiento de estas condiciones. **Planteamiento y justificación:** Esta investigación busca arrojar luz sobre la relación entre ciertas variantes genéticas en genes de la biosíntesis de microARNs y la susceptibilidad a la leucemia mieloide crónica en la población mexicana, lo que podría tener un impacto significativo en la prevención y el manejo de esta enfermedad hematológica. **Métodos:** Este estudio retrospectivo examinó la relación entre variantes genéticas en genes relacionados con microARNs y la leucemia mieloide crónica en una muestra de la población mexicana. Se analizaron 264 casos de leucemia y 499 personas sanas previo consentimiento informado. El estudio incluyó la extracción de ADN genómico, la genotipificación de variantes, el análisis estadístico y la exploración de asociaciones. Se consideraron diferentes modelos de herencia, género, edad y factores pronósticos. Además, se realizaron análisis *in silico* para evaluar el impacto de las variantes en la unión de microARNs a los genes estudiados. **Resultados:** La variante rs13078 *DICER1* se encontró significativamente asociada con la leucemia mieloide crónica, mientras que las variantes rs10719 y rs11077 no mostraron una asociación significativa. El alelo A y el genotipo AA de rs13078 se vincularon a un mayor riesgo de la enfermedad. En hombres, los modelos genotípicos y recesivos de la variante rs13078 también se asociaron con la leucemia mieloide crónica, aunque no se halló relación con los genotipos homocigotos. Además, los análisis *in silico* sugirieron que diversas secuencias de microARNs podrían unirse tanto a las secuencias originales como a las variantes de los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*, lo que sugiere que estas variantes genéticas podrían influir en la regulación génica mediada por microARNs y contribuir a la susceptibilidad a la leucemia mieloide crónica. **Conclusión:** Las variantes genéticas en genes relacionados con la producción de microARNs tienen un fuerte impacto en la regulación génica y están vinculadas a enfermedades, como la leucemia mieloide crónica. Estos hallazgos proporcionan una comprensión más profunda de la relación entre genética y enfermedades, lo que podría conducir a tratamientos más personalizados en el futuro. La investigación adicional se enfocará en desentrañar los mecanismos precisos por los cuales estas variantes afectan la expresión de microARNs y su influencia en procesos celulares relacionados con la enfermedad.

Palabras clave: leucemia mieloide crónica, variantes, genes, microARNs, *DICER1*, *DROSHA*, *XPO5*.

VARIANTES EN LOS GENES DE LA BIOGÉNESIS DE LOS MICROARNS *DROSHA*, *XPO5* Y *DICER1* Y EL RIESGO GENÉTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un trastorno mieloproliferativo maligno que presenta una proliferación clonal de células inmaduras de la línea mieloide, conocidas como blastos (Jayakumar *et al.*, 2022). La LMC fue descrita por primera vez en 1840 por David Craigie, John Hughes Bennet y Rudolph Virchow como una enfermedad caracterizada por la presencia de hepatoesplenomegalia (i.e. aumento simultáneo del tamaño del hígado y del bazo), fiebre, leucocitosis (i.e. aumento en el número de glóbulos blancos) y una consistencia inusual de la sangre (Sampaio *et al.*, 2021). Más adelante, en 1960, Peter Nowell y David Hungerford, identificaron la presencia de un cromosoma 22 anormalmente pequeño en dos pacientes con LMC (Mojtahedi *et al.*, 2021), el cual fue denominado en honor de la ciudad donde fue descubierto como cromosoma Filadelfia (Leukemia & Lymphoma Society, 2017). Posteriormente, en 1973, Janet Rowley definió al cromosoma Filadelfia como el resultado de una translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22 (Mojtahedi *et al.*, 2021). Más de 10 años después, Heisterkamp *et al.* (1983) y Groffen *et al.* (1984) demostraron que, como resultado de esta translocación, el gen *ABL1* (homólogo humano del oncogén viral de la leucemia murina de Abelson) del cromosoma 9, se fusiona con el gen *BCR* (grupo de punto de ruptura) del cromosoma 22, generando el gen de fusión *BCR-ABL1* (Figura 1). Finalmente, diversos grupos de investigación demostraron que el gen de fusión *BCR-ABL1* codifica para una proteína quimérica del mismo nombre con función exacerbada de tirosina cinasa (Jabbour *et al.*, 2012). A través de su función de tirosina cinasa, la oncoproteína BCR-ABL1 es capaz de activar diversas vías de señalización involucradas en la regulación de la proliferación, diferenciación y muerte celular (Mojtahedi *et al.*, 2021).

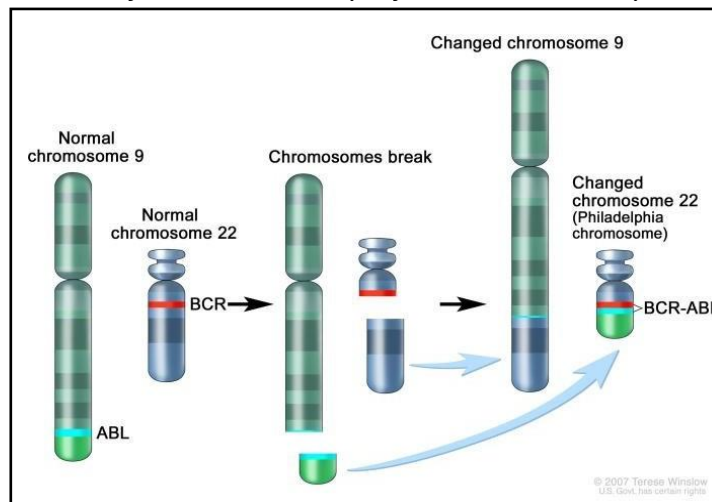


Figura 1. Cromosoma Filadelfia. Tomada de Cromosoma Filadelfia [Imagen], por Diccionario de cáncer del NCI, s.f., Instituto Nacional Del Cáncer. (<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/cromosoma-filadelfia>).

Epidemiología

La LMC es una de las leucemias más comunes en adultos, donde representa del 15 al 20% del total de los casos de leucemia anuales y tiene una incidencia global de 15 casos por cada millón de personas por año (Jayakumar *et al.*, 2022 y Wellington, 2022). En niños, la LMC representa del 2 al 3% de todas las leucemias, con una incidencia de 1 por cada millón de casos (Suttorp *et al.*, 2021). Además, según estimaciones de los registros EUTOS (del inglés, *European Treatment and Outcome Study for Chronic Myeloid Leukemia*) y SIMPLICITY (del inglés, *Studying First Line Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in a Real-world Setting*), la mediana de edad al momento del diagnóstico de LMC es de aproximadamente 57 años en los países desarrollados, mientras que, en los países en vías de desarrollo con poblaciones más jóvenes, la edad media es inferior a 50 años (Hehlmann, 2020).

Evolución clínica

La progresión de la LMC consta de tres fases clínicas: crónica, acelerada y blástica. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) la fase crónica puede durar varios años y se caracteriza por la presencia de un porcentaje menor al 10% de blastos en sangre periférica o en médula ósea (Suttorp *et al.*, 2021). Sin embargo, sin un tratamiento eficaz, la enfermedad puede progresar a las fases acelerada o blástica. Más del 90% de las personas afectadas por la LMC son diagnosticadas en esta fase la cual es usualmente asintomática. En caso de presentarse síntomas, la mayoría de ellos desaparecen una vez iniciado el tratamiento (Cancer.Net, 2018). La fase acelerada presenta un conteo de células blancas mayor a $10 \times 10^9/L$, esplenomegalia y trombocitosis persistentes o en aumento que no responden al tratamiento, así como trombocitopenia persistente (menos de $100 \times 10^9/L$) no relacionada con el tratamiento. Además, se caracteriza por la presencia del 20% de basófilos en sangre periférica y del 10 al 19% de blastos en sangre y/o médula ósea. Citológicamente, esta fase presenta anomalías cromosómicas adicionales en células Filadelfia positivas (Ph+) al momento del diagnóstico; por ejemplo, un segundo cromosoma Ph, trisomía 8, isocromosoma 17q o trisomía 19, cariotipo complejo o anomalías de 3q26.2. Por último, la fase blástica se caracteriza por la presencia de un porcentaje igual o mayor al 20% de blastos en la sangre periférica o en médula ósea y por la presencia de una acumulación extramedular de blastos (con la excepción del bazo y el hígado) (Suttorp *et al.*, 2021).

Diagnóstico

El diagnóstico de esta enfermedad se realiza a través de varias pruebas, incluyendo la anamnesis (interrogatorio clínico para conocer signos y síntomas), el examen físico (haciendo énfasis en el tamaño del bazo) y pruebas de laboratorio (Sampaio *et al.*, 2021). Las pruebas de laboratorio se clasifican en: hematológicas, citogenéticas y moleculares.

Diagnóstico hematológico

Consiste en el análisis y recuento de los componentes de la sangre o médula ósea (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) y se realiza a partir de una muestra de sangre circulante (hemograma) o de médula ósea, con el fin de mostrar leucocitosis desplazada a la izquierda, revelando mielocitos, metamielocitos, basófilos y eosinófilos inmaduros (What is hematology?,

2022). El recuento de plaquetas puede variar, siendo alto o bajo, y también puede presentarse anemia, trombocitopenia y baja incidencia de basofilia, además, de baja actividad fagocítica de los granulocitos (Sampaio *et al.*, 2021).

Diagnóstico citogenético

Se basa en el uso de microscopía óptica para el estudio de la constitución cromosómica de un individuo o cariotipo (Frías *et al.*, 2018). Existen varios métodos empleados para el análisis de un cariotipo y se realizan sobre cromosomas en estado de prometáfase o metafase. En el caso de la LMC, el propósito de un cariotipo es identificar la presencia del cromosoma Filadelfia (Sampaio *et al.*, 2021 y Herráez, 2012). Otra técnica utilizada en el diagnóstico citogenético es la hibridación *in situ* fluorescente (FISH, del inglés, *fluorescence in situ hybridization*). El FISH es un procedimiento de laboratorio que implica la hibridación de sondas marcadas con tintes fluorescentes directamente con una región cromosómica o ARN. Se puede realizar con cromosomas aislados en un portaobjetos o directamente *in situ* en secciones de tejido o en organismos completos (Klug *et al.*, 2018). En el diagnóstico de la LMC se busca principalmente la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22, así como otras anomalías cromosómicas (Sampaio *et al.*, 2021).

Diagnóstico molecular

Dentro del diagnóstico molecular en la LMC se emplea la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés, *polymerase chain reaction*) cualitativa. La PCR se basa en la amplificación exponencial *in vitro* de un fragmento de ADN, mediante ciclos termales repetitivos (Rodríguez *et al.*, 2016). Para el diagnóstico de la LMC se usa una derivación de la PCR conocida como reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR, del inglés *reverse transcription polymerase chain reaction*), la cual se basa en una reacción de conversión del ARN en ADN complementario (ADNc) previa a la PCR cuando se pretende analizar secuencias de ARN. En el caso del diagnóstico en la LMC, esta técnica se emplea para detectar la presencia de transcritos del gen de fusión *BCR-ABL1* a partir de sangre periférica.

Tratamiento

Históricamente, la LMC fue tratada con medicamentos paliativos como el arsénico (solución de Fowler), la vincristina y la prednisona (Hehlmann, 2020), la hidroxiurea, el busulfán y la citaribina, entre otros (Jayakumar *et al.*, 2022). Sin embargo, éstos tienen poca eficiencia y causan diversos efectos adversos. Actualmente, la LMC puede ser tratada con varias moléculas pequeñas con función de inhibidores de la función de tirosina cinasa (TKI, del inglés, *Tyrosine Kinase Inhibitors*), principalmente el imatinib, el cual fue el primer TKI en ser aprobado en 2001 por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés, *Food and Drug Administration*). El uso de este fármaco ha resultado en un incremento en la tasa de supervivencia general después de cinco años de hasta el 88% y una esperanza de vida cercana a la de un individuo sano para la mayoría de los pacientes tratados en fase crónica (82.1% mujeres y 77.3% para los hombres) (Hehlmann, 2020). Sin embargo, en algunas ocasiones la enfermedad puede seguir progresando debido a la presencia de resistencia al tratamiento. En consecuencia, se han introducido TKIs de segunda (Bosutinib, Nilotinib,

Dasatinib), tercera (Ponatinib) y cuarta generación (Asciminib), los cuales presentan una mayor eficiencia frente a la presencia de resistencia (Hehlmann, 2020 y Jayakumar *et al.*, 2022). Debido al éxito de la terapia actual en la LMC, la prevalencia actual de esta enfermedad a nivel mundial es de alrededor de 1 entre 17,000 (INSERM US14, s/f).

Seguimiento de la enfermedad

Una vez establecido el tratamiento es necesario realizar un seguimiento de la enfermedad, por lo que se deben de realizar revisiones cada 3 meses, por lo menos el primer año de tratamiento (ACS, 2021). Para ello se emplean las pruebas anteriormente mencionadas en la sección de diagnóstico, además de incluir la RT-PCR cuantitativa para el seguimiento molecular de la enfermedad. Los diferentes tipos de respuesta al tratamiento se clasifican en tres grandes grupos: respuesta hematológica, citogenética y molecular (ACS, 2021).

Respuesta hematológica

La respuesta hematológica se basa en el conteo completo de células sanguíneas y puede ser completa o parcial. La respuesta hematológica completa ocurre cuando todos los recuentos de células sanguíneas han vuelto a la normalidad, no hay células inmaduras en la sangre, y el bazo regresó a un tamaño normal. Por otro lado, la respuesta hematológica parcial significa que los recuentos sanguíneos han mejorado, pero aún hay signos o síntomas de LMC. De esta forma, el recuento de glóbulos blancos es menor a la mitad de lo que era antes del tratamiento, y el de plaquetas sigue elevado, y aunque el tamaño del bazo se ha reducido, no ha regresado a su tamaño normal (CML life, 2019 & ACS, 2021).

Respuesta citogenética

La evaluación de la respuesta citogenética consiste en la detección del cromosoma Filadelfia, ya sea por cariotipo convencional o FISH y permite un seguimiento más específico de la enfermedad. Las respuestas citogenéticas se clasifican en: completa, parcial, menor, mínima y sin respuesta (CML life, 2019 & ACS, 2021).

En la respuesta citogenética completa, la detección del cromosoma Filadelfia es nula o inferior al 1% del total de las metafases analizadas; mientras que en la respuesta parcial es de entre un 1% y un 35% de las metafases analizadas. En las respuestas citogenéticas menor y mínima, entre un 36% y un 65% de las metafases analizadas son Ph+ para el primer caso y entre un 66% y un 95% para el segundo caso. La ausencia de una respuesta citogenética se describe cuando más del 95% de las metafases son Ph+ (CML life, 2019 & ACS, 2021).

Respuesta molecular

Finalmente, la respuesta molecular utiliza la prueba de PCR para la detección del transcrito *BCR-ABL1* en sangre o médula ósea. Existen varios tipos de respuesta molecular dependiendo de los niveles del transcrito *BCR-ABL1*: respuesta molecular completa, respuesta molecular mayor, respuesta molecular temprana, respuesta molecular profunda 4 y respuesta molecular profunda 4.5 (CML life, 2019 & ACS, 2021).

En la respuesta molecular completa no se detecta el transcrito *BCR-ABL1* en sangre o médula ósea; mientras que en la respuesta molecular mayor la cantidad del transcrito *BCR-ABL1* es 0.1% (o menos) de lo que se espera en una persona con LMC sin tratamiento. En la respuesta molecular temprana hay 10% o menos del transcrito *BCR-ABL1* después de 3 y 6 meses de tratamiento. En el caso de la respuesta molecular 4 el nivel de transcritos de *BCR-ABL1* es de 0.01% o inferior y, en la respuesta molecular 4.5 el nivel de transcritos de *BCR-ABL1* es de 0.0032% o inferior (CML life, 2019 & ACS, 2021).

