



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR. IGNACIO CHÁVEZ”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Tesis

“La expresión de $eIF3f$ y las isoformas $STAT3\beta$ y $STAT5B$ se asocian con el factor pronóstico de pacientes con leucemia aguda”

Que para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Salud

Presenta

Médica Cirujana y Partera
Corintia Alejandra Bautista Verduzco

Dirección de tesis

Doctora en Ciencias Biológicas
Ana Edith Higareda Mendoza

Doctor en Ciencias Químico Biológicas
Sergio Gutiérrez Castellanos

Morelia, Michoacán, octubre de 2022

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORAL

Doctora en Ciencias
Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas
Presidente

Doctora en Ciencias Biológicas
Ana Edith Higareda Mendoza
Vocal 1 (Directora de Tesis)

Doctor en Ciencias
Sergio Gutiérrez Castellanos
Vocal 2 (Co-director de Tesis)

Doctor en Ciencias
Marco Aurelio Pardo Galván
Vocal 3

Doctora en Ciencias
Bertha Fenton Navarro
Vocal 4

La Maestría en Ciencias de la Salud de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Pertenece al Padrón de Posgrado de Excelencia del CONACyT

La estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo agradece al CONACyT la beca que le fue otorgada durante la realización de su tesis.

Número de registro 765599.

Se agradece a los servicios de las siguientes instituciones por su disposición y contribución a esta investigación:

Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos
Servicios de Onco-hematología Pediátrica, Laboratorio de Análisis Clínico,
Quimioterapia ambulatoria y Archivo Clínico.

Hospital de la Mujer de Morelia, SMM
Servicio de Hematología, Tococirugía y Archivo Clínico.

Instituto Mexicano del Seguro Social
Servicio de Hematología del Hospital General de Zona 83, Servicios de Hematología y
Oncohematología pediátrica del Hospital General Regional No. 1

Unidad de Alta Especialidad del ISSSTE
Servicios de Hematología y Oncohematología pediátrica

Hospital Civil “Dr. Miguel Silva”
Servicio de Hematología

Hasta el día 31 de Octubre de 2021, el presente trabajo de tesis ha contribuido con la realización de 20 inmunofenotipos diagnósticos que han sido decisivos en el abordaje médico de los pacientes sin acceso a este tipo de estudios.

Esto no habría sido posible sin el apoyo de la D. C. Laura Josefina Rabelo Carrasco del Laboratorio de Hematología Especial, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN SE REALIZÓ EN:

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, Instituto Mexicano del Seguro Social, bajo la dirección de la la D. en C. Ana Edith Higareda Mendoza y el D. en C. Sergio Gutiérrez Castellanos. Con la colaboración de la D. en C. Anel Gómez García.

DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TESIS

Doctora en Ciencias Biológicas

Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Doctor en Ciencias

Sergio Gutiérrez Castellanos

Universidad Michoacan de San Nicolás de Hidalgo

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán – IMSS

CONTRIBUCIONES

Hematólogo

Edgar Ruiz Velasco Niño

Hospital General Regional No. 1

Hemato-Oncólogo Pediatra

Misael Herrejón Carmona

Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”

DEDICATORIA

A mi pequeña familia, Jorge, Paulette y Ariana

Y

Para todas esas personas que no tuvieron la oportunidad de luchar contra esta enfermedad

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo Jorge por todas las facilidades ofrecidas para la elaboración de este trabajo y por ser mi compañero en la tesis más importante de nuestra vida, que supone la resiliencia y amor de vivir en pareja.

A mis hijas Paulette y Ariana, gracias por su amor incondicional, por esperarme y recibirme con tanta alegría en aquellos días de mi larga ausencia, ustedes son mi todo, las amo.

A mi padre Alejandro a quien debo la persona que soy, me permitió tener la profesión que hoy tanto amo y por ser ese gran abuelo que es para mis hijas.

A mis hermanos, Alex y Leslie que han apoyado en el cuidado de mis hijas para que yo logré mis metas, por escucharme y abrazarme cuando más he necesitado.

A mi madre María de Jesús, de quién toda la vida admire su dedicación al prójimo y a sus pacientes. Gracias por enseñarme a no darme por vencida y que siempre puedo lograr lo que me proponga.

A el doctor Sergio Gutiérrez por su paciencia y la confianza que me brindó en su laboratorio. Muchas gracias además por todos sus consejos y ser además de mi co-asesor, un mentor de vida y enseñarme que mi única competencia soy yo, gracias por creer en mí, por aceptar a mis hijas en su laboratorio y todos sus detalles hacia ellas.

A mi asesora la doctora Ana Edith, por la confianza de aceptarme en este proyecto, por todas sus observaciones y atenciones en la realización de este trabajo, pero sobre todo por su paciencia y empatía hacia mi persona.

A la doctora Anel Gómez por todos sus consejos y atenciones, por ayudarme con mis dudas y en la realización del análisis estadístico.

A mi compañera de investigación Génesis Garcia, por acompañarme en cada nueva ocurrencia y ser mi mano derecha en cada experimento.

A mis amigos los “anti-experiencias” Eduardo, Benjamín y Gina, por tantas risas y momentos compartidos.

Por último, al Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, que se convirtió en mi segundo hogar, donde nunca me sentí en desventaja por ser madre y estudiante.

ABREVIATURAS

CMH	Célula madre hematopoyética
CD	Cúmulo de diferenciación
LA	Leucemia aguda
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMA	Leucemia mieloide aguda
LPA	Leucemia promielocítica aguda
eIF	Factor de inicio de la traducción eucariota
STAT	Proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
GLOBOCAN	Observatorio global del cáncer
FAB	Asociación Franco Américo-Británica
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
FISH	Hibridación fluorescente <i>in situ</i>
EMR	Enfermedad mínima residual
PBS	Buffer fosfato salino
BrEt	Bromuro de etidio
CMN	Células mononucleares
NTC	Control sin plantilla
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
ARNsi	ARN de silenciamiento
ARNr	ARN ribosomal
ADN	Ácido desoxirribonucleico
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementario
PTEN	Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
Wnt	Sitio de integración relacionado con Wingless
SHH	Sonic Hedgehog
UNICEF	Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia

SNC	Sistema Nervioso Central
PI3K	Fosfoinositol 3-quinasas
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógeno
kDa	Kilo Dalton
GTP	Guanosín difosfato
S6KI	Proteína ribosómica S6 quinasa beta-1
LLC	Leucemia linfocítica crónica
SVCU	Sangre venosa de cordón umbilical
B2M	β 2 microglobulina
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RT-PCR	PCR en tiempo real
AV	Oligonucleótido anverso
RV	Oligonucleótido reverso
cbp	Cuanto baste para
MO	Médula ósea
SP	Sangre periférica
nTPM	Transcripciones por millón de genes codificantes de proteínas

CONTENIDO

RESUMEN	20
ABSTRACT	22
1. INTRODUCCIÓN	24
2. MARCO TEÓRICO	27
3.1 Hematopoyesis	27
3.2 Leucemia	29
a) Definición	29
b) Epidemiología	29
c) Clasificación	30
d) Evaluación clínica y diagnóstica	33
e) Tratamiento	37
f) Oncogénesis	42
3. JUSTIFICACIÓN	53
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	54
5. HIPÓTESIS	54
6. OBJETIVOS	54
7. MATERIALES Y MÉTODOS	55
7.1 Diseño del estudio	55
7.2 Estrategia experimental	55
7.3 Universo de trabajo	55
7.4 Muestra	55
7.5 Definición del grupo control	56
7.6 Criterios de inclusión	57
7.7 Criterios de no inclusión	57

7.8	Criterios de eliminación	57
7.9	Definición de las variables y unidades de medida	58
7.10	Manejo de las muestras biológicas	62
7.11	Identificación de blastos	63
7.12	Aislamiento de células mononucleares	63
7.13	Extracción de ARN	65
7.14	Tratamiento con DNasa	65
7.15	Manejo del material genético	66
7.16	PCR en tiempo real	66
7.17	Consideraciones éticas	71
7.18	Análisis estadístico	73
8.	RESULTADOS	75
8.1	Estandarización de la técnica RT-qPCR	75
a)	Diseño de los oligonucleótidos	76
b)	Hidratación de oligonucleótidos	77
c)	Optimización de la concentración de los oligonucleótidos	77
d)	Eficiencia del ensayo	82
8.2	Descripción del grupo control	85
8.3	Descripción de la población de estudio	86
8.4	Objetivos 1 y 3. Determinar la expresión de <i>eIF3f</i> , <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes con leucemia aguda <i>de novo</i> . Identificar la razón de expresión de <i>STAT3β/α</i> y <i>STAT5B/A</i>	91
a)	Expresión génica de <i>eIF3</i> , las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes con leucemia aguda	91
b)	Expresión de las isoformas <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> en pacientes pediátricos	92
c)	Expresión de las isoformas <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> en pacientes adultos	92
d)	Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes pediátricos	93
e)	Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes adultos	94
f)	Expresión de <i>eIF3f</i>	94
8.5	Objetivo 2. Identificar relaciones entre la expresión de <i>eIF3f</i> con las isoformas de <i>STAT3</i> y <i>STAT5</i> en leucemia aguda <i>de novo</i>	96

a)	Relación de <i>EIF3f</i> con las isoformas de <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes pediátricos con LLA	96
	97	
b)	Relación de <i>EIF3f</i> con las isoformas de <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes pediátricos con LMA	97
c)	Relación de <i>EIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes adultos con LLA	98
d)	Relación de <i>EIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes adultos con LMA y LPA	98
8.6	Objetivo 4: Asociar la expresión de <i>EIF3f</i> , <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> con factores pronóstico y predictivos	100
a)	Expresión de las isoformas <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> respecto a la edad de riesgo	100
b)	Expresión de los genes <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> respecto a la edad de riesgo	101
c)	Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> respecto al inmunofenotipo de riesgo	101
d)	Expresión de <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> con citogenética de riesgo	102
e)	Expresión de <i>EIF3f</i> en relación a los factores pronóstico de pacientes	103
f)	Expresión de <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> , <i>STAT5B</i> y <i>EIF3f</i> en relación a la enfermedad mínima residual como factor predictivo	107
9.	DISCUSIÓN	111
10.	CONCLUSIONES	121
11.	PERSPECTIVAS	122
12.	REFERENCIAS	123
13.	ANEXOS	134
	Anexo 1. Carta de consentimiento informado IMSS	134
	Anexo 2. Carta de asentimiento informado IMSS	137
	Anexo 3. Carta de consentimiento informado para pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva”	139
	Anexo 4. Carta de consentimiento informado para pacientes del Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”	141
	Anexo 5. Carta de consentimiento informado para pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad del ISSSTE	142
	Anexo 6. Carta de consentimiento informado para pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de la Mujer.	144

Anexo 7. Recolección de datos de pacientes con leucemia aguda	146
Anexo 8. Recolección de datos para factores de riesgo predictivo pronósticos	148
Anexo 9. Recolección de datos para la captura de SVCU	149
Anexo 10. Cartas de aceptación de instituciones participantes	152

ÍNDICE DE TABLAS

1. Clasificación OMS de leucemias agudas	31
2. Anticuerpos monoclonales habitualmente utilizados en la inmunotipificación de leucemias agudas	32
3. Clasificación Inmunológica de la Leucemia (EGIL)	33
4. Factores pronósticos importantes en leucemia linfoblástica aguda	38
5. Estratificación de riesgo del ELN por genética 2017	39
6. Volúmenes recomendados para el aislamiento de CMN por gradiente de densidad	64
7. Panel de anticuerpos para el análisis de SVCU	71
8. Características de los oligonucleótidos utilizados	76
9. Concentraciones utilizadas para la optimización de los oligonucleótidos	79
10. Diluciones seriadas del gen control ABL	80
11. Estabilidad de ABL y β -2 microglobulina	81
12. Población de estudio	88
13. Alteraciones citogenéticas encontradas en la población de estudio	90
14. Expresión relativa de los genes <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> , <i>STAT5B</i> y <i>eIF3f</i>	91
15. Asociaciones pronósticas en pacientes pediátricos con leucemia aguda	105
16. Asociaciones pronósticas en pacientes adultos con leucemia aguda	106
17. Asociaciones predictivas en pacientes con leucemia aguda	108
18. Limitantes terapéuticas encontradas en pacientes con leucemia aguda	109
19. Principales causas de defunción en la población de estudio	110

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Jerarquía de la diferenciación hematopoyética	28
2. Factores de riesgo en leucemia mieloide y linfoblástica aguda	34
3. Abordaje médico en leucemia aguda	38
4. Estructura de las proteínas STAT	43
5. Complejo eIF3 de mamíferos	47
6. Perfil de expresión de eIF3f humano en células A549 a lo largo del ciclo celular	48
7. Detección de la expresión de eIF3f con FITC en muestras de MO de pacientes con LLA-B	49
8. Estructura de eIF3f	50
9. Efecto de eIF3f, STAT3, SNAI2 y FZD4 en la migración celular	51
10. eIF3F como proteína de andamiaje	52
11. Frotis de médula ósea	63
12. Integridad de ARN	65
13. Curva de amplificación en RT-qPCR	67
14. Ventana de CD45 contra SSC	70
15. Flujograma de trabajo para la estandarización del ensayo por RT-qPCR	75
16. Ejemplo del análisis BLAST de STAT3 β	77
17. Gel de electroforesis al 1.5% para comprobar la equimolaridad de los oligonucleótidos	78
18. Análisis de curvas de fusión	79
19. Ensayo de optimización de la concentración del gen ABL	80
20. Curva estándar para la eficiencia de la PCR en tiempo real	83
21. Variaciones en la concentración de β -2 microglobulina	84
22. Selección de la población de células inmaduras CD45-	85
23. Distribución de pacientes por grupo de edad	87
24. Distribución de inmunofenotipos en la población de estudio	89
25. Expresión de <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> en pacientes pediátricos	92
26. Expresión de <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> en pacientes adultos	93
27. Expresión de <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes pediátricos a	93
28. Expresión de <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes adultos	94
29. Expresión de <i>eIF3f</i> en pacientes con leucemia aguda	95
30. Ejemplo de correlaciones lineales en pacientes pediátricos con LLA	96
31. Relación de <i>eIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5</i> en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda	97
32. Relación de <i>eIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5</i> en pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda	97
33. Relación de <i>eIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5</i> en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda	98

34. Relación de <i>eIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5</i> en pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda	99
35. Relación de <i>eIF3f</i> con las isoformas <i>STAT3α</i> , <i>STAT3β</i> , <i>STAT5A</i> y <i>STAT5</i> en pacientes adultos con leucemia promielocítica aguda	99
36. Expresión de las isoformas <i>STAT3α</i> y <i>STAT3β</i> en pacientes con leucemia linfoblástica aguda con edad de riesgo	100
37. Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes con leucemia linfoblástica aguda con edad de riesgo	101
38. Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes con leucemia aguda con inmunofenotipo de riesgo	102
39. Expresión de las isoformas <i>STAT5A</i> y <i>STAT5B</i> en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda en relación al riesgo citogenético	102
40. Expresión de <i>eIF3f</i> en pacientes adultos con leucemia aguda por categoría de riesgo	104
41. Expresión génica en pacientes pediátricos con enfermedad mínima residual positiva y LLA	107

RESUMEN

Las leucemias agudas se caracterizan por su alta mortalidad, en México la leucemia linfoblástica aguda es el subtipo más común y predomina en la población pediátrica, mientras que la leucemia mieloide, prepondera en adultos mayores de 55 años. Las proteínas STAT3 y STAT5 tienen un papel protagónico dentro de vías impulsoras del cáncer, dado que regulan la expresión de genes clave en la progresión del ciclo celular, la diferenciación linfoide y mieloide, y la apoptosis dando como resultado el potencial clonal específico de neoplasias como las leucemias agudas. Sin embargo, otro proceso importante en la regulación de la expresión génica es la traducción del ARNm. En comparación con el control transcripcional, la regulación traduccional de ARNm preexistentes proporciona cambios más directos, rápidos y sensibles en los niveles intracelulares de las proteínas codificadas y, por lo tanto, la adaptación celular durante condiciones fisiológicas y patológicas. La regulación de la traducción eucariota tiene lugar principalmente en la fase de iniciación lo que ha llevado a investigar alteraciones en la expresión de los EIF. Un estudio propone que la subunidad f de eIF3 se asocia con STAT3 en adenocarcinoma de pulmón, sin embargo no existen publicaciones sobre la posible asociación de eIF3f de forma específica con isoformas de STAT3 y aún menos con STAT5. **Objetivo general:** Analizar la relación entre la expresión de *eIF3f* con *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* y su asociación con factores pronóstico-predictivos en adultos y niños con leucemia aguda. **Materiales y métodos:** Estudio transversal, analítico, descriptivo-comparativo. Selección de 47 pacientes pediátricos y adultos del Hospital Regional No. 1 de Morelia, Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”, Hospital General “Dr. Miguel Silva”, Hospital de alta especialidad del ISSSTE y Hospital de la mujer Morelia durante 2020-2021. Estandarización del ensayo RT-qPCR. Análisis de la expresión génica relativa de *eIF3f* con *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B*. El análisis estadístico incluye medidas de tendencia central y dispersión, prueba de normalidad Shapiro-Wilk, estudios de correlación lineal de Spearman y Pearson, comparación de medias con t de Student y análisis intergrupar con ANOVA. La significancia estadística en $p < 0.05$. **Resultados:** La expresión de eIF3f se correlaciona positivamente con las isoformas *STAT3* y *STAT5*, además los pacientes con riesgo adverso y EMR+ presentan disminución en la expresión de *eIF3f*. Se tienen distribuciones y asociaciones estadísticamente significativas de las isoformas *STAT3* y *STAT5* con la edad, citogenética,

inmunofenotipo y EMR positiva. **Conclusión:** La expresión de *eIF3f* en conjunto con las *STAT* refleja el estado de proliferación clonal, sin embargo su disminución se asocia a gravedad de la enfermedad y peor pronóstico, por lo que medir su expresión puede traducir el entorno neoplásico y orientar al manejo médico. **Palabras clave:** eIF3f, STAT3 α , STAT3 β , STAT5A, STAT5B, leucemia aguda, síntesis proteica, proliferación celular.

ABSTRACT

Acute leukemias are characterized by their high mortality. In Mexico, acute lymphoblastic leukemia is the most common subtype and predominates in the pediatric population, while myeloid leukemia predominates in adults older than 55 years. STAT3 and STAT5 proteins play a leading role in cancer-promoting pathways, since they regulate the expression of key genes in cell cycle progression, lymphoid and myeloid differentiation, and apoptosis, resulting in the specific clonal potential of neoplasms such as acute leukemias. However, another important process in the regulation of gene expression is the translation of mRNA. Compared to transcriptional control, translational regulation of preexisting mRNAs provides more direct, rapid, and sensitive changes in the intracellular levels of the encoded proteins and thus cellular adaptation during physiological and pathological conditions. The regulation of eukaryotic translation takes place mainly in the initiation phase, which has led to the investigation of alterations in the expression of EIFs. One study suggests that the f subunit of eIF3 is associated with STAT3 in lung adenocarcinoma; however, there are no publications on the possible association of eIF3f specifically with STAT3 isoforms and even less with STAT5. **General objective:** To analyze the relationship between the expression of *eIF3f* with *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* and *STAT5B* and its association with prognostic-predictive factors in adults and children with acute leukemia. **Materials and methods:** transversal, analytical, descriptive-comparative study. Selection of 47 pediatric and adult patients of Hospital Regional No. 1 de Morelia, Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”, Hospital General “Dr. Miguel Silva”, Hospital de Alta Especialidad del ISSSTE and Hospital de la Mujer Morelia during 2020-2021. Standardization of the RT- qPCR assay. Relative gene expression analysis of *eIF3F* with *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A*, and *STAT5B*. Statistical analysis includes measures of central tendency and dispersion, Shapiro-Wilk normality test, Spearman and Pearson linear correlation studies, comparison of means with Student's t-test, and intergroup analysis with ANOVA. Statistical significance at $p < 0.05$. **Results:** The expression of *eIF3f* is positively correlated with the isoforms *STAT3* and *STAT5*; in addition, patients with adverse risk and EMR+ present a decrease in the expression of *eIF3f*. There are statistically significant distributions and associations of the *STAT3* and *STAT5* isoforms with age, cytogenetics, immunophenotype and positive EMR. **Conclusion:** *eIF3f* expression together with *STAT* reflects the state of clonal proliferation, however its

decrease is associated with disease severity and worse prognosis, so measuring its expression may imply the neoplastic environment and guide medical management. **Keywords:** eIF3f, STAT3 α , STAT3 β , STAT5A and STAT5B, acute leukemia, protein synthesis, cell proliferation.

1. INTRODUCCIÓN

En el año 2018 las leucemias agudas presentaron una incidencia a nivel mundial de 249 454 nuevos casos en hombres y 187 579 en mujeres, observando un predominio en niños y adolescentes (1). La incidencia de leucemia linfoblástica aguda (LLA) en la población pediátrica es aproximadamente 4 veces mayor entre niños menores de 2 años y casi 10 veces mayor a los 19 años. Por el contrario, la leucemia mieloide aguda (LMA) es más común durante los primeros dos años de vida y su incidencia disminuye en niños de más edad, posteriormente esta patología parece tener otro pico de aparición durante la adolescencia y se convierte en la neoplasia hematológica de predominio en adultos mayores de 55 años (2).

Las leucemias agudas son definidas como un crecimiento autónomo y desmedido de células inmaduras provenientes de una clona maligna, que terminan por convertirse en el tipo celular predominante en la médula ósea (3). En esta neoplasia se han identificado numerosas vías de señalización oncogénica que propician un estado de proliferación celular descontrolado y en consecuencia el aumento en la síntesis de proteína, proceso denominado *traducción* y consiste en el traslado de una combinación de nucleótidos contenidos en el ARNm hacia la conjugación de una serie de aminoácidos que terminan por formar una nueva proteína (4).

La traducción es un proceso altamente regulado, ya que para mantener un estado de homeostasis celular es determinante el control de la síntesis global de proteínas sobre todo de aquellos ARNm envueltos en el crecimiento, supervivencia y proliferación celular (4). La traducción de un ARNm comprende 3 fases: inicio, elongación y terminación; sin embargo, es la primera fase la que supone el mayor punto de control en la síntesis proteica, en ella participan 12 proteínas auxiliares denominadas factores de inicio de la traducción eucariota (eIF; eukariotic translation initiation factor) e investigaciones recientes han asociado la desregulación de estos eIFs con diferentes condiciones patológicas, entre ellos destaca eIF3 el mayor y mas complejo de estos factores (800kDA), está compuesto de 13 subunidades ensambladas (eIF3a-m) (5). Nos resulta de particular interés la subunidad eIF3f, ya que alteraciones en su expresión han sido relacionadas con neoplasias malignas, como cancer de

mama, páncreas y melanoma, además se ha reportado que presenta picos de expresión importantes durante las fases de transición en el ciclo celular (6,7). Otra particularidad que distingue a eIF3f es que pertenece a la familia Mov34, conjunto que cuenta con un motivo N-terminal (MPN) de Mpr1/Pad que permite mediar interacciones entre proteínas y promover el ensamblaje de grandes complejos, función que ha quedado demostrada por de Esteves *et al.*, (2020) que exponen la asociación física de eIF3f con 254 proteínas ubicadas en el núcleo entre ellas el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3; signal transducer and activator of transcription 3) (8).