Índices pronósticos

Los índices pronósticos son una herramienta matemática que permiten la estratificación de la gravedad de los pacientes con LMC Ph+ (Lopina, 2022). Se han establecido distintos tipos de índices para determinar ciertos tipos de respuestas en cada paciente y con cierto tratamiento, éstos se definen a continuación:

Índice Sokal

Este índice predice el comportamiento de la enfermedad al momento del diagnóstico, en función de la información clínica y de laboratorio (Lopina, 2022). Debido a que fue desarrollado previo al uso de los TKIs como tratamiento en la LMC, su uso en la actualidad se encuentra muy limitado. El estudio de derivación original incluyó a 813 pacientes europeos y estadounidenses. Para su cálculo se considera la edad, el tamaño del bazo por debajo del reborde costal medido en centímetros, el número de plaquetas y el porcentaje de blastos. La fórmula empleada para calcularlo es la siguiente (Lopina, 2022):

$$\begin{aligned} & \exp([0.0116 \times (\text{edad en años} - 43.4)]) + [0.0345 \times (\text{tamaño del bazo por debajo} \\ & \text{del reborde costal en cm} - 7.51)] + [0.188 \times ((\text{plaquetas en } 10^9/\text{L} / 700)^2 - 0.563)] \\ & + [0.0887 \times (\text{porcentaje de blastos} - 2.1)] \end{aligned}$$

Para interpretar el resultado se considera que hay 3 tipos de riesgo: bajo, intermedio y alto. Los pacientes con un riesgo bajo (índice Sokal menor a 0.8) tienen una probabilidad de supervivencia a 2 años del 90% y una mediana de supervivencia de 5 años. Los pacientes con un riesgo intermedio (índice Sokal de 0.8 a 1.2) tienen una probabilidad de supervivencia a 2 años del 65% a 90% y una mediana de supervivencia de 2.5 a 5 años. Finalmente, los pacientes con un riesgo alto (índice Sokal mayor a 1.2), solo tienen el 65% de probabilidad de sobrevivir a los 2 años y una mediana de supervivencia de 2.5 años (Tabla 1).

Aunque la puntuación Sokal tiene una utilidad limitada fuera de los ensayos clínicos en la actualidad, en general, los pacientes de riesgo bajo e intermedio pueden comenzar con una dosis estándar de imatinib, y los pacientes de alto riesgo deben ser considerados para TKIs de nueva generación o ser monitoreados más de cerca para asegurar una respuesta molecular completa.

Índice Hasford

El índice Hasford es una puntuación que sirve para pronosticar la supervivencia de pacientes con LMC tratados con interferón alfa (Hasford et al., 1998). El interferón alfa fue utilizado como una terapia alternativa conservadora al trasplante de médula ósea en el tratamiento de pacientes con LMC antes de la implementación de los TKIs en la práctica clínica. La fórmula empleada para calcularlo es la siguiente (Lopina, 2022):

$$0.666 \text{ cuando edad} \geq 50 \text{ años} + (0.042 \times \text{bazo en cm por debajo del margen costal}) \\ + 1.0956 \text{ cuando recuento de plaquetas} > 1500 \times 10^9/\text{L} + (0.0584 \times \text{blastos}) + \\ 0.20399 \text{ cuando basófilos} > 3\% + (0.0413 \times \text{eosinófilos}) \times 100$$

Al igual que en el índice Sokal, el índice Hasford tiene 3 tipos de riesgo; donde el riesgo bajo tiene una puntuación menor o igual a 780, mientras que el riesgo intermedio tiene una puntuación de 781 a 1480 y el riesgo alto tiene una puntuación igual o mayor a 1480 (Tabla 1).

Escala del estudio europeo de resultados y tratamiento para la LMC (EUTOS, del inglés, European Treatment and Outcome Study)

También conocido como índice EUTOS, es una colaboración entre la *European LeukemiaNet* (ELN) y Novartis. Predice la respuesta citogenética completa 18 meses después del inicio de la terapia, lo que es un predictor importante del curso de la enfermedad. Los pacientes que no cumplen este criterio tienen menos probabilidades de lograrla más adelante y tienen un alto riesgo de progresar a las fases acelerada y blástica. Los predictores más fuertes para este tipo de respuesta a los 18 meses son el tamaño del bazo, medido en cm bajo el margen costal, y el porcentaje de basófilos en sangre periférica. Ambos parámetros deben evaluarse al inicio del estudio y se expresan mediante la siguiente fórmula (Lopina, 2020):

$$7 \times \text{Basófilos} + 4 \times \text{Tamaño del bazo}$$

En este índice sólo existen dos grupos de pacientes, aquellos con un riesgo bajo (índice EUTOS menor a 87) en donde la respuesta citogenética completa a 18 meses con imatinib se logra y aquellos con un riesgo alto (índice EUTOS mayor a 87) en donde ésta no se logra (Tabla 1) (*Estudio Europeo de Tratamiento y Resultados*, 2011).

Tabla 1. Interpretación del resultado obtenido al emplear el Índice Sokal, el índice Hasford y el índice EUTOS.

Grupo de riesgo	Índice Sokal	Índice Hasford	Índice EUTOS	Supervivencia de 2 años	Supervivencia mediana (años)
Bajo	<0.8	≤ 780	< 87	90%	5
Intermedio	0.8–1.2	781-1480	-	65-90%	2.5-5
Alto	>1.2	≥1480	> 87	65%	2.5

Variabilidad genética en el genoma humano

El ADN genómico es una entidad extremadamente diversa, no sólo entre individuos de especies diferentes, sino también entre individuos de una misma especie. Esta diversidad es responsable de fenómenos biológicos de tanta trascendencia como la evolución de las

especies y, dentro de cada especie, de la presencia de características diferenciales en cada individuo, únicas e irrepetibles. La diversidad o variabilidad genética se debe a variaciones en la secuencia del genoma; por tanto, en un sentido amplio el concepto de diversidad se hace sinónimo de variante genética (Herráez, 2012).

Actualmente, las variantes genéticas pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- *Variantes de un solo nucleótido (SNV, del inglés, single nucleotide variant)*

Como su nombre lo indica, son variaciones en un solo nucleótido en una secuencia dada, se deben a la sustitución de un nucleótido por otro (Parada *et al.*, 2016). La mayoría de las SNVs son bialélicas y se ha calculado que existe una SNV cada 300 a 1000 pb en el genoma humano, con alrededor de 4 a 5 millones por individuo. Las SNVs se localizan, tanto en regiones génicas como extragénicas y, las que ocurren en genes pueden hallarse en regiones codificantes o no. De la localización de la SNV depende el efecto que tenga en la regulación de los genes o en los productos codificados. Cuando las SNVs ocurren en regiones codificantes pueden afectar la actividad de la proteína al cambiar el residuo de aminoácido. Por otro lado, algunas variantes se localizan en las regiones transcritas de los genes, afectando las funciones del ARN y en conjunto se conocen como SNV estructurales del ARN (Monroy *et al.*, 2019). Los efectos de los distintos tipos de SNVs pueden clasificarse de la siguiente manera:

- *Variantes no sinónimas*

Son variantes que alteran las secuencias proteicas resultantes, dentro de ellas se encuentran las variantes de cambio de sentido, las variantes sin sentido y las variantes que cambian el marco de lectura.

- ✓ *Variantes de cambio de sentido*

Es un tipo de sustitución en la que el cambio de un nucleótido resulta en el reemplazo de un aminoácido por otro en la proteína. El cambio de aminoácidos puede alterar la función de la proteína (*Mutación con cambio de sentido*, s. f.).

- ✓ *Variantes sin sentido*

Es una variante donde el cambio de nucleótido da lugar a un nuevo codón de terminación, lo que puede producir una proteína más corta que probablemente no sea funcional (*Mutación sin sentido*, s. f.).

- ✓ *Variantes que cambian el marco de lectura*

En este tipo de variantes hay una adición o pérdida de un nucleótido que desplaza la secuencia de los codones y cambia el código para todos los aminoácidos siguientes (*MedlinePlus Genetics*, s. f.).

- *Variantes sinónimas*

Son aquellas variantes en la secuencia codificante de un gen que no producen un cambio de aminoácido en la proteína resultante. Estas se producen debido a que el código genético es degenerado y algunos aminoácidos son codificados por diferentes tripletes (Genotipia, 2019).

- *Inserciones/deleciones (indels).*

Comprenden los resultantes de las variaciones producidas por la inserción o la delección de entre 2 y 100 nucleótidos. El número de indels en el genoma es del orden de centenares de miles. Aproximadamente el 50% de las indels son bialélicos (Nussbaum *et al.*, 2016).

- *Microsatélites o repetidos cortos en tándem (STR; del inglés, short tandem repeat)*. Son segmentos de ADN que consisten en repetidos de dos, tres o cuatro nucleótidos, que se repiten desde una vez hasta pocas docenas de veces (e.g CCG repetido de 3 a 30 veces). Un *locus* microsatélite tiene con frecuencia muchos alelos (longitudes de repetición) presentes en la población. Se conocen muchas decenas de miles de *loci* polimórficos microsatélites en el genoma humano (Nussbaum *et al.*, 2016).

- *Minisatélites o repetidos de número variable en tándem (VNTR; del inglés, variable number of tandem repeats)*

Otra clase de variantes proviene de la repetición en tándem de bloques de 10 a 100 pares de bases de longitud que se repiten de 5 a 50 veces. Esa clase de variante tiene muchos alelos, debido a la variación en el número de copias del minisatélite que se repiten en tándem (Nussbaum *et al.*, 2016).

- *Variantes en el número de copias (CNV; del inglés, copy number variation)*

Las últimas variantes en ser descubiertas son las CNVs. Consisten en variaciones en el número de copias de segmentos largos del genoma, que van de 1 Kb a casi 2 megabases. Los CNVs pueden consistir en sólo dos alelos (es decir, la presencia o ausencia de un segmento), o en múltiples alelos, debido a la presencia de 1, 2, 3 ó más copias de un segmento de ADN en tándem. Las CNVs sólo se han logrado identificar y estudiar recientemente empleando microarreglos porque las regiones eliminadas o repetidas suelen ser demasiado pequeñas para poder ser vistas citogenéticamente y demasiado largas para ser detectadas por la secuenciación del ADN (Nussbaum *et al.*, 2016).

Asociación de SNVs con padecimientos humanos

Las SNVs se encuentran asociadas a diferentes padecimientos humanos, por ejemplo Shakra *et al.* (2023) demostraron que la variante rs1030868, ubicada en el gen de la metalopeptidasa 2 de matriz (*MMP-2*) puede predisponer y modular el curso clínico de linfedema. El gen de la metalopeptidasa 2 de la matriz está involucrado en la remodelación de la vasculatura, la angiogénesis, la reparación de tejidos y la inflamación.

En otro estudio, en el cual se empleó el método de asociación del genoma completo (GWAS, del inglés, *Genome-wide association study*) en población del sudeste asiático realizado por Munkongdee *et al.* (2021) se reportó la asociación de las variantes rs766432 (A/C) ubicada en el gen *BCL11A* en el cromosoma 2p16.1, rs9399137 (T/C) ubicada en la región intergénica *HBS1L-MYB* en el cromosoma 6q23.3 y rs72872548 (A/C), ubicada en el gen *HBE1* en el cromosoma 11p15.4 con la severidad del síndrome de hemoglobina E-beta-talasemia. En esta afección, el individuo hereda la β talasemia, enfermedad de los glóbulos rojos en donde sucede una reducción o ausencia de la síntesis de la cadena globina β , junto con la presencia de un tipo anormal de la hemoglobina. Los tres SNVs predictivos identificados en este estudio están ubicados en tres *loci* que se asocian con los niveles de hemoglobina fetal (HbF), que

afectan el mecanismo central subyacente a la fisiopatología de la enfermedad, el grado del exceso de cadenas de globina α y el desequilibrio de la cadena de globina.

Por su parte, Yuan *et al.* (2013) descubrieron que la variante rs10719 T>C en la región 3'-UTR del gen *DROSHA* aumenta el riesgo de cáncer de vejiga. En su análisis se mostró que el genotipo rs10719 TC/CC eleva el riesgo, especialmente en hombres y fumadores, en comparación con el genotipo TT. Además, a través de un ensayo de luciferasa, se encontró que esta variante reduce la actividad de unión de miARN-27a/b lo que aumenta los niveles de proteína *DROSHA*.

Por otro lado, Ahmed *et al.* (2023) realizaron un estudio en cáncer de mama, donde identificaron que la variante rs1042522 (Pro72Arg) en el gen *TP53* está relacionada a esta enfermedad en pacientes de Egipto. En el estudio se llegó a la conclusión de que los portadores del alelo de alto riesgo [Pro/Arg (CG) y Arg/Arg (GG)] de rs1042522 tienen una mayor susceptibilidad de padecer cáncer de mama. Por su parte, Hu *et al.* (2023) a través de una revisión sistemática y un meta-análisis determinaron que la variante rs2228570 en el gen *Fok1* está estrechamente relacionada con el riesgo de cáncer de ovario.

Además, Aoki *et al.* (2023) reportaron la asociación de la SNV rs11726196 (T>C) en el gen *TRPC3* con el dolor crónico. El estudio sugiere que el alelo T de rs11726196 es el alelo de riesgo a sufrir dolor crónico ya que, en las neuronas los portadores del alelo T pueden exhibir una regulación positiva de la expresión de *TRPC3*, y posiblemente también en el ganglio trigémino periférico, lo que aumenta los niveles de calcio intracelular, exacerbando la nocicepción y el dolor crónico.

MicroARN

Los microARNs son ARN pequeños (18-25 nucleótidos) no codificantes que están involucrados en la regulación de la expresión génica a través de su interacción por complementariedad con la región 3'-UTR del transcrito blanco (Nóbrega *et al.*, 2020). La biogénesis de los miARNs comienza con su transcripción por la ARN polimerasa II (ARN POL II) en forma de miARN primarios (pri-miARN), los cuales son procesados a miARN precursores (pre-miARN) por el complejo proteico *DROSHA/DGCR8* (Región crítica 8 del síndrome de DiGeorge). Los pre-miARNs resultantes son exportados al citoplasma por medio de la Exportina-5 (*XPO5*), donde son escindidos a ARNs cortos de doble cadena por el complejo proteico *DICER/TRBP* (proteína de unión a ARN sensible a la activación trans). A continuación, la hebra pasajera es degradada por C3PO (promotor del componente 3 del complejo de silenciamiento inducido por ARN), mientras que la hebra guía es cargada en el complejo RISC (complejo de silenciamiento inducido por ARN) y participa en la represión de la traducción o degradación de los transcritos blanco (Stavast y Erkeland, 2019).

MicroARN y el desarrollo de diferentes padecimientos

Se ha descrito que los microARNs se encuentran desregulados en muchos padecimientos humanos, principalmente cáncer y desórdenes inmunológicos (Stavast y Erkeland, 2019). En el desarrollo del cáncer, se ha identificado que, dependiendo de la naturaleza de los genes

blanco, los microARNs pueden actuar como supresores de tumores, inhibiendo la expresión de oncogenes o como oncogenes, ya que regulan negativamente la expresión de genes supresores de tumores (Lingling, 2022). Un ejemplo de esto se encontró en un estudio realizado por Chen *et al.* (2020) en el cual se encontró a través de QPCR que el miARN-215-5p presenta una menor expresión en tejidos cancerosos en comparación con los tejidos sanos. En un estudio independiente realizado por Wang *et al.* (2017), se reportó que en el cáncer gástrico, el miARN-211 actúa como supresor de tumores inhibiendo la invasión celular y la transición celular epitelial-mesenquimatoso (EMT).

Por otra parte, un estudio reciente reportó que los niveles de expresión de *DROSHA* disminuyeron aproximadamente en un 50% en pacientes con endometriosis en comparación con el grupo de control. En el mismo estudio se identificó que un miARN llamado miARN181b-5p actúa como regulador negativo de *DROSHA* y está relacionado con la endometriosis (Cressoni *et al.*, 2023).