Las proteínas STAT son una familia de factores de transcripción citoplasmáticos que están implicados en la transducción de señales de citocinas, hormonas y factores de crecimiento. Se han identificado siete miembros en esta familia: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 (A-B) y STAT6. De forma general la activación aberrante de estas proteínas se ha visto asociada en la transformación celular maligna inducida por oncoproteínas como BCR-ABL (breakpoint cluster region-abelson) y tirosin quinasas de EGFR (epidermal growth factor receptor). Entre sus dianas se encuentran genes anti-apoptóticos como Bcl-x (B-cell lymphoma-extra large) y Mcl-1 (myeloid cell leukemia sequence-1), promotores de ciclina D1/D2 y protooncogenes de la familia MYC. Aunque es bien conocida la relevancia de esta familia de proteínas en la leucemogénesis, son STAT3 y STAT5 quienes presentan mayor asociación con leucemia mieloide y linfoblástica aguda respectivamente (9).

STAT3 y STAT5 constan de diversas isoformas, las más relevantes en leucemias agudas son STAT3 α , STAT3 β , STAT5A y STATB; alteraciones en su expresión se han relacionado con la progresión tumoral, pronósticos más sombríos y resistencia a quimioterapéuticos (10). El advenimiento de dianas terapéuticas y marcadores moleculares ha mejorado la supervivencia de pacientes con neoplasias hematológicas. Derivado de la complejidad del nicho hematopoyético es necesario establecer factores pronósticos y predictivos que designen el tipo de neoplasia, grupo de riesgo y duración e intensidad del plan terapéutico (11,12).

Las funciones particulares de las isoformas STAT3 α , STAT3 β , STAT5A y STATB han sido bien estudiadas en distintas líneas celulares neoplásicas, sin embargo su expresión en pacientes con leucemia aguda y su relación a factores pronóstico ha sido poco abordada y se conoce aún poco menos de su asociación con factores del inicio de la traducción, en esta línea no existen publicaciones sobre eIF3f en neoplasias hematooncológicas. Establecer una relación entre la expresión de eIF3f y las STAT en neoplasias hematológicas como LLA y LMA representa un punto de partida en la búsqueda de evidencia que pueda ser utilizada a futuro para la generación de marcadores pronóstico de enfermedad y/o dianas terapéuticas.

2. MARCO TEÓRICO

3.1 Hematopoyesis

Las células madre hematopoyéticas (CMH) se caracterizan por su capacidad multipotente que da origen a las células maduras que componen los elementos formes de la sangre; a este proceso de ramificación celular jerárquica se le denomina *hematopoyesis* (Fig. 1). Las CMH cumplen con las funciones de autorrenovación y diferenciación, la primera es una división simétrica que asegura que una población de CMH pueda mantenerse en el tiempo y la segunda comprende su maduración hacia progenitores, precursores y por último células efectoras maduras con función hística; esta variedad en las células hematopoyéticas puede distinguirse gracias a marcadores de superficie celular llamados cúmulos de diferenciación (CD; Cluster of differentiation) (13,14).

Las fases de la hematopoyesis en la vida fetal se designan en función del sitio anatómico donde es llevado, a saber y de forma sucesiva, la fase mesoblástica, hepática, esplénica y mieloide (médula ósea), esta última inicia desde el quinto mes de vida prenatal y concluye hasta la muerte (15). La médula ósea es un tejido conjuntivo vascular y gelatinoso localizado en la cavidad medular y ofrece a las CMH un sitio anatómico específico para prosperar llamado *nicho de células madre* ubicado en las superficies de los huesos trabeculares y el espacio perivascular, donde un conjunto de mecanismos reguladores se asocian con la autorrenovación, entre ellos se encuentran la expresión de factores intrínsecos como Bmi-1, Gfi-1, PTEN, STAT5, Tel/Atv6, p21, p18, MCL-1, Mel-18, RAE28 y Hoxb4 y extrínsecos tales como Notch, Wnt, SHH y Tie2/Ang-1 (13,14). Es importante señalar que mientras la diferenciación de las CMH progresa, su capacidad proliferativa disminuye y su persistencia puede llevar a situaciones patológicas de sobreproducción de células hematopoyéticas como sucede en las leucemias (13,15).

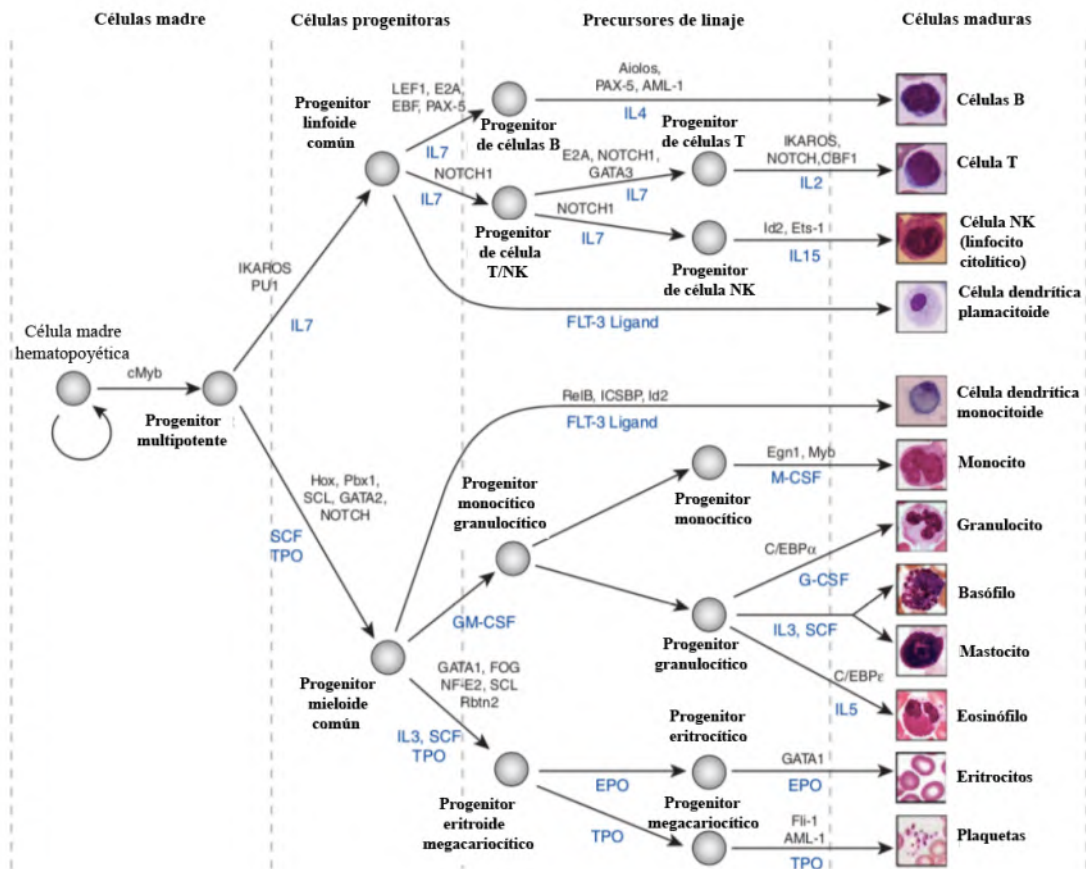


Figura 1. Jerarquía de la diferenciación hematopoyética. Los factores de transcripción que caracterizan las transiciones celulares particulares se ilustran con flechas; los factores solubles que contribuyen al proceso de diferenciación están en azul. EPO, eritropoyetina; SCF, factor de célula madre; TPO, trombopoyetina. Modificado de Longo & Harrison, 2010.

No obstante las CMH pueden conservar su capacidad multipotente al ser manipuladas *in vitro*, por lo cual tienen importante aplicación en la investigación y en pacientes sometidos a trasplante para el manejo de estados inmunodeficientes hereditarios, desórdenes metabólicos y pacientes con enfermedades hematológicas como la leucemia aguda de alto riesgo o refractaria al tratamiento. Otra fuente importante de CMH es la sangre venosa de cordón umbilical (SVCU), la facilidad en su obtención ha permitido la realización de grandes bancos de SVCU utilizados como una alternativa al trasplante de médula ósea. Entre las ventajas que enlistan las CMH procedentes de SVCU son la expansión del grupo de donantes y una disponibilidad significativamente más rápida (16). Se estima que la frecuencia de CMH CD34+ en la médula ósea de un adulto es equiparable a las presentes en SVCU con un estimado de 1 a 3% de células, mientras que la caracterización *in vitro* indica que en 1ml de SVCH existe cerca de 8 000 progenitores eritroides primitivos, entre 13 000 y 24 000 progenitores mieloides y entre 1 000 y 10 000 progenitores multipotentes (17).

3.2 Leucemia

a) Definición

Las leucemias son un grupo heterogéneo de neoplasias hematooncológicas caracterizado por el crecimiento autónomo y desmedido de formas inmaduras de leucocitos (blastos) provenientes de una clona maligna que terminan por volverse la estirpe predominante en la médula ósea, con la consecuente disminución del resto de series hematopoyéticas (3,18). Según la estirpe celular afectada se distingue entre leucemias mieloides o linfoides y por su evolución se subdividen en leucemias agudas (LA) y crónicas, siendo las primeras aquellas que conducen rápidamente a la muerte (19).

b) Epidemiología

De acuerdo con la UNICEF la mortalidad por enfermedades no transmisibles como el cáncer se ha acentuado, esto probablemente por el desplazamiento de enfermedades infecciosas que con la implementación de programas preventivos han reducido notablemente su incidencia (20). En 2020 GLOBOCAN (Global Cancer Observatory) estimó una incidencia mundial de 269 503 casos de leucemia en hombres y 205 016 en mujeres con una prevalencia a 5 años, en ambos sexos, de 1 340 506 casos (1).

En Estados Unidos la LLA es la causa más frecuente de cáncer en la población pediátrica y constituye el 12% de todas las leucemias diagnosticadas en el país; se han observado dos picos de frecuencia por edad, el primero de dos a cinco años y el segundo en la sexta década de la vida (19). La LMA por otro lado, es una enfermedad que afecta con más frecuencia a adultos que a menores, con un aumento en la incidencia de hasta 15 casos por cada 100 000 habitantes en mayores de 65 años (21).

En México la mayoría de los datos epidemiológicos provienen de reportes sobre la experiencia y lo observado en instituciones de salud de gran concentración. Por ejemplo, Santoyo-Sánchez *et al.*, (2016) estudiaron la frecuencia de los subtipos de leucemia en 1 432 casos de pacientes pertenecientes a dos instituciones de tercer nivel en el área metropolitana del Valle de México, en un periodo comprendido entre 2007 y 2014; los análisis estadísticos

mostraron que la leucemia atendida con mayor frecuencia fue la LLA con una diferencia significativa de 10 años en comparativa con LMA (32.6 vs 43.5) (3). Resultados semejantes fueron obtenidos por Pérez-Saldivar *et al.*, (2014) en su análisis detallado en población pediátrica, donde además se reporta una tasa de incidencia mayor en LLA Pre-B, el sexo masculino fue el más afectado con preeminencia en edades tempranas (1-4 años). En efecto el comportamiento de la enfermedad en la población mexicana concuerda con lo reportado a nivel mundial (22).

Entre las razones que explican la creciente incidencia de esta enfermedad es el aumento de la población senil y el crecimiento poblacional, un hecho común en países de ingresos medianos y bajos, que además presentan tasas de curación en cáncer infantil 4 veces menor en comparativa con países de alto ingreso (20,21).

c) Clasificación

Los dos sistemas más utilizados para la clasificación de los subtipos en LA son la clasificación de la Asociación Franco Américo-Británica (FAB) y el sistema de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (23).