Además, en el estudio realizado por Wang *et al.* (2020), en el cual se empleó la técnica de qPCR, se observó que los individuos portadores de la variante rs11077 TG/GG presentaron una asociación significativamente mayor con la susceptibilidad a la pérdida de audición inducida por ruido en comparación con aquellos que portaban el genotipo TT, en los modelos dominante y recesivo. Estos hallazgos, además, sugieren que el miARN-617 y el miARN-5002-3p podrían ejercer una influencia directa sobre el gen *XPO5*. También, se identificó que la variante rs11077 en el gen *XPO5* podría inhibir la interacción entre este gen y los miARNs cuando se presenta el alelo G, lo que conlleva a una sobreexpresión de *XPO5*.

En cuanto a la participación de los miARNs en la LMC, se encontró que el miARN-320a estaba fuertemente regulado a la baja en las células madre leucémicas en comparación con las células sanas. Además, la disminución del miARN-320a se asoció con un mal pronóstico, por lo que podría predecir de forma independiente la supervivencia general y la supervivencia libre de recaídas en la LMC (Xishan *et al.* 2015).

Otro miARN desregulado en la LMC es el miARN-424, cuya expresión fue notablemente baja en las líneas celulares derivadas de LMC K562 y Meg-01, además que su expresión fue más baja en el 50% de los pacientes con LMC analizados en el momento del diagnóstico, con respecto los donantes sanos analizados. También se encontró en ensayos *in vitro* que el miARN-424 apunta directamente al oncogén *BCR-ABL1* (Hershkovitz-Rokah *et al.* 2015),

ANTECEDENTES

La presencia de variantes en genes que participan en la biosíntesis de los miARNs puede afectar los perfiles de expresión de miARNs y con esto alterar diferentes procesos celulares. En este sentido, las variantes rs10719 (G>A), rs11077 (T>G) y rs13078 (T>A) localizadas en la región 3'-UTR de los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*, respectivamente, se han asociado a la progresión de diversas enfermedades, incluyendo padecimientos cardiovasculares, cáncer y diabetes, entre otras.

Por ejemplo, Borghini *et al.* (2021), encontró que el genotipo homocigoto menor (AA) de la variante rs10719, presente en el 3'-UTR del gen *DROSHA* es capaz de alterar los niveles de expresión del gen y de asociarse significativamente con un mayor riesgo de presentar cardiopatía coronaria. En otro estudio realizado por Lee *et al.* (2020) se identificó la asociación negativa de esta variante con el fallo repetido de implantación embrionaria en mujeres coreanas. Por otro lado, en un estudio realizado por Wen *et al.* (2017) se identificó que el alelo menor del SNV rs11077 produce una menor expresión de *XPO5* y se asocia con un mayor riesgo para desarrollar cáncer de tiroides. Esta variante también ha sido asociada con la susceptibilidad a desarrollar enfermedad renal en etapa terminal (Fawzy *et al.*, 2020), diversas aortopatías (Vecoli *et al.*, 2020), tromboembolismo venoso (Ko *et al.*, 2019) y pérdida auditiva inducida por ruido (Wang *et al.*, 2020). En el caso de la variante rs13078 en el gen *DICER1*, ésta ha sido asociada con diversas enfermedades, como la hipertensión gestacional (Huang *et al.* 2019) y el cáncer de laringe (Wójcikiewicz *et al.* 2015).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La LMC es una enfermedad hemato-oncológica que afecta aproximadamente a 1-2 personas por cada 100,000 habitantes por año, lo que representa un importante problema de salud mundial. Con la finalidad de establecer estrategias de prevención que permitan reducir la prevalencia de esta enfermedad se requiere de la identificación de marcadores de riesgo genético. Los miARNs son importantes reguladores de la expresión génica y son moléculas esenciales en diversos procesos celulares, por lo que la alteración de su función ha sido relacionada con diferentes enfermedades humanas. En este sentido, la presencia de SNVs en algunos de los genes que participan en la biosíntesis de los miARNs y que pueden potencialmente alterar la expresión de los miARNs ha sido asociado con diversos tipos de tumores. Sin embargo, se desconoce la relevancia que tienen las SNVs en genes de la biosíntesis de miARNs, como *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1* en la susceptibilidad para desarrollar LMC.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la asociación de SNVs en los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1* con el riesgo a desarrollar leucemia mieloide crónica en población mexicana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las SNVs rs10719 en *DROSHA*, rs11077 en *XPO5* y rs13078 en *DICER1*, en la población de estudio.
- Comparar la frecuencia presentada por las variantes rs10719, rs11077 y rs13078 en la población de estudio con la reportada en otros grupos poblacionales.
- Evaluar la asociación de las variantes analizadas con el riesgo a desarrollar LMC.
- Analizar la interacción entre las variantes rs10719, rs11077 y rs13078 y su asociación con la enfermedad.
- Identificar mediante ensayos *in silico* los miARNs con capacidad de unirse a la secuencia donde se ubican las SNVs estudiadas.

METODOLOGÍA

Tipo de investigación

Estudio retrospectivo de casos y controles.

Población de estudio

La totalidad de las muestras utilizadas en este estudio forman parte del proyecto de investigación titulado “Análisis de asociación de los componentes genéticos involucrados en la biosíntesis de los miARNs y la leucemia mieloide crónica” el cual fue revisado y aprobado por los comités de ética e investigación del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Ciudad de México. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes individuales incluidos en el estudio. En la Figura 2 se muestra un diagrama que resume la metodología empleada.

Como parte del grupo de controles de este estudio se analizaron 499 personas sanas, 256 hombres y 243 mujeres, con una edad promedio de 49.3 ± 7.3 (rango de edad de 34-96 años). En cuanto a los casos se analizaron 264 personas diagnosticadas previamente con leucemia mieloide crónica, 149 hombres y 115 mujeres. La confirmación del diagnóstico se realizó a través de la detección del cromosoma Ph+ por cariotipo convencional o del transcrito *BCR-ABL1* por RT-PCR. La edad promedio en el grupo de los casos fue de 44.56 ± 15.1 años (rango de edad de 14-92 años).

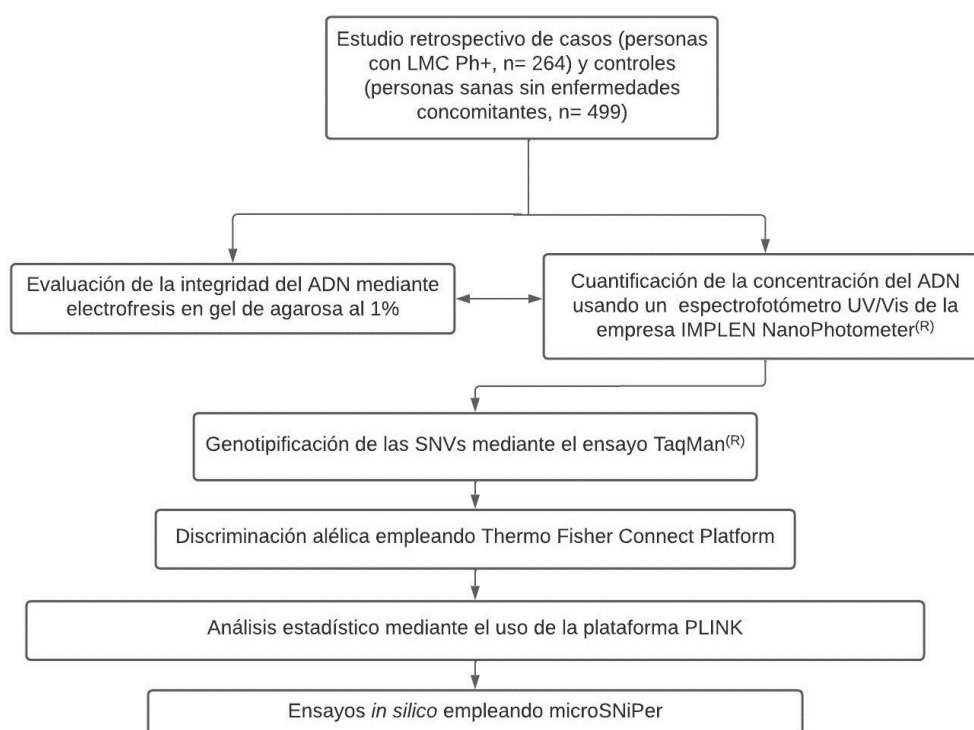


Figura 2. Diagrama de flujo que resume la metodología de esta investigación

Extracción y purificación del ADN

El ADN genómico utilizado en este estudio fue obtenido previamente mediante columnas de sílice. La obtención y purificación de ADN consta de las siguientes etapas (Griffiths *et al.*, 2014):

1. Lisis celular. Ruptura del material biológico como células individuales y tejidos, entre otros para liberar su contenido celular.
2. Extracción. Separación del ADN de otras biomoléculas y restos de componentes celulares (incluye desnaturalización de los complejos de nucleoproteínas e inactivación de las nucleasas).
3. Purificación. Obtención del ADN en forma pura, normalmente por precipitación.
4. Solubilización y evaluación. El producto obtenido se solubiliza y evalúa en cuanto a pureza e integridad.

La extracción y purificación del ADN se llevó a cabo empleando el paquete comercial QIAamp de Qiagen, el cual combina las propiedades de unión selectiva de una membrana basada en sílice con volúmenes de elución flexibles de entre 20 y 100 μ l. Esta tecnología permite la obtención de ADN genómico a partir de pequeñas muestras con la calidad necesaria para ser usado en procedimientos básicos de biología molecular como la PCR (QIAGEN, 2022).

Evaluación de la integridad del ADN por electroforesis en geles de agarosa

La evaluación de la integridad del ADN se llevó a cabo por medio de electroforesis en geles de agarosa. La electroforesis en gel de agarosa es un procedimiento que va a permitir separar, identificar y purificar fragmentos de ADN en función de su tamaño debido a que esta molécula permanece cargada negativamente por los grupos fosfatos presentes en su composición estructural. La agarosa es un polímero derivado de un polisacárido neutro, extraído inicialmente de las algas marinas (Pinilla, 2019). Al evaluar la integridad del ADN empleando electroforesis en gel de agarosa al 1% es necesario visualizar una sola banda, lo cual indica que no hay fragmentación en su estructura (Pinilla, 2019).

El procedimiento en el laboratorio se realizó de la siguiente manera:

A. Preparación del gel

1. Se limpió el área de trabajo con etanol.
2. Se pesó la masa apropiada de agarosa (2.5 g) y se colocó en un matraz Erlenmeyer. En este caso se empleó una solución al 1%.
3. Se añadieron 250 ml de amortiguador TBE (45 mM Tris-borato, 1 mM EDTA) al matraz que contenía la agarosa. Se agitó para mezclar.
4. Se fundió la mezcla de agarosa mediante su calentamiento en un horno de microondas. En intervalos de 30 s, se retiró el matraz y se agitó el contenido para mezclar bien. Se repitió hasta que la agarosa se disolvió completamente.
5. Se dejó que la agarosa se enfriara hasta aproximadamente 37 °C en la mesa de trabajo.
6. Se colocó la bandeja de gel y un peine adecuado en el molde de gel para crear los pocillos.

7. Se vertió la agarosa fundida en el molde de gel. Después se permitió que la agarosa se gelificara a temperatura ambiente para posteriormente retirar el peine y permitir la formación de los pocillos (Figura 3, panel A).

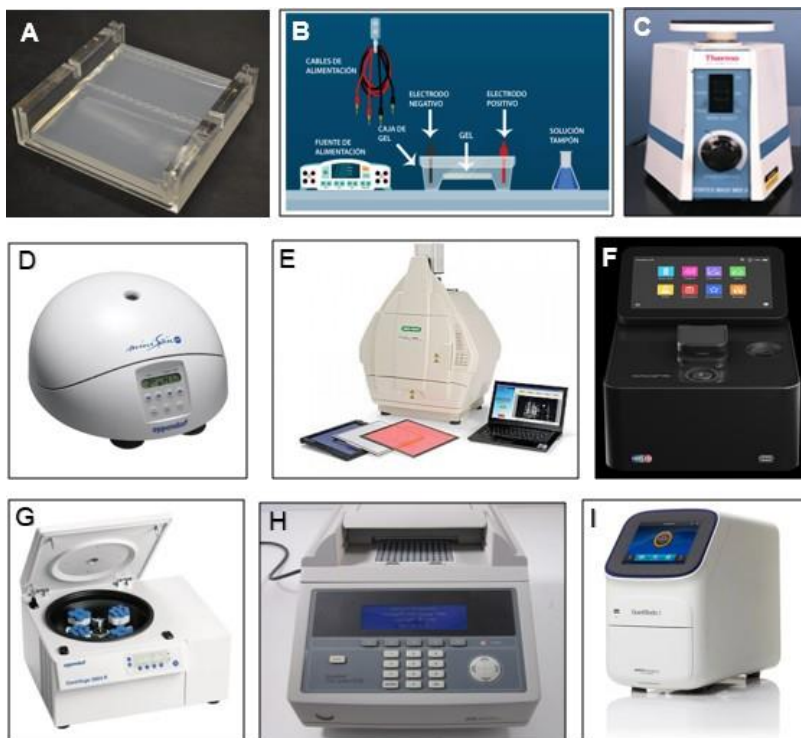


Figura 3. Equipo empleado en la metodología de esta investigación. Panel A: Un gel de agarosa solidificado después de retirar el peine. Panel B: Equipo para realizar electroforesis en gel para el ADN. Panel C: Vortex Maxi Mix II. Panel D: Centrífuga MiniSpin Plus. Panel E: Fotodocumentador ChemiDoc XRS+. Panel F: Nanofotómetro empleado para la cuantificación de la concentración del ADN. Panel G: Centrífuga eppendorf 5804 R. Panel H: Termociclador GeneAmp PCR System 9700. Panel I: QuantStudio 3.

- B. Puesta en marcha de la cámara de electroforesis y la separación de fragmentos de ADN
 1. Se conectó la cámara de electroforesis a la fuente de poder (Figura 3, panel B).
 2. Se añadió TBE (amortiguador de corrimiento) en la cámara de electroforesis de forma que cubriera el gel de agarosa en su totalidad.
 3. Las muestras se agitaron mediante un vortex Maxi Mix II (Figura 3, panel C) y posteriormente se centrifugaron 15 s a 15000 rpm en una centrífuga MiniSpin Plus (Figura 3, panel D).
 4. En cada pocillo se colocaron 5 μ l de red gel, 2 μ l de loading buffer y 2 μ l de muestra.
 5. Se tapó la cámara de electroforesis.
 6. La fuente de poder se activó a 90 Volts por 25 min.
- C. Observación de la separación de los fragmentos de ADN
 1. En este caso se ocupó el fotodocumentador ChemiDoc XRS+ de Bio-Rad el cual está integrado con el software Image Lab 6.1 (Figura 3, panel E).

2. Se escogió la opción de “New Protocol”.
3. Posteriormente se eligió la opción “New Single Channel Protocol”.
4. Se seleccionó la opción de “Nucleic Acid Gels” y luego la de “GelRed”.
5. Se ajustó la posición del gel y se corrió el protocolo.
6. Se esperaba que las muestras de ADN mostraran una sola banda para afirmar que éstas se encontraban íntegras, las muestras que tenían cierto patrón de degradación se consideraron contaminadas o sin integridad.

Cuantificación del material genético por espectrofotometría

Para iniciar el estudio genético de las muestras, éstas fueron cuantificadas a través de espectrofotometría y diluidas a una concentración aproximada de 10 ng/μl. La espectrofotometría se basa en la Ley de Lambert Beer, la cual establece que la absorbancia está relacionada directamente con la concentración de una sustancia, por lo que, mientras más luz absorbe una muestra mayor será la concentración (Ramírez *et al.*, 2016). Para calcular la concentración de una muestra los espectrofotómetros emplean esta ley, la cual se expresa matemáticamente de la siguiente manera:

$A = \epsilon bc$, en donde: A= absorbancia, ϵ = coeficiente de extinción molar, b= longitud de la celda(1 cm), c= concentración. Despejando la fórmula: $c = A/\epsilon b$.