La clasificación FAB se basa en las características morfológicas y citoquímicas de las células leucémicas, distingue entre 3 tipos de LLA: **1)** LLA típica o LLA-L1: en 75% de los casos con células B y anomalías citogenéticas t (9:22), t (4:11) y t (1:19); **2)** LLA atípica o LLA-L2: en 20% y puede estar representada por células T y anomalías citogenéticas 14q11 o 7q34; **3)** LLA parecida al linfoma de Burkitt o LLA-L3: con células B en 95% y células similares al linfoma de Burkitt con t (8:14), t (8:22), t (2:8). Además, clasifica a las de estirpe mieloide en M0, M1, M2, M3, M4, M4eos, M5, M6, M7 (Cuadro 1) (24,25).

Por otro lado, la “Clasificación de tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides de la OMS”, en relación con las neoplasias mieloides y la leucemia aguda, incorpora características clínicas, morfológicas, de inmunofenotipo, citogenética y genética molecular (Tabla 1) (26).

Tabla 1. Clasificación OMS de leucemias agudas

Leucemias agudas de linaje ambiguo
Leucemia aguda indiferenciada
Leucemia aguda de linaje mixto (MPAL) con t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1
MPAL con t(v;11q23.3); KTM2A reorganizado
MPAL, B/mieloide, NOS
MPAL, T/mieloide, NOS
Leucemia / linfoma linfoblástico de células B
Leucemia / linfoma linfoblástico de células B, no especificado de otra manera (NOS)
Leucemia / linfoma linfoblástico de células B, con alteraciones genéticas recurrentes Leucemia linfoblástica de células B / linfoma con hipodiploidía Leucemia linfoblástica de células B / linfoma con hiperdiploidía Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con t (9;22) (q34;q11.2) [BCR-ABL1] Leucemia linfoblástica de células B / linfoma con t (v; 11q23) [MLL reordenado] Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con t (12;21) (p13;q22) [ETV6-RUNX1] Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con t (1; 19) (q23;p13.3) [TCF3-PBX1] Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con t (5; 14) (q31; q32) [IL3-IGH] Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con amplificación intracromosómica del cromosoma 21 (iAMP21) (entidad provisional) Leucemia / linfoma linfoblástico de células B con translocaciones que involucran tirosina quinasas o receptores de citosinas ('BCR-ABL1—like ALL') (entidad provisional)
Leucemia/linfoma linfoblástico T
Entidad provisional: leucemia linfoblástica de célula T precursora temprana
Entidad provisional: leucemia/linfoma linfoblástico de células NK
Leucemia mieloide aguda
Leucemia mieloide aguda con alteraciones genéticas recurrentes LMA con t (8:21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 LMA con inv (16; 16) (p13.1; q22); CBFβ-MYH11 LPA (M3) con PML-RARA LMA con t (9; 11) (p23; q34.1); DEK-NUP214 LMA con inv (3) (q21.3q26.2) o t (3; 3) (q21.3; q26.2); GATA2, MECOM LMA (megacarioblástico) con t (1;22) (p13.3;q13.3); RBM15-MKL1 LMA con BCR-ABL1 (entidad provisional) LMA con NPM1 mutado LMA con mutaciones bialélicas de CEBPA alfa LMA con RUNX1 mutado (entidad provisional)
LMA con cambios relacionados a mielodisplasia
Neoplasias mieloides relacionadas con la administración previa de quimioterapia o radiación (LMA-t)
LMA no especificada (NOS): define LMA con ≥ 20% LMA con mínima diferenciación (M1) LMA sin maduración LMA con maduración (M2) Leucemia mielomonocítica aguda (M4) Leucemia monoblástica/monocítica aguda (M5) Leucemia eritroide pura (M6) Leucemia megacarioblástica aguda (M7) Leucemia basofílica aguda Panmielosis aguda con mielofibrosis
Sarcoma mieloide
Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down Mielopoyesis anormal transitoria (TAM) Leucemia mieloide asociado con síndrome de Down
ABREVIATURAS: LPA: leucemia promielocítica aguda; MPAL: Mixed phenotype acute leukemia; PML-RARA: Promyelocytic leukemia/retinoic acid receptor alpha (por sus siglas en inglés). Modificado de Arber <i>et al.</i> , 2016; Terwilliger & Abdul-Hay, 2017.

Dentro de la clasificación fenotípica existe un tipo de expresión aberrante (infidelidad) de antígenos donde casos con LLA expresan antígenos mieloides asociados (My⁺ LLA), y casos de LMA que expresan antígenos linfoides asociados (Ly⁺ LMA). Asimismo, se han observado leucemias agudas de linaje mixto (MPAL; mixed-phenotype acute leukemia) definidas como un grupo heterogéneo de leucemias con escasa diferenciación, para su clasificación la OMS propone identificar la expresión de marcadores

específicos, en el caso de las células T la expresión del CD3 citoplasmático y en el caso de antígenos mieloides la expresión de mieloperoxidasa (MPO) y antígenos de diferenciación monocitoide. Para las leucemias de progenitores de células B no se define un antígeno único o específico, pero se recomienda el predominio en la expresión de CD19 junto con otro antígeno de linaje de células B asociado, o en caso de una débil expresión de CD19, se debe tener la expresión de al menos 3 marcadores de linaje B (Tabla 2) (27–29). Debido a esta variedad en la expresión fenotípica el Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de la Leucemia (EGIL; European Group for Immunophenotypic characterization of Leukemias) implementó un sistema de puntajes que dan grado de especificidad a los linajes hematopoyéticos linfoide y mieloide (Tabla 3) (28).

Tabla 2. Anticuerpos monoclonales habitualmente utilizados en la inmunofenotipificación de leucemias agudas

Línea celular	Subtipo	Características fenotípicas
LLA-B	B-I (pro-B)	CD19, CyCD79, CD22* resto negativos
	B-II (común ALL; "CALLA")	CD10
	B-III (pre-B)	CD10 más Cylgμ
	B-IV (B madura)	CD10, Cylgμ más slgM
LLA-T	T-I (pro-T)	cCD3, CD7** resto negativos
	T-II (pre-T)	CD2,CD5,CD4 y/o CD8 [±]
	T-III (timocito cortical)	CD1a, CD3
	T-IV (T madura)	CD3
CMH/CPH		CD34, CD117, CD13, HLA-DR, TdT [†]
LMA	Precursor	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR, CD45
	Granulocitos	CD65, CyMPO [‡]
	Monocitos	CD11b, CyCD11, CD14, CD36, CD64, lisozima, CD13, CD15, CD16, CD33, CD65 CyMPO
	Megacariocitos	CD42 (glucoproteína Ib), CD41 (glucoproteína Iib/IIIa), CD61 (glucoproteína IIIa), CD36
	Eritroides	CD235a (glicoforina A), CD36, CD71
	Basófilo, mastocito y dendrítica plamocitoide	CD123, CD203, CD22

*positivos en todos los subtipos de LLA-B

**positivos en todos los subtipos de LLA-T

± el conjunto de marcadores pueden o no estar presentes en T-III y T-IV

† TdT (desoxirribonucleotidil transferasa terminal) esta ausente en las células del linfoma por lo que es útil para establecer diagnóstico diferencial

‡ MPO (mieloperoxidasa) es la primera enzima que aparece durante la diferenciación mieloide por lo que se considera el sello distintivo de estas células

ABREVIATURAS: CMH: células madre hematopoyéticas; CPH: células precursoras hematopoyéticas; slgM: Inmunoglobulinas de superficie o de cadena ligera; Cy; citoplásmico

Tabla adaptada de Béné *et al.*, 2011, E. Agriello *et al.*, 2017, Döhner *et al.*, 2017.

Tabla 3. Clasificación Inmunológica de la Leucemia (EGIL)

Puntos	Linfoide B	Linfoide T	Mieloide
2	CD79, CD22, CylgM	CD3	MPO*
1	CD19, CD10	CD2, CD5	CD3, CD33
0.5	TdT	TdT, CD7	CD14, CD15, CD11b, CD11c

*MPO (mieloperoxidasa) demostrada por métodos citoquímicos o inmunológicos

Bifenotipia se presenta cuando el valor del puntaje es mayor 2 para el linaje mieloide y uno para el linaje linfoide

Modificado de E. Dorantes-Acosta *et. al.*, 2013

d) Evaluación clínica y diagnóstica

- **Cuadro clínico**

Las manifestaciones clínicas en leucemias agudas varían en proporción al grado de insuficiencia medular, infiltración extramedular y la línea celular afectada. La presentación puede ser inespecífica, con signos de insuficiencia medular (anemia, trombocitopenia y leucopenia) y dentro de la sintomatología resultante se observan 'síntomas B' (fiebre, pérdida de peso, sudoración nocturna), hemorragia, equimosis, disnea de esfuerzo, infecciones recurrentes, astenia y adinamia, además dolor en periostio, hueso y/o articulaciones secundario a infiltración leucémica (25,26).

La afectación de sitios extramedulares ocurre comúnmente en LLA, el hígado, bazo y los ganglios linfáticos son los sitios más afectados y el grado de organomegalia es superior en niños que en adultos (24,25). La LLA de células T también puede presentarse con una masa mediastínica. La afectación del SNC al momento del diagnóstico ocurre en 5 a 8% de los pacientes y se presenta como déficit de nervios craneales o meningismo (25).

El alto número de leucocitos puede causar 3 complicaciones principales: coagulación intravascular diseminada, síndrome de lisis tumoral y leucostasis, ésta última es común en pacientes con LMA cuyos síntomas son visión borrosa, mareos, cefalea, confusión, priapismo, disnea, dolor óseo, lisis tumoral e insuficiencia renal (30).

El hecho de que los blastos mieloides son más grandes que los linfocitos inmaduros o los granulocitos maduros y que los blastos leucémicos son considerablemente menos

deformables que los leucocitos maduros explican la mayor incidencia de complicaciones leucostáticas en la LMA en comparación con la LLA, la leucemia mieloide crónica o la leucemia linfocítica crónica (13,23).

La información clínica obtenida es esencial para el diagnóstico correcto, clasificación y/o la determinación del pronóstico, se debe indagar en la sintomatología y signos sugestivos de LA, y además recolectar información sobre posibles factores predisponentes (Fig. 2), por último un examen físico completo de signos sugestivos de la enfermedad (13,25,31).

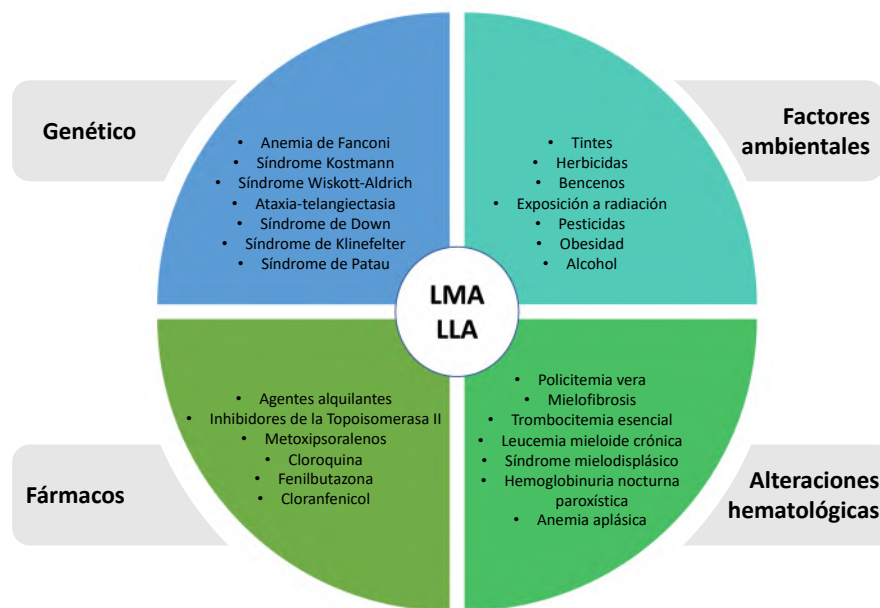


Figura 2. Factores de riesgo en leucemia mieloide y linfoblástica aguda.