Las moléculas de ADN y ARN presentan su máxima absorción a una longitud de onda de 260 nm (luz ultravioleta) y en el caso del ADN el coeficiente de extinción molar para una celda de 1 cm es de 50 μg/ml. La cuantificación se llevó a cabo con un espectrofotómetro UV/Vis de la empresa IMPLEN NanoPhotometer® (Figura 3, panel F), el cual calcula los valores de concentración automáticamente, y se realizó de la siguiente manera:

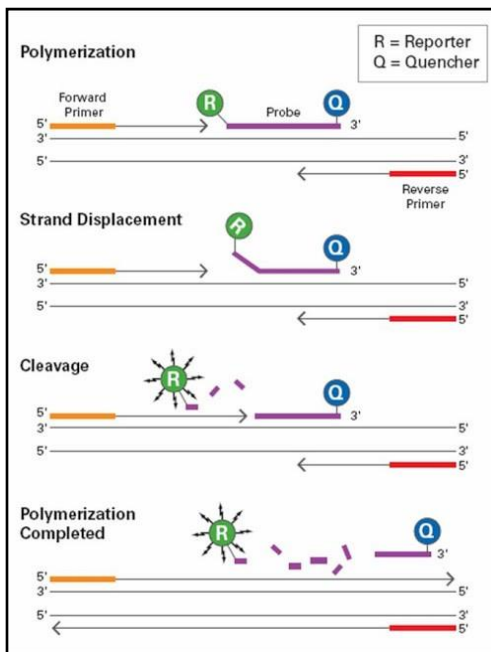
1. Se limpió el área de trabajo con etanol.
2. Se colocó el equipo en un lugar cómodo y se encendió.
3. Las muestras a leer se agitaron empleando un vortex, posteriormente, estas mismas muestras se centrifugaron por 15 s a 15000 rpm.
4. Se colocaron 2 μl de cada una de las muestras en el lente del equipo.
5. En cada una de las lecturas el lente se limpiaba con 2 kimwipes con el fin de evitar lecturas erróneas.
6. Las muestras a una concentración de 8-14 ng/μl se consideraron adecuadas para realizar el siguiente análisis. Las muestras que estaban a una concentración más alta, se diluyeron a una concentración aproximada de 8-14 ng/μl y se volvieron a cuantificar.

Genotipificación de las variantes estudiadas por medio de ensayos TaqMan®

Los ensayos TaqMan® son un método ampliamente utilizado en biología molecular para detectar y cuantificar secuencias específicas de ADN en una muestra. Son una técnica derivada de la PCR en tiempo real que utiliza sondas fluorescentes llamadas sondas TaqMan® (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.).

Las sondas TaqMan® son moléculas cortas de ADN monocatenario que contienen un fluoróforo informador y una molécula extintora en sus extremos. El fluoróforo reportero emite fluorescencia cuando es excitado por una longitud de onda de luz específica, mientras que el extintor suprime la fluorescencia del reportero cuando las dos moléculas están muy cerca (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.).

Durante un ensayo TaqMan®, la sonda se diseña para que sea complementaria a una secuencia de ADN objetivo específica que se desea detectar. La sonda TaqMan® se agrega a la mezcla de reacción de PCR junto con los oligonucleótidos iniciadores y la enzima ADN polimerasa (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.).



A medida que la reacción de PCR avanza a través de los ciclos de amplificación, la ADN polimerasa sintetiza una nueva hebra de ADN extendiendo los oligonucleótidos a lo largo de la secuencia blanco. Cuando la polimerasa llega a la ubicación de la sonda TaqMan®, comienza a degradar la sonda a través de su actividad de exonucleasa de 5' a 3' (Figura 4) (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.).

A medida que se escinde la sonda, el fluoróforo informador y el extintor se separan físicamente, lo que conduce a la liberación de la señal fluorescente, que ahora se puede detectar. El aumento de la fluorescencia es directamente proporcional a la cantidad de ADN o ARN objetivo que se amplifica durante cada ciclo de PCR (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.).

Figura 4. Mecanismo de las sondas Taqman®

En el ensayo TaqMan® de discriminación alélica se diseñan dos sondas, cada una específica para cada alelo esperado en la variante a analizar y acopladas a diferentes fluorocromos como VIC (4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxi-5-carboxifluoresceína) y FAM (6-carboxifluoresceína). El seguimiento en tiempo real de la fluorescencia emitida en cada ciclo de amplificación permite clasificar las muestras desconocidas de la siguiente manera (Applied Biosystems y Thermofisher, s.f.):

- Homocigotos para el alelo silvestre
- Heterocigotos, muestras con un alelo silvestre y un alelo derivado
- Homocigotos para el alelo derivado

Los pasos llevados a cabo en el laboratorio fueron los siguientes:

A. Preparación de la muestra

1. Se limpió con etanol el área de trabajo.
2. Se colocó la PCR Master Mix en hielo; se descongeló la sonda Taqman® y se colocó en hielo (cubierta con aluminio); se descongeló el agua libre de ADNasas y se colocó en una gradilla. Durante este lapso de tiempo se rotularon perfectamente la placa, los tubos para centrífuga de 2 ml y se encendió el termociclador.
3. Se hizo la mezcla de reacción de acuerdo a lo mostrado en la Tabla 2.
4. Una vez generada la mezcla de reacción, ésta se agitó empleando el vortex.
5. Posteriormente se colocaron 5 µl de la mezcla de reacción a cada una de las muestras colocadas previamente en placa de 96 pozos.
6. Se selló la placa con una cubierta óptica.
7. Se colocó la placa en la centrífuga eppendorf 5804 R (Figura 3, panel G) y centrifugó por 2 min a 3000 rpm asegurándose de haber eliminado las burbujas en la mezcla de reacción.
8. Se colocó una cubierta térmica sobre la placa y se introdujo en un termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Figura 3, panel H) siguiendo el programa de termociclado:
 - 50°C por 2 min.
 - 95°C por 10 min.
 - 45 ciclos de 95°C por 15 s y 60°C por 1 min.
 - 4°C∞.
9. Después de termociclar las placas se realizó la lectura de cada una de ellas empleando el QuantStudio 3 y el sitio web Thermo Fisher Connect Platform (Figura 3, panel I).

NOTA: Para validar los resultados del ensayo Taqman®, se seleccionó y repitió aleatoriamente al menos el 10% de los ensayos para cada variante.

Tabla 2. Cantidad de reactivos empleados en el ensayo Taqman®.

Reactivo	Cantidad para una muestra (µl)	Cantidad para 110 muestras (µl)
TaqMan® Genotyping Master Mix	2.5	275
H ₂ O grado biología molecular	2.41	265.1
Sonda Taqman	0.09	9.9

Análisis estadístico

Equilibrio de Hardy-Weinberg

Es un modelo matemático publicado en 1908 por Godfrey Hardy y Wilhelm Weinberg, el cual propone que el proceso de la herencia por sí mismo, no cambia las frecuencias alélicas de un *locus* dado en una población. A esto lo denominaron "población en equilibrio" (Andrews, 2010).

Para que una población se encuentre en equilibrio es necesario cumplir con los siguientes postulados (Andrews, 2010):

1. Los individuos de la población se aparean al azar con respecto al *locus* en cuestión.
2. La selección natural no actúa sobre el *locus* en cuestión.
3. El tamaño de la población es grande, de esta forma se evita la deriva alélica.
4. Ni la mutación, ni la migración, están introduciendo nuevos alelos en la población.

Para calcular el equilibrio de Hardy Weinberg es necesario realizar una prueba de chi cuadrado la cual es un método estadístico de prueba de hipótesis que implica comprobar si las frecuencias observadas de una o más categorías se ajustan a las esperadas (JMP Statistical Discovery LLC, 2022).

Análisis de la asociación para cada una de las variantes analizadas y comparación de las frecuencias alélicas entre poblaciones continentales

El análisis se basó en la asociación de variantes genéticas con la LMC y la comparación de las frecuencias alélicas entre poblaciones continentales. Para evaluar la asociación, se emplearon dos medidas principales: la razón de probabilidades (OR) y el valor de *p*. El OR cuantifica la relación entre una exposición y un resultado, expresando las probabilidades de que el resultado ocurra con o sin la exposición. Se usó el valor de *p* para evaluar si las diferencias observadas en la población de estudio eran significativas o podrían ser debidas al azar. Se consideró que una diferencia era real si el valor de *p* era menor al 5% (0.05), lo que indicaría una confianza razonable para rechazar la hipótesis nula (Szumilas, 2010; Molina, 2017).

Además, se realizó una comparación de las frecuencias alélicas de las variantes en la población de estudio con las registradas en los cinco continentes, utilizando datos del Proyecto 1000 Genomas. Las frecuencias alélicas se refieren a la proporción de cada alelo en una población específica y son esenciales en la investigación de asociación genética, ya que pueden variar según la población y explicar diferencias étnicas (Nava-Cedeño *et al.*, 2022).

En resumen, el procedimiento incluyó la evaluación de las frecuencias de genotipo mediante la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y la comparación de las frecuencias del alelo menos común (MAF) con estudios previos que informaron la distribución geográfica de las variantes estudiadas. También se llevó a cabo un análisis de asociación para determinar si las variantes estaban relacionadas con el riesgo de padecer LMC, utilizando los valores de OR y *p*. Se realizaron pruebas de asociación considerando diferentes modelos de herencia, población general, género y edad, así como los índices pronósticos de Sokal, Hasford y EUTOS. Se estableció un umbral de significación estadística en $p < 0.05$.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando la plataforma PLINK, una herramienta de análisis de datos genómicos de todo el genoma.

Ensayos *in silico*

Considerando que las tres SNVs estudiadas se localizan en la región 3'-UTR de sus genes, se analizó si su presencia modifica la capacidad de unión de alguno de los microARNs que

regulan la expresión de estos genes. Para ello, se realizaron ensayos *in silico* en la página web microSNiPer.

RESULTADOS

Características de los participantes del estudio

Al analizar las características clínico-demográficas, se corroboró que la edad promedio en el grupo de controles fue significativamente mayor con respecto a la observada en el grupo de casos ($p= 5.462e-05$), lo que permite descartar un posible sesgo introducido en el caso de que la edad de los controles fuera menor a la de los casos (Tabla 3).

Adicionalmente, se observó que la diferencia entre hombres y mujeres en los grupos de casos y controles también resultó ser estadísticamente significativa ($p= 7.636e-08$). Este hallazgo podría introducir un sesgo en los resultados, ya que es preferible que los grupos de casos y controles tengan distribuciones similares en cuanto a género (Tabla 3).

En relación al índice pronóstico Sokal, se observó que 46 pacientes presentaron un riesgo alto, lo que quiere decir que tienen una probabilidad de supervivencia del 65% a 2 años y una mediana de supervivencia de 2.5 años. Asimismo, 31 pacientes presentaron un riesgo intermedio, es decir, una probabilidad de supervivencia del 65% a 90% a 2 años y una mediana de supervivencia de 2.5 a 5 años. Otros 31 pacientes presentaron un riesgo bajo, es decir, una probabilidad de supervivencia del 90% a 2 años y una mediana de supervivencia de 5 años. Finalmente, 156 pacientes no tenían un informe del índice Sokal (Tabla 3).

En cuanto al índice Hasford, se encontró que 43 pacientes presentaron un riesgo alto, 33 pacientes presentaron un riesgo intermedio y 32 pacientes presentaron un riesgo bajo. Similarmente, 156 pacientes no tenían un informe del índice Hasford (Tabla 3).

Por último, en relación al índice EUTOS, se identificó que 45 pacientes presentaron un riesgo alto, indicando que no se logró la respuesta citogenética completa empleado imatinib. Por otro lado, 44 pacientes presentaron un riesgo bajo, lo que sugiere que se logró una respuesta citogenética completa a los 18 meses con imatinib. Nuevamente, 175 pacientes no tenían un informe del índice EUTOS (Tabla 3).

Tabla 3. Características clínico-demográficas de controles y casos.

Característica	Controles n= 499	Casos (pacientes con LMC) n= 264	P
Edad (años)	Rango: 34-96 Media: 49.3±7.3 Mediana: 48	Rango: 14-92* Media: 44.56±15.1* Mediana: 44* 63 casos sin edad reportada	5.462e-05
Género (Masculino/ Femenino)	256 (51.30%)/243 (48.70%)	149 (56.44%)/115 (43.56%)	7.636e-08

Índice Sokal			
riesgo alto		46	
riesgo intermedio	--	31	-
riesgo bajo		31	
sin reporte		156	
Índice Hasford			
riesgo alto		43	
riesgo intermedio	--	33	-
riesgo bajo		32	
sin reporte		156	
Índice EUTOS			
riesgo alto		45	
riesgo bajo	--	44	-
sin reporte		175	

Nota: *Edad al momento del diagnóstico

Cuantificación de la concentración y evaluación de la integridad de las muestras de ADN

La cuantificación de las muestras permitió apreciar variaciones menores en su concentración (Figura 5, panel A), mientras que en los resultados de la electroforesis en geles de agarosa se permitió discriminar entre las muestras con un alto grado de integridad, al presentar una única banda en el gel, de aquellas que mostraron un patrón de degradación (Figura 5, panel B).

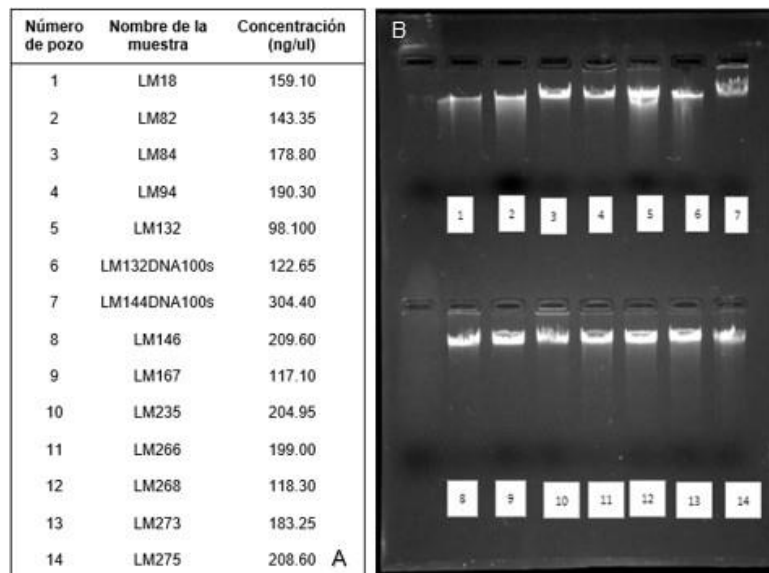


Figura 5. Ejemplo representativo de muestras cuantificadas y evaluadas mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. Panel A: Concentraciones. Panel B: Gel de electroforesis.

Genotipificación de las muestras

A continuación, se presentan las gráficas más representativas de la discriminación alélica obtenidas para cada una de las tres distintas variantes estudiadas. En el caso de la variante rs10719 del gen *DROSHA* la sonda utilizada presentó una baja especificidad por los diferentes

alelos, sin embargo, permitió la correcta discriminación alélica entre los genotipos homocigotos para el alelo ancestral (puntos azules), los heterocigotos (puntos verdes) y los homocigotos para el alelo variantes (puntos rojos) (Figura 6, panel A).

La sonda utilizada para la genotipificación de la variante rs11077 del gen *XPO5* mostró mayor especificidad y por lo tanto una mejor discriminación alélica (Figura 6, Panel B).

Finalmente, en el caso de la variante rs13078 del gen *DICER* la sonda utilizada fue la que mostró mejor capacidad para la discriminación alélica (Figura 6, Panel C).

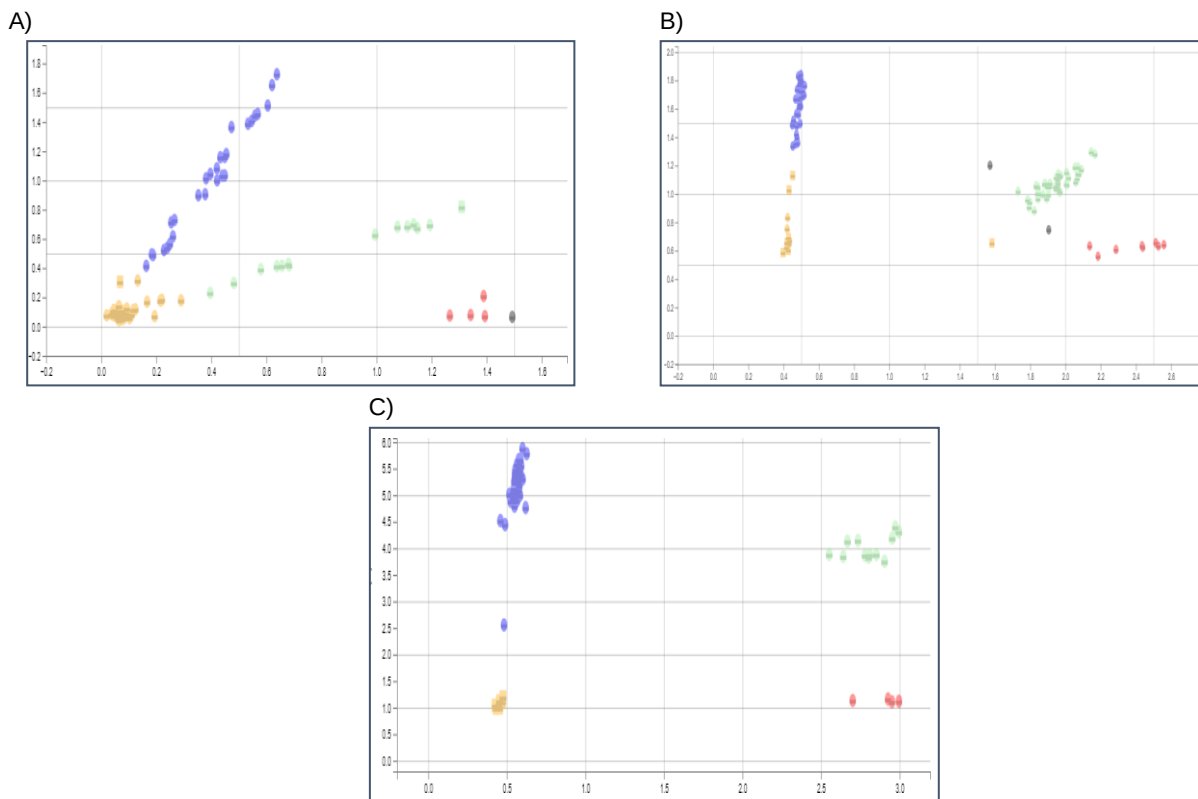


Figura 6. Gráficas representativas de discriminación alélica de las SNVs estudiadas. A) SNV rs10719 en *DROSHA*, B) SNV rs11077 en *XPO5* y C) SNV rs13078 en *DICER*. Los puntos azules representan las muestras homocigotas para el alelo mayor, los puntos verdes representan las muestras heterocigotas y los puntos rojos representan las muestras homocigotas para el alelo menor. Los puntos amarillos indican las muestras que no amplificaron y los puntos grises representan las muestras amplificadas pero cuyo genotipo no se pudo determinar.

Determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg

Al evaluar si las frecuencias genotípicas de cada SNV se encontraban dentro del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), la variante rs13078 mostró una desviación significativa con respecto al EHW ($p = 8.456e-05$ y $p = 7.136e-06$, respectivamente), en el grupo de los pacientes con LMC, pero no en el grupo de los controles. Es importante señalar que cuando se analizaron en conjunto los casos y los controles esta variante siguió mostrando una desviación

significativa del EHW. Las variantes rs10719 y rs11077 no mostraron desviación significativa con respecto del EHW en ninguno de los grupos estudiados (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados del análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg.

CHR	SNV	A2	A1	Población	Genotipos	P
5	rs10719	G	A	General	335/333/95 (GG/GA/AA)	0.378
				Casos	122/116/26 (GG/GA/AA)	0.888
				Controles	213/217/69 (GG/GA/AA)	0.282
6	rs11077	T	G	General	293/362/108 (TT/TG/GG)	0.878
				Casos	95/130/39 (TT/TG/GG)	0.699
				Controles	198/232/69 (TT/TG/GG)	0.924
14	rs13078	T	A	General	677/75/11 (TT/TA/AA)	8.456e-05
				Casos	229/26/9 (TT/TA/AA)	7.136e-06
				Controles	448/49/2 (TT/TA/AA)	0.641

A1: Alelo menor, A2: Alelo mayor, CHR: Cromosoma, P: Valor de significancia estadística

Frecuencias alélicas de las SNVs en la población de estudio general

Se determinaron las frecuencias del alelo menor (MAF) en los controles del estudio, éstas se muestran en la Tabla 5. La SNV rs13078 en *DICER1* mostró la menor MAF (0.05), la variante rs10719 en *DROSHA* presentó una MAF intermedia (0.36), mientras que la variante rs11077 en *XPO5* fue la más frecuente (0.37).

Al comparar las frecuencias de las variantes rs10719, rs11077 y rs13078 en la población de estudio con las reportadas en poblaciones continentales, se encontró que la frecuencia de la variante rs10719 en esta población de estudio es similar a la observada en la población americana (0.36 vs. 0.34, $p=0.59$) y a la de la población asiática del sur (0.36 vs 0.39, $p=0.26$). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la frecuencia de esta variante entre la población de estudio y la población africana (0.36 vs. 0.66, $p=10e-6$), la asiática oriental (0.36 vs. 0.69, $p=10e-6$) y la europea (0.36 vs. 0.24, $p=10e-6$) (Tabla 5).

En cuanto a la variante rs11077, se encontró solo una similitud en las frecuencias alélicas entre la población de este estudio y la población asiática del sur (0.37 vs. 0.39, $p=0.75$). Sin

embargo, se observaron diferencias significativas en las frecuencias alélicas entre la población de este estudio y la población africana (0.37 vs. 0.64, $p= 10e-6$), la población asiática oriental (0.37 vs. 0.06, $p= 10e-6$), la población americana (0.37 vs. 0.44, $p= 0.005$), así como la población europea (0.37 vs. 0.43, $p= 0.007$) (Tabla 5).

Por último, en el caso de la variante rs13078, la población de este estudio presenta frecuencias alélicas similares a la población africana (0.05 vs. 0.07, $p= 0.14$), la población asiática oriental (0.05 vs. 0.04, $p= 0.38$) y la población asiática del sur (0.05 y 0.06, respectivamente, $p= 1$). Por el contrario, la población de este estudio y la americana (0.05 vs. 0.12, $p= 10e-6$), así como la europea (0.05 vs. 0.18, $p= 10e-6$), tienen frecuencias alélicas diferentes (Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencia menor para cada SNV en diferentes poblaciones.

Población	rs10719	rs11077	rs13078
Africana	0.66 (A)	0.64 (G)	0.07 (A)
Americana	0.34 (A)	0.44 (G)	0.12 (A)
Asiática oriental	0.69 (A)	0.06 (G)	0.04 (A)
Asiática del sur	0.39 (A)	0.39 (G)	0.06 (A)
Europea	0.24 (A)	0.43 (G)	0.18 (A)
Población en este estudio	0.36 (A)	0.37 (G)	0.05 (A)

Análisis de frecuencias alélicas en casos y controles: investigación de SNVs asociadas al riesgo de leucemia mieloide crónica y su relación con modelos de herencia

Para evaluar la asociación del riesgo a sufrir LMC se determinó la razón de posibilidades (OR) y el valor de p . En este caso, la variante rs13078 en el gen *DICER1* mostró una asociación significativa con la presencia de la LMC (OR= 1.62, $p= 0.02$) (Tabla 6). Mientras que la variante rs10719 (OR= 0.85, $p= 0.14$) y la variante rs11077 (OR= 1.10, $p= 0.37$) no presentaron asociación significativa (Tabla 6).

Al realizar una asociación con los modelos genotípicos, alélicos, dominante y recesivo se encontró que la variante rs13078 en el gen *DICER1* se asocia con la presencia de LMC en el modelo genotípico ($p= 0.01$), en el modelo alélico ($p= 0.02$) y en el modelo recesivo ($p= 0.002$) (Tabla 6) indicando que el alelo A y el genotipo AA están relacionados a la aparición de la enfermedad. Sin embargo las otras variantes, es decir, *DROSHA* rs10719 y *XPO5* rs11077 no presentaron asociación significativa con la LMC en ningún modelo (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados del análisis de asociación.

SNV	Análisis	Frecuencia en pacientes	Frecuencia en controles	MAF en pacientes	MAF en controles	OR	P
rs10719	Genotípico (GG vs. GA vs. AA)	122/116/26	213/217/69	0.32	0.36	0.85	0.27
	Alélico (G vs. A)	360/168	643/355				0.14
	Dominante (GG vs. GA+AA)	122/142	213/286				0.37
	Recesivo (GA+GG vs. AA)	238/26	430/69				0.134
rs11077	Genotípico (TT vs. TG vs. GG)	95/130/39	198/232/69	0.39	0.37	1.10	0.61
	Alélico (T vs. G)	320/208	628/370				0.37
	Dominante (TT vs. GG+TG)	95/169	198/301				0.35
	Recesivo (TT+TG vs. GG)	225/39	430/69				0.74
rs13078	Genotípico (TT vs. TA vs. AA)	229/26/9	448/49/2	0.08	0.05	1.62	0.01
	Alélico (T vs. A)	484/44	945/53				0.02
	Dominante (TT vs. TA+AA)	229/35	448/51				0.23
	Recesivo (TT+TA vs. AA)	255/9	497/2				0.002

Además, se realizó un análisis de asociación por modelos de herencia estratificando por sexo. En el caso de los hombres se encontró asociación de la SNV rs13078 con LMC tanto en el modelo genotípico ($p= 0.02$) como en el modelo recesivo ($p= 0.01$) (Tabla 7). En el caso de las mujeres, ningún modelo de herencia presentó asociación significativa al riesgo de presentar LMC (Tabla 7).

Tabla 7. Resultados de la asociación por modelos de herencia estratificados por género.

SNV	Análisis	Hombres			Mujeres		
		F_P	F_C	p	F_P	F_C	p
rs10719	Genotípico	70/66/13	109/112/35	0.31	52/50/13	104/105/34	0.78
	Alélico	206/92	330/182	0.19	154/76	313/173	0.56
	Dominante	70/79	109/147	0.41	52/63	104/139	0.73
	Recesivo	136/13	221/35	0.15	102/13	209/34	0.62
rs11077	Genotípico	57/68/24	104/118/34	0.71	38/62/15	94/114/35	0.48
	Alélico	182/116	326/186	0.50	138/92	302/184	0.62
	Dominante	57/92	104/152	0.67	38/77	94/149	0.35
	Recesivo	125/24	222 /34	0.46	100/15	208/35	0.87
rs13078	Genotípico	128/16/5	227/29/0	0.02	101/10/4	221/20/2	0.20
	Alélico	272/26	483/29	0.11	212/18	462/24	0.13
	Dominante	128/21	227/29	0.44	101/14	221/22	0.35
	Recesivo	144/5	256/0	0.01	111/4	241/2	0.09

F_P: número de casos con un genotipo o alelo dado, F_C: número de controles con un genotipo o alelo dado.

Asociación por edad al riesgo de padecer LMC

Con el fin de conocer si la presencia de algunas de las SNVs estudias modifica la edad en la que se diagnóstica la LMC, se realizó un análisis de asociación por edad solo en pacientes con LMC, en el caso de la rs10719 se obtuvo un índice beta de -1.52 con un valor de p de 0.35, para la variante rs11077 se encontró un valor de beta de -2.26 con un valor de p de 0.14, finalmente, para la variante rs13078 se encontró un valor de beta de 2.31 con un valor de p de 0.34, lo cual significa que no se encontró una asociación estadísticamente significativa (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados del análisis de asociación por edad en casos.

SNV	BETA	P
rs10719	-1.52	0.35
rs11077	-2.26	0.14
rs13078	2.31	0.34

Complementariamente, se realizó un análisis de medias de la edad al momento del diagnóstico de la LMC y se determinó la frecuencia genotípica en las personas con LMC. Aquí el genotipo AA de la variante rs10719 en el gen *DROSHA* presentó la menor frecuencia (0.09) y se presenta en personas con una edad media de 45.74 años al momento del diagnóstico, el genotipo AG tiene una frecuencia intermedia (0.44) y se presenta en personas con una edad media de 42.62 años al momento del diagnóstico, mientras que el genotipo GG tiene una mayor frecuencia y se presenta en personas con edad media de 46.19 años al momento del diagnóstico (Tabla 9).

En lo que respecta a la variante rs11077 ubicada en el gen *XPO5* el genotipo GG tiene la menor frecuencia (0.16) presentándose en personas con una edad promedio de 42.24 años al momento del diagnóstico, el genotipo TT tiene una frecuencia intermedia (0.36) presentándose en personas con una edad promedio de 46.55 años al momento del diagnóstico, mientras que el genotipo GT tiene la mayor frecuencia (0.47) y se presenta en personas con edad promedio de 43.85 años al momento del diagnóstico.

Por último, el genotipo AA de la variante rs13078 en el gen *DICER1* tiene la menor frecuencia (0.03) presentándose en personas con edad media de 51.17 años al momento del diagnóstico, el genotipo AT tiene una frecuencia intermedia (0.10) presentándose en personas de 45.14 años al momento del diagnóstico, y el genotipo TT tiene la mayor frecuencia (0.88) y se observa más en personas con edad media de 44.27 años al momento del diagnóstico (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados del análisis de medias en casos.

SNV	Valor			
rs10719	Genotipo	AA	AG	GG
	Frecuencia	0.09	0.44	0.46
	Media	45.74	42.62	46.19
rs11077	Genotipo	GG	GT	TT
	Frecuencia	0.16	0.47	0.36
	Media	42.24	43.85	46.55

	Genotipo	AA	AT	TT
rs13078	Frecuencia	0.03	0.10	0.87
	Media	51.17	45.14	44.27

Asociación de las variantes analizadas con los índices de riesgo pronóstico Sokal, Hasford y EUTOS

Los índices de Sokal, Hasford y EUTOS permiten estratificar por gravedad (bajo, intermedio y alto) a los pacientes con LMC Ph+. Por lo que se evaluó si la presencia de las SNVs estudiadas estaba asociada a estos índices, sin embargo, en ningún índice se mostró alguna asociación significativa (Tablas 10-12).

Tabla 10. Evaluación de la asociación por índice Sokal (riesgo bajo contra riesgo medio y alto).

SNV	Frecuencia en pacientes	Frecuencia en controles	P	OR
rs10719	0.36	0.26	0.16	1.60
rs11077	0.39	0.42	0.69	0.88
rs13078	0.08	0.06	0.73	1.23

Tabla 11. Evaluación de la asociación por índice Hasford (riesgo bajo contra medio y alto).

SNV	Frecuencia en pacientes	Frecuencia en controles	P	OR
rs10719	0.34	0.27	0.27	1.44
rs11077	0.37	0.50	0.07	0.58
rs13078	0.07	0.08	0.88	0.92

Tabla 12. Evaluación de la asociación por índice EUTOS (riesgo bajo contra medio y alto).