Los estudios de laboratorio realizados en muestras de sangre periférica incluyen un recuento sanguíneo completo con diferencial y frotis para evaluar diferentes líneas celulares hematopoyéticas, perfiles de coagulación, química sanguínea, electrolitos séricos completos y pruebas de función hepática; las concentraciones séricas de deshidrogenasa láctica son elevadas en la mayoría de los pacientes y se relacionan con el grado de infiltración leucémica, por lo que es un marcador determinante para el pronóstico de la enfermedad. Asimismo, el aumento de las concentraciones séricas de ácido úrico es común cuando hay gran carga leucémica, pues refleja aumento del catabolismo de las purinas (23).

La punción lumbar es una prueba importante que debe practicarse a todo paciente con leucemia linfoblástica, en especial de LLA de estirpe B. El procedimiento se lleva a cabo para estudiar el líquido cefalorraquídeo en búsqueda de células blásticas. De forma habitual la leucemia del sistema nervioso central se define por la aparición de al menos cinco leucocitos por microlitro de líquido cefalorraquídeo con células blásticas (32).

La confirmación de un porcentaje de blastos de al menos 20% en sangre periférica o médula ósea es un requisito de la OMS para el diagnóstico de LA, excepto para la LMA con las anomalías genéticas recurrentes t (15; 17), t (8; 21), inv (16) ot (16; 16). Un recuento diferencial manual de células realizado en muestras de aspirado de médula ósea es el procedimiento estándar mediante el cual se lleva a cabo el conteo de blastos (23).

Por último la OMS ha recomendado hacer uso de un enfoque integrado que tome en cuenta el estudio morfológico, citoquímico, de inmunofenotipo, citogenética y genética molecular [principalmente técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Polymerase chain reaction) e hibridación fluorescente *in situ* (FISH; Fluorescence *in situ* hybridization)] (33,34).

- **Inmunofenotipo**

En los últimos 10 años la inmunofenotipificación por citometría de flujo ha mantenido su posición como herramienta diagnóstica indispensable. La invención de paneles de detección más amplios y la disponibilidad de una gama ampliada de anticuerpos y fluorocromos han encaminado a la precisión diagnóstica de esta metodología. Además, la rapidez de su ejecución permite al médico estratificar la enfermedad de forma oportuna (35).

Los biomarcadores celulares que se detectan fácilmente mediante inmunofenotipificación permiten una definición adecuada del linaje y diferenciación de las neoplasias hematológicas, mientras que las anomalías citogenéticas o moleculares caracterizan aún más subconjuntos de estas enfermedades que a veces pertenecen a la misma familia inmunofenotípica. Por lo tanto, se requiere la elección pertinente de un panel de anticuerpos bastante grande en el momento del diagnóstico para orientar los estudios

moleculares adicionales y, lo que es más importante, las opciones terapéuticas para cada paciente (33).

- **Perfil citogenético y molecular**

Como ya se mencionó uno de los preceptos para la estratificación de las leucemias es la identificación de aberraciones genéticas, además de esto, su detección coadyuva en la determinación de mejores enfoques terapéuticos. El objetivo principal de estas herramientas diagnósticas es la identificación de marcadores moleculares, la OMS define un *biomarcador* como cualquier sustancia, estructura o proceso que se puede medir para predecir la incidencia del desarrollo de enfermedades (34).

Para considerar de manera confiable a un paciente como cariotípicamente normal, se recomienda realizar un análisis completo de al menos 20 células en metafase (34). Con pruebas ampliamente disponibles en laboratorios académicos y de referencia, la citogenética convencional revela una anormalidad clonal en 40% a 50% de los pacientes con LMA y en 60% a 85% de los pacientes con LLA; por tal motivo el estudio de los cambios genéticos moleculares en pacientes con perfil citogenético normal representa un papel crucial en el diagnóstico, pronóstico y plan terapéutico (36).

Por otro lado, estudios como la técnica FISH, son realizados de forma complementaria y no se recomienda su aplicación rutinaria fuera de un ensayo clínico, ya que puede ser una tecnología costosa y redundante, sin embargo está especialmente justificada en pacientes con citogenética normal en LMA con morfología de la médula ósea FAB M3, M3v y M4Eo (25,26). En un estudio realizado por Kwon *et al.*, (2010) se mostró que las aberraciones genéticas detectadas por FISH aportaron poca información genética adicional en LMA y síndromes mielodisplásicos (SMD). Por otro lado, en neoplasias linfoides FISH se convierte en una herramienta invaluable para identificar cambios genéticos específicos distintos del cariotipo con banda G, como lo son las anomalías genéticas *ETV6* y *CDKN2A*, que pueden ser adicionalmente detectadas por esta técnica hasta en un 28% y 33%, respectivamente (36). Por lo tanto se concluye que el enfoque FISH debe

planificarse estratégicamente para contribuir con información adicional a la proporcionada por el cariotipo con banda G convencional (37).

Además del cariotipo con banda G y FISH actualmente se están empleando técnicas de PCR siendo de particular interés, la PCR multiplex de transcripción inversa útil en la identificación simultánea de numerosas translocaciones diferentes o reordenamientos cromosómicos (37,38).

e) Tratamiento

- **Factores pre-tratamiento**

La respuesta al tratamiento y la supervivencia general de los pacientes con LA es heterogénea y se encuentra ligada a variables pronósticas relacionados con las características clínicas que están presentes en el paciente al momento del diagnóstico, así como las características biológicas y genéticas de las células leucémicas y la respuesta temprana al tratamiento (Tabla 4). (p. Ej., sistemas de clasificación de riesgos del Children's Oncology Group y el Berlin-Frankfurt-Münster) (39, 40). Sin embargo, los modelos que incorporan todos estos factores y tienen como objetivo predecir si un paciente con un conjunto dado de covariables tendrá una remisión o esperanza de vida más prolongada que otro paciente con un conjunto diferente de covariables son correctos en sólo el 75% al 80% de los casos. Esto enfatiza la necesidad no sólo de identificar el factor pronóstico previo al tratamiento, sino también de enfocarse en los eventos posteriores al mismo, en particular la presencia de EMR (enfermedad mínima residual) (Fig. 3) (31,41).

Abordaje médico en leucemia aguda

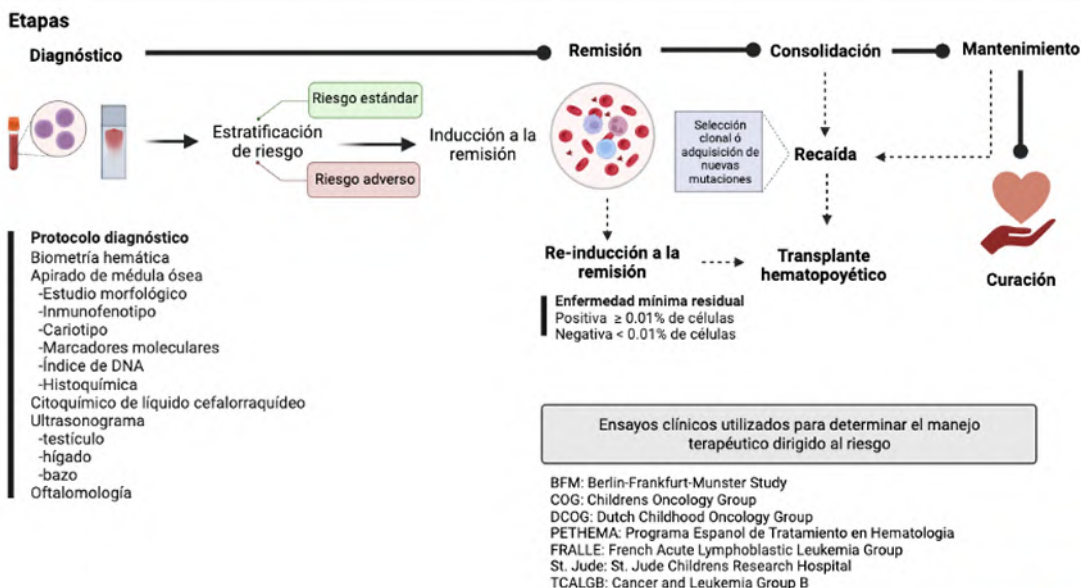


Figura 3. Abordaje médico en leucemia aguda. Se esquematiza el abordaje general en leucemias agudas, los fármacos utilizados así como su posología son elegidos acorde al subtipo de leucemia y a ensayos clínicos establecidos por diferentes grupos de estudio. Elaborado por Bautista Verduzco.

Tabla 4. Factores pronósticos importantes en leucemia linfoblástica aguda

FACTORES PRONÓSTICO		
ADULTOS	RIESGO ESTÁNDAR	RIESGO ADVERSO
Edad (años)	<35	>60
Conteo inicial de leucocitos ($\times 10^9/L$)	<30 para LLA-B <100,000 para LLA-T*	>30 para LLA-B* >100 para LLA-T
Inmunofenotipo	Células T medias (timocito cortical) T-III	T-IV (madura) y temprana T-I pro-T, T-II pre-T
Genotipo	Normal, Hiperdiploidia >50 Cr, t(12:21)*	BCR-ABL1 MLL-AF4/ otro MLL Hipodiploidia <44 Complejo (≥ 5 anomalías no relacionadas)
Enfermedad mínima residual en el final de la inducción	<0.01%	$\geq 1\%$
Infiltración a SNC	Ausente	Presente
PEDIÁTRICOS	RIESGO FAVORABLE	RIESGO ADVERSO
Edad (años)	1 a 9	<1 ó ≥ 10
Conteo inicial de leucocitos ($\times 10^9/L$)	<50	>50
Genotipo	Hiperdiploide >50 ETV6-RUNX1	Hipodiploide <44 BCR-ABL1 MLL-AF4/ otro MLL
Enfermedad mínima residual en el final de la inducción	<0.01%	$\geq 1\%$
Infiltración a SNC	Ausente	Presente

*Datos complementarios de GPC IMSS-142-08

A diferencia de la LLA pediátrica, debido a los peores resultados en los ensayos con adultos, ningún grupo se considera de riesgo favorable; más bien, los grupos de pronóstico en la LLA de adultos se distinguen por características estándar o adversas Stock Wendy, 2010. Programa de Hematología Am Soc Hematol Educ (1): 21–29.

Modificado de Stock Wendy, 2010.

Por otro lado, la LMA al ser una enfermedad propia de pacientes seniles, el aumento de la edad acompañado de comorbilidades y/o enfermedades degenerativas específicas modulan la tolerancia a la quimioterapia (31, 42). Sin embargo, siempre es importante

considerar la existencia de factores de riesgo como es la exposición previa a terapia citotóxica para otros trastornos, por lo tanto, se debe tener presente que la edad no debería ser el único factor determinante de las decisiones de tratamiento (43). Con el fin de mejorar la estratificación e riesgo en LMA, la Red Europea de Leucemias (ELN; European LeukemiaNet) ha integrado características citogenéticas y moleculares (p. Ej., *FLT3-ITD*, *CEBPA* y *NPM1*) generando así tres grupos de riesgo pronóstico que difieren según las tasas de remisión completa, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global (Tabla 5) (42,44).

Tabla 5. Estratificación de riesgo del ELN por genética 2017

Estratificación del riesgo genético-molecular del ELN 2017 para LMA	
Categoría de riesgo*	Anormalidad genética
Favorable	t (8; 21) (q22; q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv (16) (p13.1;q22) o (16; 16) (p13.1;q22); CBFβ-MYH11 NPM1 mutado sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ^{bajo} † CEBPA bialélica mutada
Intermedio	NPM1 mutado y FLT3-ITD ^{alto} † NPM1 de tipo salvaje sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ^{bajo} † (sin lesiones genéticas de riesgo adverso) t (9;11) (p21.3; q23.3); MLLT2-KMT2A ‡ Anomalías citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas
Adverso	t (6; 9) (p23; q34.1); DEK-NUP214 t (v; 11q23.3); KMT2A reorganizado t (9; 22) (q34.1; q11.2); BCR-ABL1 inv (3) (q21.3q26.2) ó t(3; 3) (q21.3; q26.2); GATA2, MECOM (EV11) -5 o del (5q); -7; -17 / abn(7p) Cariotipo complejo [§] , cariotipo monosómico [±] NPM1 tipo salvaje y FLT3-ITD ^{alto} † RUNX1 [¶] mutado ASXL1 [¶] mutado TP53 mutado [#]

* El impacto pronóstico de un marcador depende del tratamiento y puede cambiar con nuevas terapias.

† Razón alélica baja (<0,5); relación alélica alta (≥0,5); la evaluación semicuantitativa de la proporción alélica FLT3 -ITD (usando análisis de fragmentos de ADN) se determina como la proporción del área bajo la curva "FLT3 -ITD" dividida por el área bajo la curva "FLT3- tipo salvaje"; estudios recientes indican que la LMA con mutación NPM1 y una proporción alélica baja de FLT3 -ITD también pueden tener un pronóstico más favorable y los pacientes no deben ser asignados de forma rutinaria a un TCH alogénico.

‡ La presencia de t (9; 11) (p21.3; q23.3) tiene prioridad sobre las mutaciones genéticas de riesgo adverso raras y concurrentes.

§ Tres o más anomalías cromosómicas no relacionadas en ausencia de 1 de las translocaciones o inversiones recurrentes designadas por la OMS, es decir, t (8; 21), inv (16) ot (16; 16), t (9; 11), t (v; 11) (v; q23.3), t (6; 9), inv (3) ot (3; 3); AML con BCR - ABL1 .

± Definido por la presencia de 1 monosomía única (excluyendo la pérdida de X o Y) en asociación con al menos 1 monosomía adicional o anomalía cromosómica estructural (excluyendo AML con factor de unión al núcleo).

¶ Estos marcadores no deben usarse como un marcador de pronóstico adverso si concurren con subtipos de AML de riesgo favorable.

Las mutaciones de TP53 se asocian significativamente con AML con cariotipo complejo y monosómico.

Fuente: Döhner, Hartmut et al. "Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel." Blood vol. 129,4 (2017): 424-447. doi:10.1182/blood-2016-08-733196

- **Esquema terapéutico**

El tratamiento en pacientes con neoplasias hematológicas implica la necesidad de cuidados de apoyo intensivos (p. Ej., transfusiones, manejo de complicaciones infecciosas,

así como apoyo emocional y financiero), la evaluación y el tratamiento se coordinan mejor por un equipo multidisciplinario integrado por médicos de atención primaria, oncólogos/hematólogos, médicos pediátricos, enfermeras especialistas en pediatría/oncología, psicólogos, etc., reunidos en centros oncológicos u hospitales con todas las instalaciones de cuidados de apoyo necesarias, que además faciliten a los pacientes el acceso a ensayos clínicos con agentes terapéuticos nuevos más allá del estándar de atención (40,45,46).

La estructura del tratamiento en adultos con LLA ha sido adaptado de los protocolos pediátricos (Fig. 3). El tratamiento generalmente se divide en las siguientes fases:

- a) Quimioterapia de inducción a la remisión (en el momento del diagnóstico).**
Consiste en 4 a 6 semanas e incluye un glucocorticoide (prednisona o dexametasona), vincristina, una preparación de asparaginasa, el uso opcional de una antraciclina y quimioterapia intratecal. Casi todos los pacientes logran la remisión, pero esto no es una cura, ya que la recaída suele ocurrir universalmente sin terapia adicional (39).

- b) Terapia de posinducción (después de lograr la remisión completa).**
 - Terapia de consolidación/intensificación. Incluye 6 a 8 meses de quimioterapia combinada intensiva diseñada para consolidar la remisión y prevenir el desarrollo de leucemia manifiesta del SNC. Posteriormente, se administra el tratamiento en una fase de intensificación retardada de 8 semanas (protocolo II) basado en el protocolo I de Berlín-Frankfurt-Münster de 8 semanas. Los ciclos repetidos de metrotexato, administrados a través de una infusión corta o en dosis altas durante 24 horas seguidas de la administración de ácido folínico para "rescatar" los tejidos normales de los efectos tóxicos, son un componente crítico de los regímenes actuales de LLA (39).

- Terapia de mantenimiento de baja intensidad. Basada en “antimetabolitos” durante 18 a 30 meses. Esta terapia consiste en mercaptopurina o tioguanina oral diaria y metotrexato oral semanal (40,46).

El trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TCMH) en pacientes con LLA se usa con mucha más frecuencia después de una recaída (en $\geq 50\%$ de los pacientes) que durante la terapia primaria (en 5 a 10% de los pacientes). La evaluación de la respuesta mínima residual a la enfermedad puede ser útil para determinar qué pacientes deben someterse a un trasplante durante una segunda remisión y cuáles no (39).

Aunque se ha caracterizado cada vez más un número creciente de distintos subconjuntos de LMA, el tratamiento de los pacientes se ha mantenido decepcionantemente uniforme, sin presentar cambios sustanciales en más de 30 años. Si se excluye la leucemia promielocítica aguda, el tratamiento actual de la LMA todavía depende en gran medida de la quimioterapia convencional intensiva y el TCMH, al menos en pacientes más jóvenes que pueden tolerar estos tratamientos intensivos. Se ha generado evidencia sobre el aumento de las dosis estándar de los fármacos utilizados en la terapia de inducción intensiva, así como procedimientos de TCMH más seguros, lo que hace posible que una mayor proporción de pacientes alcance una remisión duradera (41,47).

La edad y la genética de riesgo de los pacientes con LMA juegan un papel decisivo en la elección de pacientes candidatos para la quimioterapia de inducción intensiva. La combinación estándar “7 + 3” se compone de una infusión continua de 7 días de citarabina a la dosis de 100 o 200 mg/m² por día los días 1 a 7 y daunorrubicina a 60 mg/m² por día en los días 1 a 3. Mientras que los regímenes de consolidación incluyen citarabina como agente único en dosis altas y quimioterapia de agentes múltiples que conducen a resultados similares (41).

En resumen abordaje terapéutico en todos los subtipos de leucemia consiste en las fases previamente mencionadas (Fig. 3), sin embargo dada la naturaleza altamente heterogénea de las LA se utilizan diversos protocolos terapéuticos que difieren en su

posología y combinación medicamentosa, estas combinaciones son propuestas por distintos grupos de investigación y han evolucionado con el desarrollo de dianas terapéuticas tal es el caso de los inhibidores de FLT3 (Fms-like tyrosine kinase 3) (12,48,49).

f) Oncogénesis

Existen 2 variables que definen al cáncer: la proliferación celular atípica y la invasión hística ó metástasis; en consecuencia, entendemos conceptualmente como *neoplasia benigna* a la proliferación celular atípica sin metástasis. La génesis del fenotipo maligno o canceroso implica alteraciones genéticas en las vías de señalización que regulan en la célula su proliferación, supervivencia, reparación de ADN y otros aspectos como motilidad, invasión y angiogénesis (13).

Se han identificado poblaciones tumorigénicas en leucemias (fenotipo CD34+ y CD38-) que cumplen con las funciones de autorrenovación de las CMH, motivo por el cual se propone llamarlas “*Células madre cancerígenas*” (50,51). Conforme evoluciona el desarrollo clonal en estas células sobreviene un cúmulo de alteraciones en dos clases de genes: los clase I que afectan de forma positiva (*oncogenes*) o negativa (*oncosupresores*) su crecimiento y proliferación mientras que los clase II que perjudican a la diferenciación celular. El potencial clonogénico de este fenotipo maligno se puede ver orquestado en respuesta a estímulos extracelulares que son transmitidos hasta el núcleo a través de vías de transducción de señales. (51,52).

- **Transducción de señales en leucemias agudas**

Las vías de transducción de señales son directamente afectadas por por translocaciones y deleciones cromosómicas así como mutaciones puntuales (52,53). Tal es el caso de las mutaciones que dirigen la autofosforilación y activación de FLT3 que desencadena la subsecuente fosforilación de numerosas proteínas que pueden incluirse en tres vías principales de transducción de señales, incluidas las vías PI3K/Akt/mTOR, RAS/MAPK y STAT5 (51,54).

Las familia de las proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción (STAT; Signal Transducer and Activator of Transcription) son objetivos comunes para diferentes oncogenes de tirosina quinasa (TEL-ABL, BCR-ABL, JAK2^{v617F} y esta conformada por siete miembros, algunos de ellos presentan además distintas isoformas: STAT1, STAT2, STAT3 (α , β , γ , δ ,) STAT4, STAT5 (A/B) y STAT6. Comparten una arquitectura estructural similar que incluye cinco dominios (Fig. 4). Son activadas mediante la fosforilación de residuos de tirosina y serina en el dominio SH2 por oncogenes de tirosina quinasa (TEL-ABL, BCR-ABL, JAK2^{v617F}), receptores de factores de crecimiento (eg EGFR y PDGFR) y distintas interleucinas y citocinas. Esto da como resultado la dimerización de las proteínas STAT y su translocación al núcleo donde se unen a elementos de unión específicos en el ADN e inducen la transcripción de sus genes diana con efecto sobre procesos celulares fundamentales como supervivencia, proliferación, diferenciación y respuesta inmunitaria (55,56).

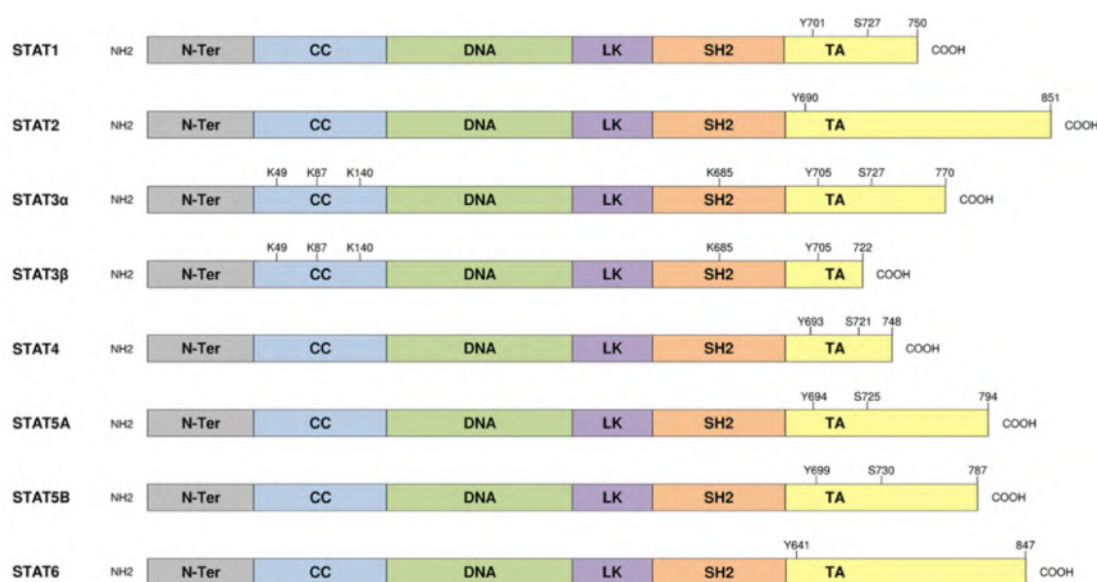


Figura 4. Estructura de las proteínas STAT. Se observan isoformas truncadas resultado de modificaciones postraduccionales mediante empalme alternativo, resultando en la escisión proteolítica del TAD. La isoforma STAT3 α consiste en 770 aminoácidos y STAT3 β se reduce a 722. Las isoformas carentes de residuos de activación las convierte en formas dominante-negativas de las isoformas completas. STAT5A Y STAT5B presentan hasta un 90% de homología estructural. Dominio N-H2 terminal (ND; NH2-terminal domain), dominio de espiral (CCD; Coiled-coil domain), dominio de unión al ADN (DBD; DNA binding domain), dominio L-enlazador (LD; Linker domain) dominio de homología Scr 2 (SH2; Scr homology 2 domain) y dominio de transactivación C-terminal (TAD; Transactivation domain). Tomado de Zangbéwendé Guy Ouédraogo *et al.*, 2016.