SNV	Frecuencia en pacientes	Frecuencia en controles	P	OR
rs10719	0.29	0.35	0.36	0.75
rs11077	0.43	0.42	0.86	1.05
rs13078	0.06	0.09	0.36	0.59

Ensayos *in silico*

Las tres SNVs estudiadas en este trabajo se localizan en la región 3'-UTR de los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*. La presencia de este tipo de SNVs puede influir en la unión de microARNs a los transcritos y por lo tanto afectar la regulación del gen. Mediante ensayos *in silico* utilizando microSNIper, se determinó que varios microARNs tienen la capacidad de unirse a la secuencia original de los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*. Sin embargo, al

estudiar ciertas variantes, se ha observado que estas interrumpen la unión de dichos microARNs a la secuencia original de estos genes. Por otro lado, se identificaron microARNs específicos que solo se unen a la secuencia genética cuando la variante está presente. Estos hallazgos se detallan en la Tabla 13, donde se muestra que los microARNs 181d, 181b-5p, 205-5p, 382-3p, 1298, 664a-3p, 616-3p y 6500-3p se unen al alelo A de la variante rs10719 en *DROSHA*, sin embargo, cuando se encuentra presente el alelo G de esta variante, estos pierden su unión a la secuencia, y los microARNs 27b y 6500-3p, se unen a este alelo. Además, en el caso de la variante rs11077 ubicada en *XPO5* los miARNs 617, 6512-3p, 499a-5p, 548u, 641 y 6505-3p se unen al alelo T, y pierden su unión cuando se encuentra presente el alelo G, en donde se unen los microARNs 548u, 1288, 324-3p, 1276, 5002-3p, 18a-3p, 4641 y 4463. En el caso de la variante *DICER1* rs13078, solo el miARN-34c-3p se une cuando está presente el alelo A (Tabla 13).

Tabla 13. MicroARNs que se unen a las SNVs rs10719, rs11077 y rs13078 de los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1* según los ensayos *in silico*.

Gen al que se unen	Nombre	Secuencia	Lugar de unión
<i>DROSHA</i> rs10719	miARN-181d	aacauucauuguugucggugggu	Alelo A
	miARN-181b-5p	aacauucauugcugucggugggu	Alelo A
	miARN-205-5p	uccuucuuuccaccggagucug	Alelo A
	miARN-382-3p	aaucuuacacggacaacacuu	Alelo A
	miARN-1298	uucauucggcuguccagagua	Alelo A
	miARN-664a-3p	uauucauuuauccccagccuaca	Alelo A
	miARN-616-3p	agucuuuggaggguuugagcag	Alelo A
	miARN-6500-3p	acacuuguugggaugaccugc	Alelo A
	miARN-27b	agagcuuagcugauuggugaac	Alelo G
	miARN-6500-3p	acacuuguugggaugaccugc	Alelo G
<i>XPO5</i> (rs11077)	miARN-617	agacuucccauuugaagguggc	Alelo T
	miARN-6512-3p	uuccagcccuucuaaugguagg	Alelo T
	miARN-499a-5p	uuagacuugcagugauguuu	Alelo T
	miARN-548u	caaagacugcauuacuuuugcg	Alelo T
	miARN-641	aaagacauaggauagagucaccuc	Alelo T
	miARN-6505-3p	ugacuucuaccucuuccaaag	Alelo T
	miARN-548u	caaagacugcauuacuuuugcg	Alelo G

	miARN-1288	uggacugcccugaucuggaga	Alelo G
	miARN-324-3p	acugccccaggugcugcugg	Alelo G
	miARN-1276	uaaagagcccuguggagaca	Alelo G
	miARN-5002-3p	ugacugccucacugaccacuu	Alelo G
	miARN-18a-3p	acugcccuaagugcuccuucugg	Alelo G
	miARN-4641	ugcccaugccauacuuuugccuca	Alelo G
	miARN-4463	gagacuggggugggggcc	Alelo G
<i>DICER1</i> (rs13078)	miARN-34c-3p	aaucacuaaccacacggccagg	Alelo A

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La LMC es un trastorno hemato-oncológico caracterizado por la proliferación descontrolada de células mieloides inmaduras. En este contexto, los miARNs, pequeñas moléculas de ARN, desempeñan un papel esencial al modular la expresión génica. Investigaciones anteriores han iluminado el papel crucial de los miARNs en la regulación génica y su impacto en enfermedades, incluyendo la LMC. Las variantes genéticas en genes cruciales para la biogénesis de miARNs, como *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*, están surgiendo como elementos clave que podrían alterar la regulación génica, contribuyendo así a la patogénesis de enfermedades.

En este estudio, se investigó la frecuencia de las variantes rs10719, rs11077 y rs13078, ubicadas en los genes *DROSHA*, *XPO5* y *DICER1*, respectivamente. Posteriormente, se evaluó su posible asociación con la LMC en una población mexicana.

En primer lugar, se observó que la variante rs13078 en *DICER1* mostró la menor frecuencia en la población estudiada, mientras que la variante rs10719 en *DROSHA* presentó una frecuencia intermedia. Por último, la variante rs11077 en *XPO5* fue la más frecuente. Los datos obtenidos en este estudio coinciden con las frecuencias reportadas para estas variantes en el grupo de mexicanos de Los Ángeles en el Proyecto de los 1000 Genomas. La frecuencia de la variante alélica puede variar significativamente según la población analizada. Por ejemplo, para la variante rs10719 en *DROSHA*, el alelo mayor es el A en las poblaciones africanas y asiáticas orientales, mientras que en las poblaciones americanas, europeas y asiáticas del sur, el alelo mayor es el G. Respecto a la variante rs11077 en *XPO5*, el alelo mayor es el G en la población africana, pero en el resto de las poblaciones es el T. Por último, en el caso de la variante rs13078 en *DICER1*, el alelo mayor es el T en todas las poblaciones analizadas.

Al comparar las frecuencias de las variantes rs10719, rs11077 y rs13078 en la población estudiada con las reportadas en otras poblaciones continentales, se observaron similitudes y diferencias notables. La frecuencia de la variante rs10719 en esta población fue similar a la

de la población americana y asiática del sur, pero difirió significativamente de la población africana, asiática oriental y europea. Respecto a la variante rs11077, solo se encontró similitud con la población asiática del sur, pero se encontraron diferencias significativas con la población americana, europea, africana y asiática oriental. En cuanto a la variante rs13078, la población estudiada mostró frecuencias alélicas similares a la población africana, asiática oriental y asiática del sur, pero diferentes a las poblaciones americana y europea. Las divergencias en la frecuencia alélica de una variante génica entre distintas poblaciones pueden explicar diferencias étnicas y fenotípicas, como rasgos físicos o susceptibilidad a enfermedades. Las comparaciones de frecuencias alélicas entre poblaciones brindan una visión de la diversidad genética y posibles asociaciones con enfermedades.

En el estudio de asociación, la variante rs13078 en *DICER1* fue la única de las tres variantes analizadas que mostró asociación con el riesgo de presentar LMC. Aunque la variante rs10719 en *DROSHA* no mostró asociación con la LMC en este estudio específico, investigaciones previas la han vinculado con otras enfermedades. Por ejemplo, estudios anteriores la han asociado con la enfermedad renal en etapa terminal (Fawzy *et al.*, 2020). Por otro lado, se ha observado que los genotipos heterocigotos AG y homocigotos GG de esta variante se han relacionado con un mayor riesgo padecer preeclampsia, además de que el genotipo combinado GG-GG y el haplotipo G-G de las variantes rs10719 y rs6877842 de *DROSHA* podrían aumentar la susceptibilidad a la preeclampsia (Rezaei *et al.*, 2017). También se ha establecido que el genotipo homocigoto menor de esta variante está significativamente asociado con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardíacas coronarias, tanto en modelos codominantes como recesivos (Borghini *et al.*, 2021). En relación con el cáncer, se ha encontrado que esta variante está vinculada al cáncer de vejiga, especialmente en hombres fumadores, ya que los genotipos AG/GG aumentan el riesgo en comparación con el genotipo AA (Lin *et al.*, 2013). También se ha observado una asociación con el cáncer gástrico, donde los individuos con el genotipo AG/GG tienen menos probabilidades de desarrollar metástasis en los ganglios linfáticos en comparación con aquellos con el genotipo AA, que tienden a estar en un estadio más avanzado de la enfermedad (Li *et al.*, 2017). Además, en una población china, se encontró que el genotipo AG/GG puede aumentar el riesgo de cáncer de vejiga entre pacientes varones y fumadores, en comparación con el genotipo AA (Lin *et al.*, 2013). También se ha señalado una asociación con el cáncer colorrectal en una población coreana, especialmente en pacientes diagnosticados con hipertensión o diabetes mellitus y portadores del genotipo GG, quienes presentaron un mayor riesgo de cáncer colorrectal (Cho *et al.*, 2015). Se puede observar que el alelo de riesgo en algunas enfermedades, puede ser un alelo de protección en otras, o no estar asociado con el riesgo, esto puede deberse al tamaño de la muestra analizado en cada estudio, a factores ambientales, interacciones genéticas complejas, diversidad genética y selección natural, entre otras razones. Sin embargo, no se han encontrado artículos previos que vinculen esta variante con la LMC. Es probable que esta variante ejerza su efecto alterando la expresión de *DROSHA*, lo que podría impactar la biogénesis de los miARNs, lo que a su vez podría afectar múltiples procesos celulares.

En cuanto a la variante rs11077 en *XPO5*, tampoco se observó una asociación con la LMC en este estudio, sin embargo, en investigaciones anteriores se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer cáncer de tiroides ya que el alelo menor (G) produce una menor expresión de *XPO5* (Wen *et al.*, 2017). De manera similar, se identificó que los portadores homocigotos y heterocigotos del alelo G tenían menor probabilidad de desarrollar enfermedad renal en etapa terminal en comparación con los portadores del alelo T (Fawzy *et al.*, 2020). Además, Vecoli *et al.* (2020) identificó una asociación significativa entre esta variante y el riesgo de desarrollo de válvula aórtica bicúspide y válvulas asociadas a aortopatía en modelos aditivos y dominantes. Específicamente, en el modelo dominante, el riesgo de válvula aórtica bicúspide y válvulas asociadas a aortopatía disminuyó en un 38% en los pacientes portadores del alelo G en comparación con los pacientes homocigotos TT. También, se sabe que los portadores de rs11077 TG/GG tuvieron una asociación significativamente mayor con la susceptibilidad a la aparición de pérdida auditiva inducida por ruido que los portadores de TT en los modelos dominante y recesivo (Wang *et al.*, 2020). Finalmente, se ha descrito que la variante *XPO5* rs11077 T>G se asoció con un mayor riesgo de tromboembolismo venoso (Ko *et al.*, 2019). Se ha propuesto que esta variante podría interrumpir la interacción entre *XPO5* y miARNs específicos, lo que resulta en una alteración en la regulación post-transcripcional de genes involucrados en la patogénesis de la LMC.

La asociación entre la variante rs13078 en *DICER1* y la LMC observada en este estudio se presentó, tanto en los individuos portadores del alelo A como en los homocigotos para el genotipo AA. Esta asociación también fue evidente cuando se examinó únicamente a los hombres en el estudio, pero no se mantuvo en el caso de las mujeres. Estas observaciones son congruentes con investigaciones previas que han identificado la importancia de las variantes genéticas en *DICER1* en la predisposición a enfermedades malignas. En el estudio realizado por Wen *et al.* (2019) hubo una asociación significativa entre la variante rs13078 y una disminución del riesgo de desarrollar DM2, en individuos con el alelo A menor en *DICER1* rs13078. Además, el genotipo AA en *DICER1* también se asoció con un efecto protector sobre la DM2 en comparación con el genotipo AT. En otro estudio realizado por Huang *et al.* (2019) los resultados muestran que el genotipo TA para la variante rs13078 está fuertemente asociado con un mayor riesgo de hipertensión gestacional. Además, el haplotipo T-A-A formado por las SNVs rs1057035/rs13078/rs3742330 en *DICER1* se asoció significativamente con un mayor riesgo de hipertensión gestacional. Finalmente, Osuch-Wójcikiewicz *et al.* (2015) identificaron que el genotipo TT en el SNV rs13078 de *DICER1* parece estar asociado con un mayor riesgo de ocurrencia de cáncer de laringe. Tomando en cuenta estos antecedentes, se podría hacer la hipótesis de que esta variante podría influir en la maduración de los miARNs y, por lo tanto, alterar la regulación de los procesos celulares involucrados en la LMC, como la proliferación y diferenciación celular.

Finalmente, de acuerdo con los ensayos *in silico*, se encontró que se las secuencias de ADN pueden crear nuevos enlaces o romper enlaces con diferentes microARNs, esto depende del alelo que esté presente en la secuencia (ancestral o variante). Los microARNs 181d, 181b-5p, 205-5p, 382-3p, 1298, 664a-3p, 616-3p y 6500-3p se unen a *DROSHA* cuando se

encuentra presente el alelo A de la variante rs10719, y pierden su unión cuando se encuentra el alelo G, en este caso solo se unen miARN 27b el 6500-3p. Para el caso de *XPO5* los miARNs 617, 6512-3p, 499a-5p, 548u, 641 y 6505-3p se unen al alelo T de la variante rs11077, y pierden su capacidad de unirse cuando se encuentra presente el alelo G, en este caso solo se unen los miARNs 548u, 1288, 324-3p, 1276, 5002-3p, 18a-3p, 4641 y 4463. Finalmente, en el caso de *DICER1* solo se encontró que el miARN-34c-3p se puede unir cuando está presente el alelo A de la variante rs13078.

En línea con nuestros hallazgos sobre el impacto que tiene la variante rs10719 sobre la unión del miARN-27b al transcrito de *DROSHA*, en el estudio de Yuan *et al.* (2013) se encontró que esta variante afecta la unión de miARN-27b al gen *DROSHA*, lo que resulta en niveles elevados de la proteína *DROSHA* y la asociación de esta con un mayor riesgo de cáncer de vejiga, especialmente en pacientes masculinos y fumadores. En un estudio posterior de Zhang *et al.* (2017), también se observó que la variante rs10719 interrumpe la interacción entre miARN-27b y *DROSHA*, lo que se relaciona con la hipertensión primaria. El miARN-27b desempeña un papel en la regulación de la angiogénesis y está involucrado en el desarrollo cardiovascular y la especificación venosa temprana del endotelio vascular. Además, la desregulación de *DROSHA* se ha asociado con la proliferación anormal de células de músculo liso y el alelo menor de rs10719 se ha vinculado con el riesgo de hipertensión primaria (Zhang *et al.*, 2017).

Por otro lado, Wang *et al.* (2020) encontró que la variante genética, rs11077 en el gen *XPO5*, puede aumentar la vulnerabilidad a la pérdida de audición por ruido. Esta variante, especialmente en la combinación TG/GG, se relacionó con una mayor susceptibilidad a la pérdida auditiva en comparación con el genotipo TT. Además, sugiere que los miARN-617 y miARN-5002-3p podrían dirigirse directamente al gen *XPO5*. También, se ha demostrado que la regulación génica a través de microARNs está implicada en el desarrollo de varios tipos de cáncer, incluido el melanoma. Ott *et al.* (2016) demostraron que el gen *XPO5*, regulado por microARNs, se encontraba sobre expresado en comparación con melanocitos. La estabilidad elevada del ARNm de *XPO5* en células de melanoma contribuye a su alta expresión. Se identificó la variante rs11077 con diferentes genotipos en pacientes con melanoma, y aquellos con el genotipo CC expresaron niveles más altos de ARNm de *XPO5*. Esta variante causa la pérdida del sitio de unión de miARN-617 en el gen, lo que resulta en una menor degradación de *XPO5* a través de este miARN. En resumen, la estabilidad incrementada del ARNm de *XPO5* debido a la pérdida del sitio de unión de miARN-617 por la variante rs11077 explica la alta expresión de *XPO5* en el melanoma. Esta sobreexpresión se asocia con la agresividad de la enfermedad, afectando la supervivencia, proliferación y capacidad de metástasis. En el contexto de la leucemia mieloide crónica (LMC), los estudios recientes han demostrado que los miARNs pueden actuar como supresores de tumores u oncogenes al afectar genes clave, y las variantes genéticas en las regiones 3'-UTR de los miARNs pueden influir en la regulación génica mediada por miARNs, aumentando así el riesgo de cáncer. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender el mecanismo implicado en el desarrollo de LMC debido a variantes en los genes en la biogénesis de los microARNs.

Una limitante importante de este estudio fue el tamaño relativamente pequeño de la muestra, lo que pudo haber disminuido la capacidad para detectar diferencias estadísticamente significativas y, por lo tanto, no podemos descartar la posibilidad de una asociación real en una población más amplia. Además, la LMC es una enfermedad compleja con múltiples factores genéticos y ambientales que influyen en su desarrollo, y nuestro estudio podría no haber considerado todos estos factores en su totalidad. Por lo tanto, es esencial abogar por futuras investigaciones con tamaños de muestra más grandes y un enfoque más completo, incluyendo la interacción gen-gen y gen-ambiente, para obtener una visión más precisa de la contribución genética a la LMC.

En conclusión, las variantes genéticas en genes que participan en la biogénesis de miARNs tienen un impacto significativo en la regulación génica y están asociadas con diversas enfermedades, incluida la LMC. Estos hallazgos brindan una visión más profunda de la interconexión entre la genética, la regulación génica y la patogénesis de enfermedades. A medida que la investigación continúa, la comprensión de cómo estas variantes afectan la expresión de los miARNs proporcionará una base sólida para el desarrollo de terapias más dirigidas y personalizadas en el tratamiento de la LMC y otras enfermedades relacionadas. Estudios futuros podrían centrarse en elucidar las vías moleculares y los mecanismos específicos a través de los cuales estas variantes alteran la expresión de miARNs y su impacto en los procesos celulares involucrados en la patogénesis de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. Ahmed, S., Safwat, G., Moneer, M. M., El Ghareeb, A., El Sherif, A. A., & Loutfy, S. A. (2023). Prevalence of TP53 gene Pro72Arg (rs1042522) single nucleotide polymorphism among Egyptian breast cancer patients. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 24(1), 1–7. <https://doi.uam.elogim.com/10.1186/s43042-023-00405-1>
2. American Cancer Society (ACS). (2021). ¿Cómo se sabe si el tratamiento de la leucemia mieloide crónica surte efecto? <https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia-mieloide-cronica/tratamiento/esta-siendo-eficaz-el-tratamiento.html>
3. Andrews, C. (2010) The Hardy-Weinberg Principle. *Nature Education Knowledge* 3(10):65
4. Aoki, Y., Nishizawa, D., Ohka, S., Kasai, S., Arita, H., Hanaoka, K., Yajima, C., Iseki, M., Kato, J., Ogawa, S., Hiranuma, A., Hasegawa, J., Nakayama, K., Ebata, Y., Ichinohe, T., Hayashida, M., Fukuda, K., & Ikeda, K. (2023). Rs11726196 Single-Nucleotide Polymorphism of the Transient Receptor Potential Canonical 3 (TRPC3) Gene Is Associated with Chronic Pain. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1028. <https://doi.uam.elogim.com/10.3390/ijms24021028>
5. Applied Biosystems.(s.f.). Allelic Discrimination Getting Started Guide. Recuperado el 22 de octubre del 2022, de https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/cms_042315.pdf

6. Borghini, A., Vecoli, C., Mercuri, A., Turchi, S., & Andreassi, M. G. (2021). Individual and joint effects of genetic polymorphisms in microRNA-machinery genes on congenital heart disease susceptibility. *Cardiology in the Young*, 31(6), 965–968. doi: 10.1017/s1047951120004874
7. Cancer.Net. (2018). Leukemia - Chronic Myeloid - CML - Phases. <https://www.cancer.net/cancer-types/leukemia-chronic-myeloid-cml/phases#:~:text=To%20help%20doctors%20plan%20treatment,Chronic%20phase>
8. Chen, J. Y., Xu, L. F., Hu, H. L., Wen, Y. Q., Chen, D., & Liu, W. H. (2020). MiRNA-215-5p alleviates the metastasis of prostate cancer by targeting PGK1. *European review for medical and pharmacological sciences*, 24(2), 639–646. https://doi.org/10.26355/eurev_202001_20040
9. Cho, S. W., Ko, J. M., Kim, J. H., Jeon, Y. T., Yoo, J. U., Oh, J., Oh, D., Kim, J. M., & Kim, N. (2015). 3'-UTR Polymorphisms in the MiRNA Machinery Genes *DROSHA*, *DICER1*, *RAN*, and *XPO5* Are Associated with Colorectal Cancer Risk in a Korean Population. *PLOS ONE*, 10(7), e0131125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131125>
10. CML Life. (2019). Entiende tus resultados. <https://www.cml-life.com/es/articles/understanding-your-results/>
11. Cressoni, A. C. L., Penariol, L. B. C., Padovan, C. C., Orellana, M. D., Rosa-E-Silva, J. C., Poli-Neto, O. B., Ferriani, R. A., de Paz, C. C. P., & Meola, J. (2023). Downregulation of *DROSHA*: Could It Affect miRNA Biogenesis in Endometriotic Menstrual Blood Mesenchymal Stem Cells?. *International journal of molecular sciences*, 24(6), 5963. <https://doi.org/10.3390/ijms24065963>
12. Ensembl. (2022). rs10719 SNP. Recuperado el 09 de octubre del 2022, de https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=5:31400840-31401840;v=rs10719;vdb=variation;vf=164800312
13. Ensembl. (2022). rs11077 SNP. Recuperado el 09 de octubre del 2022, de https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=6:43522709-43523709;v=rs11077;vdb=variation;vf=167131666
14. Ensembl. (2022). rs13078 SNP. Recuperado el 09 de octubre de 2022, del https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=14:95089910-95090910;v=rs13078;vdb=variation;vf=179321070
15. Estudio Europeo de Tratamiento y Resultados. (2011). European Leukemia Network: Online calculation of the EUTOS Score. https://www.eutos.org/content/home/eutos_score/index_eng.htm
16. Fawzy, M. S., Abu, B. T., & Toraih, E. A. (2020). Analysis of microRNA processing machinery gene (*DROSHA*, *DICER1*, *RAN*, and *XPO5*) variants association with end-stage renal disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(12). doi:10.1002/jcla.23520
17. Frias-Vázquez, S., Guevara-Yáñez, R. (2018). Citogenética convencional. En Hernandez-Martinez, M.T. (Ed.). *Genética clínica* (pp. 254-269). Editorial El Manual Moderno.

18. Genotipia. (2019). Las mutaciones sinónimas pueden afectar la expresión de genes. Genotipia. https://genotipia.com/genetica_medica_news/mutaciones-sinonimas-en-cancer/#:~:text=Las%20mutaciones%20sin%C3%B3nimas%20son%20aquellas,diferentes%20combinaciones%20de%20tres%20nucle%C3%B3tidos.
19. Griffiths, L., & Chacon, D. (2014). Methods for extracting genomic DNA from whole samples: current perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*, 1. doi:10.2147/bsam.s46573blood
20. Groffen, J., Stephenson, J., Heisterkamp, N., Deklein, A., Bartram, C., & Grosveld, G. (1984). Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*, 36(1), 93–99. doi:10.1016/0092-8674(84)90077-1
21. Hasford, J., Pfirrmann, M., Hehlmann, R., Allan, N. C., Baccarani, M., Kluin-Nelemans, J. C., Alimena, G., Steegmann, J. L., & Ansari, H. (1998). A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(11), 850–858. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.11.850>
22. Hehlmann, R. (2020). Chronic Myeloid Leukemia in 2020. *HemaSphere*, 4(5), e468. doi:10.1097/HS9.0000000000000468
23. Heisterkamp, N., Stephenson, J. R., Groffen, J., Hansen, P. F., de Klein, A., Bartram, C. R., & Grosveld, G. (1983). Localization of the c-abl oncogene adjacent to a translocation break point in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*, 306(5940), 239–242. doi:10.1038/306239a0
24. Herráez, Á. (2012). Texto Ilustrado e interactivo de Biología Molecular e Ingeniería Genética (2da.ed.). Elsevier.
25. Hershkovitz-Rokah, O., Modai, S., Pasmanik-Chor, M., Toren, A., Shomron, N., Raanani, P., Shpilberg, O., & Granot, G. (2015). Restoration of miR-424 suppresses BCR-ABL activity and sensitizes CML cells to imatinib treatment. *Cancer letters*, 360(2), 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.02.031>
26. Hrovatin, K., & Kunej, T. (2018). Classification of miRNA-related sequence variations. *Epigenomics*, 10(4), 463–481. doi:10.2217/epi-2017-0126
27. Hu, J., Xu, Z., Ye, Z., Li, J., Hao, Z., & Wang, Y. (2023). The association between single nucleotide polymorphisms and ovarian cancer risk: A systematic review and network meta-analysis. *Cancer Medicine*, 12(1), 541–556. <https://doi.uam.elogim.com/10.1002/cam4.4891>
28. Huang, X., An, Y., Li, X., Wang, D., Tan, H., & Lei, J. (2019). Genetic variants in *DICER1*, *DROSHA*, *RAN*, and *XPO5* genes and risk of Pregnancy-induced Hypertension. *Pregnancy Hypertension*. doi:10.1016/j.preghy.2019.04.005
29. Indrieri, A., Carrella, S., Carotenuto, P., Banfi, S., & Franco, B. (2020). The Pervasive Role of the miR-181 Family in Development, Neurodegeneration, and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2092. <https://doi.org/10.3390/ijms21062092>
30. INSERM US14. (s/f). Orphanet: Leucemia mieloide crónica. Orpha.net. Recuperado el 20 de octubre del 2022, de https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=ES&Expert=521

31. Instituto Nacional del Cáncer. (s.f). Diagnóstico molecular. Diccionario de cáncer del NCI. Consultado el 05 de febrero de 2023. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/diagnostico-molecular>
32. Jabbour, E., & Kantarjian, H. (2012). Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. *American Journal of Hematology*, 87(11), 1037–1045. doi:10.1002/ajh.23282
33. Jayakumar, S., Merin, D., Krishna, A., Mahima, A., Anila, K. N. (2022). Approaches to Managing Philadelphia Chromosome Positive Chronic Myeloid Leukaemia Patients: A Short Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 13(2), 102-107. doi: 10.31858/0975-8453.13.2.102-107
34. Jiang, K., Xie, L. F., Xiao, T. Z., Qiu, M. Y., & Wang, W. L. (2019). MiR-181d inhibits cell proliferation and metastasis through PI3K/AKT pathway in gastric cancer. *European review for medical and pharmacological sciences*, 23(20), 8861–8869. https://doi.org/10.26355/eurev_201910_19281
35. JMP Statistical Discovery LLC. (2022). La prueba de ji cuadrado. Portal de formación estadística. Una introducción online gratuita a la estadística. Recuperado el 18 de octubre de 2022 del https://www.jmp.com/es_co/statistics-knowledge-portal/chi-square-test.html
36. Juárez-Luis, J., Canseco-Ocaña, M., Cid-Soto, M. A., Castro-Martínez, X. H., Martínez-Hernández, A., Orozco, L., Hernández-Zavala, A., & Córdova, E. J. (2023). Single nucleotide variants in microRNA biosynthesis genes in Mexican individuals. *Frontiers in Genetics*, 14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1022912>
37. Kim, J. H., Bae, J., Kim, J., Oh, S. H., An, H. J., Kim, N. K., Oh, D., Kim, O. J., & Kim, N. (2018). Association of MicroRNA Biogenesis Genes Polymorphisms with Ischemic Stroke Susceptibility and Post-Stroke Mortality. *Journal of stroke*, 20(1), 110-121. <https://doi.org/10.5853/jos.2017.02586>
38. Kim, M., Kim, J. H., Lee, S. H., Park, H., Lee, J., Rim, K. S., Hwang, S. J., & Kim, N. (2016). Variation in the *DICER* and *RAN* Genes Are Associated with Survival in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *PLOS ONE*, 11(9), e0162279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162279>
39. Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A. (2018). Conceptos de genética. PEARSON EDUCACIÓN, 8ª edición.
40. Ko, E., Kim, E. J., Kim, J. H., Sung, J., Park, H. W., Ryu, C. Y., Oh, J., Chong, S. Y., Oh, D., & Kim, N. (2019). Analysis of the Association Between MicroRNA Biogenesis Gene Polymorphisms and Venous Thromboembolism in Koreans. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3771. <https://doi.org/10.3390/ijms20153771>
41. Lee, Y., Ahn, E. H., Ryu, C. Y., Kim, J. H., An, H. J., Cho, S. W., Kim, J., Kim, Y. H., Lee, W. J., & Kim, N. (2020). Association between microRNA machinery gene polymorphisms and recurrent implantation failure. *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8556>

42. Leukemia & Lymphoma Society. (2017). Leucemia mieloide crónica. https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/PS31S_CML%20Booklet_Spanish_FINAL_December2017_Insert.pdf
43. Li, J., Liao, Y., Liao, Y., Ruan, S., Wan, Y., & Peng, L. (2017). DROSHA rs10719 T>C is associated with lymph node metastasis and clinical stage of gastric cancer patients. *International journal of clinical and experimental pathology*, 10(7), 7333–7339.
44. Lin, Y., Chu, H., Wang, M., Gu, X., Shi, D., Ma, L., Zhong, D., Du, M., Li, P., Tong, N., Fu, G., Qin, C., Chen, Y., & Zhang, Z. (2013). Genetic variation in DROSHA 3'UTR regulated by HSA-MIR-27B is associated with bladder cancer risk. *PLOS ONE*, 8(11), e81524. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081524>
45. Lingling Ye, Fen Wang, Jinyan Wang, Hao Wu, Hui Yang, Zhaohui Yang, & Haiwei Huang. (2022). Role and mechanism of miR-211 in human cancer. *Journal of Cancer*, 13(9), 2933–2944. <https://doi.uam.elogim.com/10.7150/jca.71401>
46. Lopina, N. (2022). EUTOS Score for Chronic Myelogenous Leukemia (CML) online calculator. ClinCaseQuest. <https://clincasequest.hospital/eutos-score-cml/>
47. Lopina, N. (2022). Hasford score: online calculator. ClinCaseQuest. <https://clincasequest.hospital/hasford-score-online-calculator/>
48. Lopina, N. (2022). Sokal Index for Chronic Myelogenous Leukemia (CML). ClinCaseQuest. <https://clincasequest.hospital/sokal-index-cml/>
49. MedlinePlus Genetics. (s. f.). ¿Qué tipos de variantes de genes son posibles? <https://medlineplus.gov/spanish/genetica/entender/variantesytrastornos/posiblesvariantes#:~:text=Un%20marco%20de%20lectura%20consiste,para%20todos%20los%20amino%20%C3%A1cidos%20siguientes.>
50. Mojtahedi, H., Yazdanpanah, N., & Rezaei, N. (2021). Chronic myeloid leukemia stem cells: targeting therapeutic implications. *Stem cell research & therapy*, 12(1), 603. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02659-1>
51. Molina, M. (2017). ¿Qué significa realmente el valor de p?. *Pediatría Atención Primaria*, 19(76), 377-381. Recuperado el 19 de octubre del 2022, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322017000500014&lng=es&tlng=es.
52. Monroy-Jaramillo, N., López-López, M., Cervantes-Peredo, A. B. (2019). Del Castillo-Ruiz, V., Uranga-Hernández, R. D., Zafra de la Rosa, G. María Teresa Hernández Martínez, (Eds.). *Genética clínica, 2e. Manual Moderno*
53. Munkongdee, T., Tongsima, S., Ngamphiw, C., Wangkumhang, P., Peerapittayamongkol, C., Hashim, H. B., Fucharoen, S., & Svasti, S. (2021). Predictive SNPs for β 0-thalassemia/HbE disease severity. *Scientific Reports*, 11(1), 1–7. <https://doi.uam.elogim.com/10.1038/s41598-021-89641-2>
54. Mutación con cambio de sentido. (s. f.). Genome.gov. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Mutacion-con-cambio-de-sentido#:~:text=Una%20mutaci%C3%B3n%20en%20el%20cambio,es%20reconocido%20por%20el%20ribosoma.>