Investigaciones en diferentes tumores sólidos como próstata, mama, colon, gliomas, cáncer de cabeza y cuello, melanoma y neoplasias hematopoyéticas han encontrado mutaciones de ganancia de función en 3 de estos miembros, STAT3, STAT5 A y B, ocurriendo principalmente dentro de dominios de activación lo que permite una vida útil más prolongada del estado de fosforilación y su hiperactivación (57,58).

La activación constitutiva de las STAT protege a las células de las respuestas a fármacos citotóxicos, permitiendo a las células tumorales superar su dependencia de citocinas y factores de crecimiento, algo observado en ratones con la mutación agresiva STAT5B^{N642H} (59). La ganancia de función de STAT5B^{N642H} se ha encontrado sobre todo en neoplasias hematológicas de células T y se ha relacionado con resistencia a inhibidores de cinasa y mayor riesgo de recaída (60,61). Sin embargo, formas no mutadas también han sido relacionadas con resistencia a este tipo de fármacos, Brachet-Botineau, M *et al.*, (2019) evaluaron el uso de un inhibidor selectivo de la señalización de STAT5 en líneas celulares de leucemia mieloide crónica y LMA con resistencia a mesilato de imatinib (IM) y citarabina (Ara-C), se observó que la combinación de IM y el inhibidor de STAT5 aumentó 5 veces el número de células apoptóticas en comparación a las células tratadas únicamente con IM, se encontró además que este inhibidor sensibiliza a las células resistentes a IM al dirigirse a la isoforma STAT5B (58). Estudios *in vivo* han identificado que esta isoforma desempeña un papel dominante y permite la transformación de las células leucémicas y la propagación de la enfermedad, ratones inyectados con células STAT5B^{-/-} no solo desarrollan tumores significativamente más pequeños frente a la ausencia de STAT5A y el grupo control sino que además tienen una supervivencia 3 veces mayor (62).

Tanto STAT5 como STAT3 tiene funciones biológicas importantes involucradas con el sistema inmune, por ejemplo se ha demostrado que son necesarios para la transformación mieloide y linfóide inicial aguas abajo de Bcr/Abl^{p210} al inducir la delección de ambas proteínas se observaron reducciones significativas en los números de colonias (63).

STAT3 es un factor importante en la respuesta a la familia de IL-6 que incluye citocinas como OSM (oncostatin M) y LIP (factor inhibidor de leucemia; leukemia inhibitory

factor) además, su importancia en la progresión de neoplasias hematológicas reside al modular la transcripción de genes relacionados con la migración (MMP-3, MMP-9) y apoptosis (Bcl-xL, Bcl-2, Survivina y Mcl-1) (64).

Entre la estructura de las isoformas de STAT3, se distinguen las isoformas STAT3 α (92kDa; 770 aminoácidos) y STAT3 β (84kDa; 722 aminoácidos). STAT3 β se caracteriza por ser una forma truncada de STAT3 α , resultado de la eliminación de 50 nucleótidos en el exón 23 que condiciona un cambio en el marco de lectura que introduce 7 residuos de aminoácidos alternativos, seguidos de un codón de terminación, resultando en una delección de 55 aminoácidos en el extremo 3' lo que condiciona un TAD mucho más corto y la pérdida del residuo S727. Como resultado se han atribuido funciones biológicas antagónicas entre ambas isoformas, ya que la presencia de un TAD mucho más corto en STAT3 β le brinda mayor estabilidad y actividad de unión al ADN, asimismo carece de capacidad de transactivación en varios genes diana de STAT3 α , además se ha encontrado que STAT3 β puede revertir la activación transcripcional de Bcl-xL. Estos y otros antecedentes señalan la isoforma STAT3 β como un factor inhibitorio transcripcional dominante de STAT3 α (65).

Mediante ensayos de luciferasa en linfomas anaplásicos de células grandes Chiarle, R *et al.*, (2005) observaron que la presencia de STAT3 β disminuyó hasta el 90% y 60% la activación de STAT3 aún en presencia de NPM-ALK y vSRC respectivamente, mientras que la activación de STAT3 en ausencia de esta isoforma fue de un 290% (66). El rol de STAT3 β como regulador negativo de la activación de STAT3 en neoplasias hematológicas quedó comprobado también por Aigner *et al.*, (2019) al analizar la expresión relativa de ARNm de STAT3 α y STAT3 β en pacientes con LMA, aquellos casos en los que la proporción entre STAT3 β /STAT3 α fue de 0.034, mostraron mayor tiempo de supervivencia a 7 años, mientras que aquellos con una proporción STAT3 β /STAT3 α de 0.002, presentaron una marcada disminución de supervivencia dentro del primer año de seguimiento, falleciendo en este grupo poco más de la mitad de los casos analizados (67). La migración celular propiciada por STAT3 ha sido observada en ratones donde la sobreexpresión de STAT3 fomentó la diseminación de células de linfoma de células B grandes (DLBCL; anaplastic large cell lymphomas) y aumentó 3 veces el número de sitios de diseminación comparado con el

control, mientras que el número de células tumorales circulantes llegó hasta 200 sin afectar el tumor primario (68). Una de las vías mediante la cual STAT3 participa en la migración es al inducir la expresión de TWIST1, un factor de transcripción básico de hélice-bucle-hélice altamente conservado que induce la transición epitelial mesenquimal y por tanto la metástasis en células cancerosas (69).

Mediante secuenciación unicelular de 200.000 transcriptomas unicelulares de células mononucleares de médula ósea (BMMC) y sus subconjuntos de 23 muestras clínicas Qin, P. *et al.*, (2021) encontraron diversidad de células leucémicas entre pacientes, algunos conjuntos de genes son compartidos, lo que indica que a pesar de que los pacientes son genéticamente específicos comparten vías de progresión tumoral. Por ejemplo se ha observado vías de señalización como IL-2-STAT5 y IL-6-JAK-STAT3 reguladas a la alza en varios cánceres (70). En este último eje Stevens, A *et al.*, (2015) observaron en muestras de médula ósea de pacientes pediátricos con LMA un aumento de la respuesta de pY-STAT3 a IL-6 en la recaída fue un marcador de mal pronóstico disminuyendo la supervivencia general a 3 años desde la recaída a $27 \pm 18\%$ (71). Debido a la interacción que envuelve STAT3 con diversas proteínas Blumert, C *et al.*, (2013) realizaron marcaje de isótopos estables con aminoácidos en cultivo celular (SILAC) y encontraron 136 posibles socios de interacción a STAT3 entre ellos resalta la asociación directa o indirecta con muchos factores de inicio de la traducción eucariota (eIF; *eukaryotic initiation factors*), tal es el caso de eIF5, eIF4B, eIF3B, eIF3C (72).

- **Control traduccional de vías de señalización oncogénicas**

La expresión génica en eucariotas depende de varias vías postranscripcionales, incluido la maduración, exportación, traducción y renovación del ARNm. La traducción, el proceso mediante el cual se sintetiza una proteína utilizando un ARNm como plantilla, comprende cuatro fases: inicio, alargamiento, terminación y reciclaje (5,7). La fase de inicio de la traducción es considerada la fase más regulada y a menudo es objetivo de varias vías de señalización oncogénica. El inicio de la traducción eucariota depende de subunidades ribosómicas y al menos de 12 proteínas auxiliares denominadas factores de iniciación eucariota (eIF; *eukaryotic initiation factors*), entre estas proteínas cabe destacar eIF3 el factor más grande y complejo (800 kDa) que comprende 13 subunidades (eIF3a – m) ensambladas

para formar el complejo eIF3 cuya función principal es la unión a un complejo ternario (formado por eIF2, GTP y Met-tRNAi) y al ribosoma 40S lo que resulta en la formación de un complejo de preiniciación 43S, que previene la unión prematura a la subunidad 60S y promueve la unión del ARNm a través de interacciones con la subunidad eIF4G del complejo de unión (7).

La subunidad f de eIF3, eIF3f, es un miembro de la familia Mov-31. Los miembros de esta familia se caracterizan por tener un motivo MPN (Mpr1-Pad1-N-terminal), que se encuentra en subunidades de otros complejos macromoleculares como el PCI (Proteasoma, COP9, eIF3) (73) (Fig. 5).

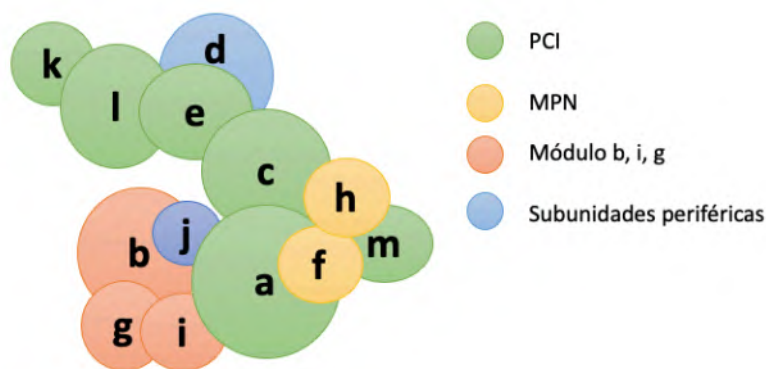


Figura 5. Complejo eIF3 de mamíferos. El octámero PCI/MPN incluye las subunidades PCI a, c, e, l, k y m (verde) orientadas secuencialmente para formar un arco y MPN con las subunidades f y h (amarillas) conectadas con la primera a través de la interacción f : m; el módulo de subunidades grandes (rojo) se adjunta al octamer PCI / MPN por su asociación con el dominio carboxiterminal eIF3a (CTD); las dos posiciones más periféricas están ocupadas por las subunidades d y j (azul), respectivamente. Modificado de Gomes-Duarte A *et al.*, 2018.

Aunque las funciones individuales de estas subunidades aún no se han esclarecido del todo, revisiones recientes esclarecen un avance en la descripción de distintos mecanismos moleculares que subyacen al papel de eIF3 en patologías como el cáncer y trastornos neurodegenerativos (5). Casi todas las subunidades están reguladas positivamente en el tejido tumoral en comparación con la contraparte normal. Tal regulación al alza puede aumentar la proliferación celular, la progresión del ciclo celular y la metástasis mediante la activación de muchas vías de señalización. La excepción a esta observación es eIF3e y eIF3f, los cuales se encuentran disminuídos en varios tejidos cancerosos (4,7).