55. Mutación sin sentido. (s. f.). Genome.gov. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Mutacion-sin-sentido>
56. Nava-Cedeño, D., Alonso-Cerezo, M. C., Sanz-García, A., Vega-Zelaya, L., Gordillo-Perdomo, J. J., M, D. T., Pastor-Gómez, J., Torres-Díaz, C., Pulido-Rivas, P., & García-Sola, R. (2022). Asociación entre los polimorfismos genéticos de nucleótido único en genes transportadores ABC con la epilepsia farmacorresistente en la población española. *Revista De Neurología*, 75(09), 251. <https://doi.org/10.33588/rn.7509.2022133>
57. Nóbrega, C., Mendonça, L., & Matos, C. A. (2020). A Handbook of Gene and Cell Therapy. doi:10.1007/978-3-030-41333-0
58. Nussbaum, R. L., Willard, H. F., & McInnes, R. R. (2008). Genética en medicina. Elsevier Gezondheidszorg.
59. Oiseth, S., Jones, L., & Maza Guia, E. (2022). Tipos de Mutaciones. Lecturio. <https://www.lecturio.com/es/concepts/tipos-de-mutaciones/#:~:text=Mutaci%C3%B3n%20silenciosa%3A,prote%C3%ADna%20no%20se%20ve%20afectada>
60. Osorio, S., Casado, L. F., Giraldo, P., Maestro, B., Andrade, M., Redondo, S., ... Steegmann, J. L. (2016). Leucemia mieloide crónica en España: sus características de presentación han cambiado. Sección española del registro poblacional EUTOS. *Revista Clínica Española*, 216(6), 293–300. doi:10.1016/j.rce.2016.03.001
61. Osuch-Wójcikiewicz, E., Bruzgielewicz, A., Niemczyk, K., Sieniawska-Buccella, O., Nowak, A., Walczak, A., & Majsterek, I. (2015). Association of Polymorphic Variants of miRNA Processing Genes with Larynx Cancer Risk in a Polish Population. *BioMed Research International*, 2015, 1-17. <https://doi.org/10.1155/2015/298378>
62. Ott, C. A., Linck, L., Kremmer, E., Meister, G., & Bosserhoff, A. (2016). Induction of eXPortin-5 expression during melanoma development supports the cellular behavior of human malignant melanoma cells. *Oncotarget*, 7(38), 62292-62304. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11410>
63. Parada M, & Meda B (2016). Mutaciones. Montes A, & Rodríguez A, & Borunda J(Eds.), *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*, 2e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1803§ionid=124155450>
64. Pérez-Encinas, M., Goldberg, S. L., Michallet, M., Hehlmann, R., Zyczynski, T., Foreman, A., Calimlim, B., Paquette, R., Simonsson, B., Gambacorti-Passerini, C., Cortés, J., Zagorska, A., Rong, Y., Mauro, M. (2016). Patrones de cambio de los inhibidores de la tirosina cinasa BCR-ABL1 en pacientes con leucemia mieloide crónica en fase crónica en la práctica clínica rutinaria en el estudio SIMPLICITY. https://www.postersessiononline.es/312191188_es/congresos/59SEHH/aula/-PC_348_59SEHH.pdf
65. Pinilla, G. (2019). *Biología molecular: ADN recombinante y sus aplicaciones*. (1.a ed.). Editorial El Manual Moderno Colombia. 232

66. PLINK: Whole genome data analysis toolset. (s. f.). <https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>
67. QIAGEN. (2022). QIAamp DNA Kits. Recuperado el 14 de octubre del 2022, de <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-kits/>
68. Ramírez, B., Bastidas, E., Bastidas, D., & Bañuelos, J (2016). Manejo de muestras para análisis molecular. Montes, A., Rodríguez, A., & Borunda, J. (Eds.), *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*, 2e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1803§ionid=124155601>
69. Rezaei, M., Eskandari, F., Mohammadpour-Gharehbagh, A., Teimoori, B., Yaghmaei, M., Mokhtari, M., & Salimi, S. (2017). The Drosha RS10719 T>>C polymorphism is associated with preeclampsia susceptibility. *Clinical and Experimental Hypertension*, 40(5), 440-445. <https://doi.org/10.1080/10641963.2017.1392555>
70. Rodríguez, A., Ríos, A., & Mosqueda, J. (2016). Reacción en cadena de la polimerasa. En Montes, A., Rodríguez, A., & Borunda, J. (Eds.), *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*, 2e. McGraw Hill. American Cancer Society <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1803§ionid=124156025>
71. Sampaio, M. M., Santos, M. L. C., Marques, H. S., Gonçalves, V. L. S., Araújo, G. R. L., Lopes, L. W., Apolonio, J. S., Silva, C. S., Santos, L. K. S., Cuzzuol, B. R., Guimarães, Q. E. S., Santos, M. N., de Brito, B. B., da Silva, F. A. F., Oliveira, M. V., Souza, C. L., & de Melo, F. F. (2021). Chronic myeloid leukemia-from the Philadelphia chromosome to specific target drugs: A literature review. *World journal of clinical oncology*, 12(2), 69–94. <https://doi.org/10.5306/wjco.v12.i2.69>
72. Shakra, M. Y., Ibrahim, S., Shahat, M. E., Mohamed, A., Sharapy, A., Omar, A., & AlSaeed, A. (2023). Association between the single-nucleotide polymorphism (RS1030868) variant in matrix metalloproteinase 2 gene and the development of lymphedema. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s43042-023-00409-x>
73. Shen, Y., Lu, C., Cheng, T., Cao, Z., Chen, C., Ma, X., Gao, H., & Luo, M. (2023). A novel 1.38-kb deletion combined with a single nucleotide variant in KIAA0586 as a cause of Joubert syndrome. *BMC Medical Genomics*, 16(1), 1–6. <https://doi.uam.elogim.com/10.1186/s12920-023-01438-6>
74. Stavast, C. J., & Erkeland, S. J. (2019). The Non-Canonical Aspects of MicroRNAs: Many Roads to Gene Regulation. *Cells*, 8(11), 1465. doi:10.3390/cells8111465
75. Suttorp, M., Millot, F., Sembill, S., Deutsch, H., & Metzler, M. (2021). Definition, Epidemiology, Pathophysiology, and Essential Criteria for Diagnosis of Pediatric Chronic Myeloid Leukemia. *Cancers*, 13(4), 798. doi:10.3390/cancers13040798
76. Szumilas, M. (2010). Explaining Odds Ratios. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*. 24(1): 58. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2015 March 4; 24(1): 58.
77. Thermofisher. (s. f.). TaqMan™ SNP Genotyping Assay, human. Recuperado el 22 de octubre del 2022, de <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4351374>

78. Vecoli, C., Borghini, A., Turchi, S., Mercuri, A., & Andreassi, M. G. (2020). Genetic polymorphisms of miRNA machinery genes in bicuspid aortic valve and associated aortopathy. *Personalized Medicine*. doi:10.2217/pme-2020-0082
79. Wang, N., Wang, B., Guo, J., Zhang, S., Han, L., Zhang, J., & Zhu, B. (2020). Single-Nucleotide Polymorphisms in *XPO5* are Associated with Noise-Induced Hearing Loss in a Chinese Population. *Biochemistry research international*, 2020, 9589310. <https://doi.org/10.1155/2020/9589310>
80. Wang, X. D., Wen, F. X., Liu, B. C., & Song, Y. (2017). MiR-211 inhibits cell epithelial-mesenchymal transition by targeting MMP9 in gastric cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 10(7), 7551–7558.
81. Wellington, A. (2022). The Genetics of Chronic Myeloid Leukaemia and Recent Advancements in Therapy. *New Zealand Medical Student Journal* 0 (34): 12–14. <https://doi.org/10.57129/ONFN3774>.
82. Wen, J., Gao, Q., Wang, N., Zhang, W., Cao, K., Zhang, Q., Chen, S., & Shi, L. (2017). Association of microRNA-related gene *XPO5* rs11077 polymorphism with susceptibility to thyroid cancer. *Medicine*, 96(14), e6351. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006351>
83. Wen, Z., Zou, X., Xie, X., Zheng, S., Chen, X., Zhu, K., ... Nie, L. (2019). Association of Polymorphisms in miRNA Processing Genes With Type 2 Diabetes Mellitus and Its Vascular Complications in a Southern Chinese Population. *Frontiers in Endocrinology*, 10. doi:10.3389/fendo.2019.00461
84. Weng, H., Lal, K., Yang, F. F., & Chen, J. (2015). The pathological role and prognostic impact of miR-181 in acute myeloid leukemia. *Cancer genetics*, 208(5), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2014.12.006>
85. Weng, H., Lal, K., Yang, F. F., & Chen, J. (2015). The pathological role and prognostic impact of miR-181 in acute myeloid leukemia. *Cancer genetics*, 208(5), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2014.12.006>
86. What is hematology? (2022, 23 marzo). Healio. Recuperado 22 de abril de 2023, de <https://www.healio.com/news/hematology-oncology/20120331/what-is-hematology>
87. Xishan, Z., Ziyang, L., Jing, D., & Gang, L. (2015). MicroRNA-320a acts as a tumor suppressor by targeting BCR/ABL oncogene in chronic myeloid leukemia. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep12460
88. Yuan, L., Chu, H., Wang, M., Gu, X., Shi, D., Ma, L., Zhong, D., Du, M., Li, P., Tong, N., Fu, G., Qin, C., Yin, C., & Zhang, Z. (2013). Genetic variation in *DROSHA* 3'UTR regulated by hsa-miR-27b is associated with bladder cancer risk. *PloS one*, 8(11), e81524. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081524>
89. Zhang, Y., Cao, A., & Dong, C. M. (2017). rs10719 Polymorphism Located within *DROSHA* 3'-Untranslated Region is Responsible for Development of Primary Hypertension by Disrupting Binding with microRNA-27b. *Medical Science Monitor*, 23, 911-918. <https://doi.org/10.12659/msm.897607>

LISTA DE ABREVIATURAS

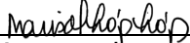
- **A1:** alelo menor.

- **A2:** alelo mayor.
- **ABL1:** homólogo humano del oncogén viral de la leucemia murina de Abelson.
- **ADN:** ácido desoxirribonucleico.
- **ARN:** ácido ribonucleico.
- **ARNm:** ácido ribonucleico mensajero.
- **BCL11A:** subunidad del complejo de remodelación de cromatina BAF BCL11A. Linfoma/leucemia de células B con factor de transcripción 11A.
- **BCR:** grupo de punto de ruptura.
- **BCR-ABL1:** variante formada por la combinación de dos genes (*BCR* y *ABL1*).
- **C3PO:** promotor del componente 3 del complejo de silenciamiento inducido por ARN.
- **CHR:** cromosoma.
- **CNV:** variantes en el número de copias (*copy number variation*).
- **DICER:** es un endoribonucleasa responsable de la producción de micro ARN maduros (miRNA).
- **TRBP:** elemento de respuesta de transactivación proteína de unión a ARN (del inglés, *transactivation response element RNA-binding protein*).
- **DM2:** diabetes mellitus tipo 2.
- **DROSHA:** proteína encargada de procesar a los miARN primarios (pri-miARN), y convertirlos en miARN precursores (pre-miARN).
- **DGCR8:** subunidad compleja de microprocesador DGCR8 (del inglés, *microprocessor complex subunit DGCR8*). Proteína encargada de procesar a los miARN primarios (pri-miARN), y convertirlos en miARN precursores (pre-miARN).
- **ELN:** red europea contra la leucemia (del inglés, *European LeukemiaNet*).
- **EMT:** transición celular epitelial-mesenquimatosa (del inglés, *epithelial-mesenchymal cell transition*).
- **EUTOS:** estudio europeo de tratamiento y resultados para la leucemia mieloide crónica (del inglés, *European Treatment and Outcome Study for Chronic Myeloid Leukemia*).
- **FAM:** 6-carboxifluoresceína.

- **FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos (del inglés, *Food and Drug Administration*).
- **FISH:** hibridación in situ fluorescente (del inglés, *fluorescence in situ hybridization*).
- **FokI:** es una endonucleasa de restricción de tipo IIS de bacterias que se encuentra naturalmente en *Flavobacterium okeanoikoites* y consiste en un dominio de unión al ADN en el extremo N-terminal de la enzima y un dominio de corte no específico en el extremo C-terminal.
- **GWAS:** estudio de asociación del genoma completo (del inglés, *Genome-wide association study*).
- **HBE1:** subunidad de hemoglobina Epsilon 1 (del inglés, *Hemoglobin Subunit Epsilon 1*).
- **HbF:** hemoglobina fetal.
- **HBS1L-MYB:** se refiere a una serie de variantes de un solo nucleótido (SNV) situadas en el intervalo entre el gen de *HBS1L* (una proteína G/factor de elongación) y el oncogén *MYB*, en el cromosoma 6q23.3.
- **Indels:** inserciones/deleciones.
- **INMEGEN:** Instituto Nacional de Medicina Genómica.
- **LMC:** leucemia mieloide crónica.
- **MAF:** frecuencia del alelo menor (del inglés, *minor allele frequency*).
- **miARNs:** micro ARNs.
- **MMP-2:** metaloproteinasa-2 de matriz y gelatinasa A, es una enzima que en humanos está codificada por el gen *MMP2*.
- **OMS:** organización mundial de la salud.
- **OR:** razón de posibilidades.
- **P:** valor de significancia estadística.
- **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, *polymerase chain reaction*).
- **Ph+:** filadelfia positivo.
- **POL II:** polimerasa 2.
- **pre-miARN:** miARN precursores.

- **pri-miARN:** miARN primarios.
- **qPCR:** PCR cuantitativa.
- **RAN:** GTPasa Ran es una proteína G monomérica implicada en el tráfico de péptidos y proteínas a través de la envoltura nuclear durante la interfase.
- **RISC:** complejo de silenciamiento inducido por ARN (del inglés, *RNA-induced silencing complex*).
- **RT-PCR:** reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (del inglés, *reverse transcription polymerase chain reaction*).
- **SIMPLICITY:** estudio del tratamiento de primera línea de la leucemia mieloide crónica en un entorno real (del inglés, *Studying First Line Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in a Real-world Setting*).
- **SNV:** variantes de un solo nucleótido (del inglés, *single nucleotide variant*).
- **STRP:** polimorfismos cortos de repetición en tándem (del inglés, *short tandem repeat polymorphisms*).
- **TBE:** tris, borato y EDTA.
- **TKI:** inhibidores de la función de tirosina cinasa (del inglés, *Tyrosine Kinase Inhibitors*).
- **TP53:** gen de la proteína tumoral p53 (del inglés, *tumor protein 53*).
- **TRPC3:** canal 3 de potencial receptor transitorio corto, también conocido como proteína receptora transitoria 3 (del inglés, *short transient receptor potential channel 3*).
- **UTR:** región no traducida (del inglés, *untranslated region*).
- **VIC:** 2'-cloro-7'-fenil-1,4-dicloro-6-carboxifluoresceína.
- **VNTR:** polimorfismo de repetición en tándem con número variable de copias (del inglés, *variable number of tandem repeats*).
- **XPO5:** EXPortina 5.

Vo. Bo. DE LOS ASESORES



Asesora interna

Dra. Marisol López López
Prof. Titular "C" T.C.
Departamento Sistemas
Biológicos



Asesor externo

Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón
Investigador en Ciencias Médicas E,
Consorcio de Oncogenómica Instituto
Nacional de Medicina Genómica, México