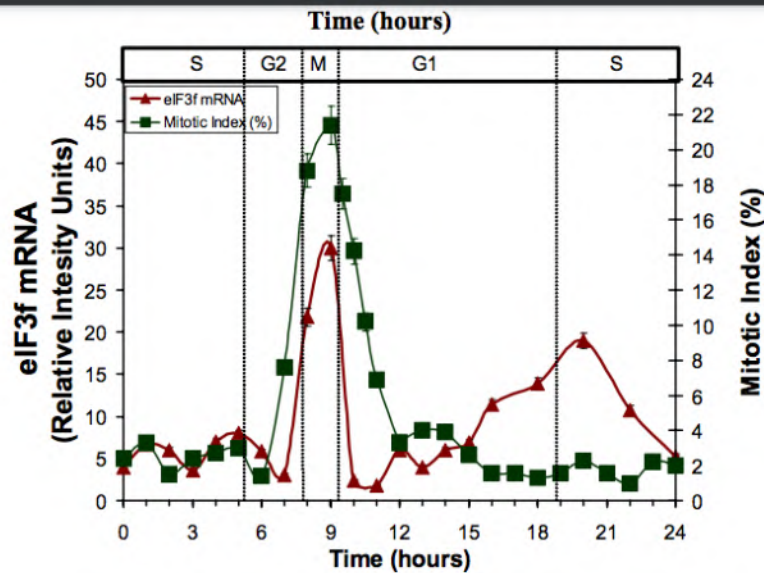


Figura 6. Perfil de expresión de eIF3f humano en células A549 a lo largo del ciclo celular. Tomado de Higareda-Mendoza & Pardo-Galván, 2010.

En 2010 Higareda-Mendoza y Pardo-Galván realizaron estudios sobre la expresión de la subunidad eIF3f en células A549, se cuantificó la expresión de ARNm de eIF3f en relación a la expresión de proteínas mitóticas (tubulina, ciclina B1) en el ciclo celular, observando un patrón de expresión similar entre las proteínas analizadas, con dos picos de eIF3f en las fases de transición G₂/M y G₁/S del ciclo celular (Fig. 6) (7). Vergara-Hernández (2020) analizó la expresión de eIF3f en el ciclo celular mediante citometría de flujo, encontrando disminuida la expresión de eIF3f en pacientes con LMA y LLA-B, siendo aún mayor (disminución del 77.4%) en pacientes con metástasis ($p < 0.05$). Asimismo, Bautista-Tejeda (2017) mostró variación en la expresión inicial de eIF3f en las fases G₀-G₁ con un aumento de expresión en la fase S y con un pico máximo en G₂-M en linfocitos proliferativos de personas sanas. En ambos estudios el comportamiento de eIF3f durante el ciclo celular fue similar al observado por Higareda-Mendoza y Pardo Galván (2010) (Fig. 7) (7,74,75).

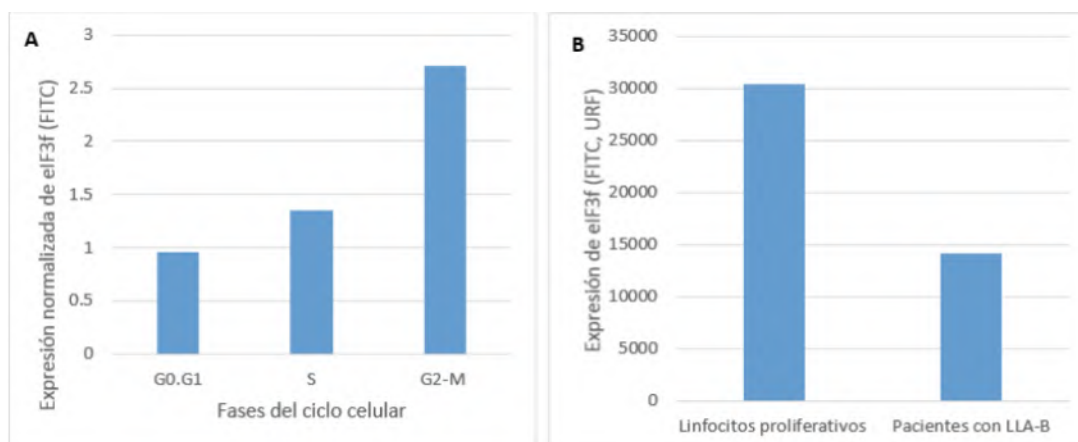


Figura 7. Detección de la expresión de eIF3f con FITC en muestras de MO de pacientes con LLA-B. A) Expresión relativa de eIF3f en las fases del ciclo celular, B) Comparación de la expresión de eIF3f entre linfocitos proliferativos y las muestras de MO de pacientes con LLA-B. Se realizó una prueba de t de student en la que se obtuvo una $p < 0.05$. Resultados de trabajo de tesis de Vergara-Hernández (2020).

La relación de la disminución de eIF3f con patologías malignas se ha reportado en diversos diseños experimentales como el de Shi *et al.*, (2006) que demostraron que eIF3f estaba regulado a la baja en la mayoría de tumores humanos, el estudio comparativo se llevó a cabo entre células normales y tumorales de páncreas, ovario, mama, intestino delgado y en melanomas; además por medio de PCR cuantitativa (RT-qPCR; Quantitative reverse transcription PCR) observaron que la sobre-expresión de eIF3f era causante de muerte en células de melanoma y cáncer de páncreas, lo que supone un efecto negativo en la vida de la célula en respuesta a la desregulación de eIF3f (6,76,77,). El patrón de expresión de eIF3f en tejido tumoral ha sido estudiado por diferentes metodologías, Li *et al.*, (2014) determinó la expresión de eIF3f mediante inmunohistoquímica en tejidos con cáncer gástrico en estadio I a III y tejidos adyacentes no cancerosos; los resultados mostraron que la disminución en los niveles de eIF3f correlacionados a estadios tumorales más avanzados y probabilidad de recurrencia, además los análisis de regresión de Cox multivariados mostraron que la expresión de eIF3f era un predictor independiente de la supervivencia general de los pacientes con cáncer gástrico (78).

Debido al impacto negativo que supone la desregulación de eIF3f sobre el ciclo celular Esteves *et al.*, (2020) estudiaron la sobreexpresión de eIF3f en células A549 transfectadas, resultando en la disminución de la tasa de proliferación de las células en

estudio, además al analizar la actividad de caspasa 3 y caspasa 7 no hubo cambio en la activación de la apoptosis en las células cancerosas eIF3f-A549 (8). En virtud de la ubicuidad de eIF3f y su capacidad de interacción proteica, se ha visto asociado a proteínas con impacto en la proliferación celular y apoptosis, y se ha relacionado con la inhibición de la clusterina, la estabilización de p53, mTOR y S6K1 o la actividad de ubiquitinasa en NOTCH (79-81). En 2019 Docquier *et al.*, (2019) desarrollaron estudios in vivo en ratones con una mutación nula de eIF3f, los ratones heterocigotos parcialmente deficientes presentaron reducción en la masa corporal caracterizada por la disminución del tamaño celular, sin embargo, no se afectó el número de células musculares; la pérdida de eIF3f también implicó la inhibición de la vía mTOR y disminución de las proteínas S6K1 y S6 (77). La cascada de PI3K / AKT / mTOR transmite señales de varios receptores tirosina quinasa después de la unión del ligando y regula el metabolismo celular, la proliferación, la supervivencia y la migración a través de moléculas efectoras aguas abajo y se ha observado que la inhibición de esta vía activa a STAT3 en células de cancer gástrico (81). La razón por la que eIF3f puede interactuar con distintas proteínas se debe a su ubicación en el motivo MPN dándole la propiedad de funcionar como proteína de andamio caracterizada por unirse simultáneamente a otras dos o más proteínas para proporcionar un marco en el que trabajen de forma eficiente y mejorar la fidelidad de la señalización (Fig. 8) (82).

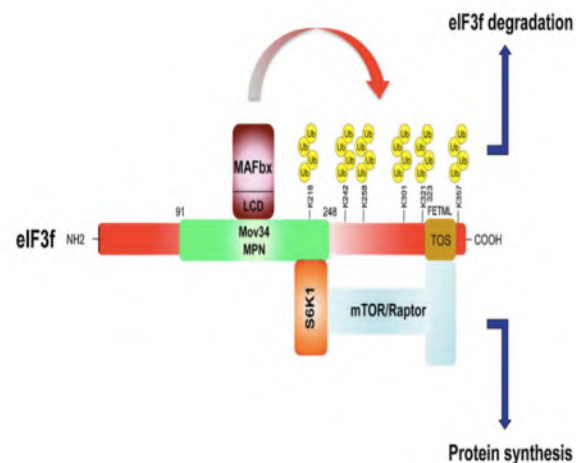


Figura 8. Estructura de eIF3f. Modelo donde eIF3f actúa como una proteína de andamiaje que permite la activación de S6K1 dependiente de mTORC1 tras la estimulación de las células musculares con insulina u hormona del crecimiento. Tomado de A.M.J. Sanchez *et al.*, 2013 Int J Biochem Cell Biol. BC-4060.

Para entender las funciones no canónicas de eIF3f, Esteves *et al.*, (2020) descifraron el interactoma de células A549 humanas. Los resultados revelaron que eIF3f se asocia físicamente a 254 proteínas nucleares, incluidos factores de transcripción entre los que figuran el factor de transcripción general II-I (GTF2-I; *general transcription factor II-I*), factor de transcripción 1 asociado a Bcl-2 (BCLF1; *Bcl-2-associated transcription factor 1*) con las puntuaciones más altas y STAT3. Por medio de inmunoprecipitación de cromatina acoplado a secuenciación de genes (ChIP-Seq; *chromatin immunoprecipitation experiment coupled to gene sequencing*) se encontró que eIF3f interactúa en el núcleo con genes como Snai2 (SLUG), un regulador central de la metástasis, a la vez que se involucra al eje Norrin/Frizzled4 (FZ4), el impacto sobre la migración celular de estos ejes propuestos fue corroborado por inhibidores específicos de la transcripción mediada por STAT3 o FZ4 (Fig. 9) (8). Se han observado patrones de co-ocurrencia en las vías impulsoras del cáncer en muchas muestras de tumores, lo cual indica sinergias funcionales y como ya se expuso la interacción de eIF3f con proteínas clave en la viabilidad celular hace que su desregulación tenga un posible impacto negativo en la función celular (83). Basado en los antecedentes mencionados, en la Fig. 10 hemos resumido las vías en que eIF3f incide.

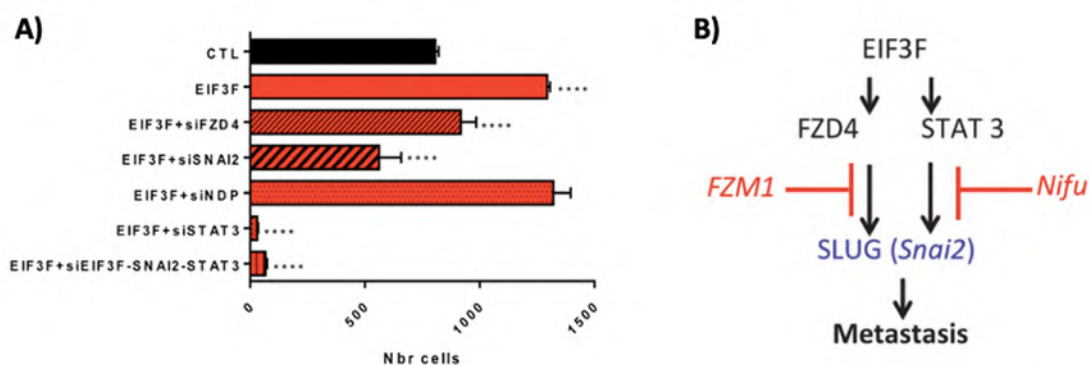


Figura 9. Efecto de eIF3f, STAT3, SNAI2 y FZD4 en la migración celular. A) Cuantificación de experimentos de migración Transwell. Se realizaron in vitro en células A549 y células eIF3f-A549 (N = 6) en presencia o ausencia de tratamiento con el inhibidor de STAT3 Nifuroxazide 10 M y ARNsi contra STAT3. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $P < 0.001$. B) Propuesta de nuevo eje STAT3-eIF3f en el control de la migración celular. Esteves *et al.*, 2020.

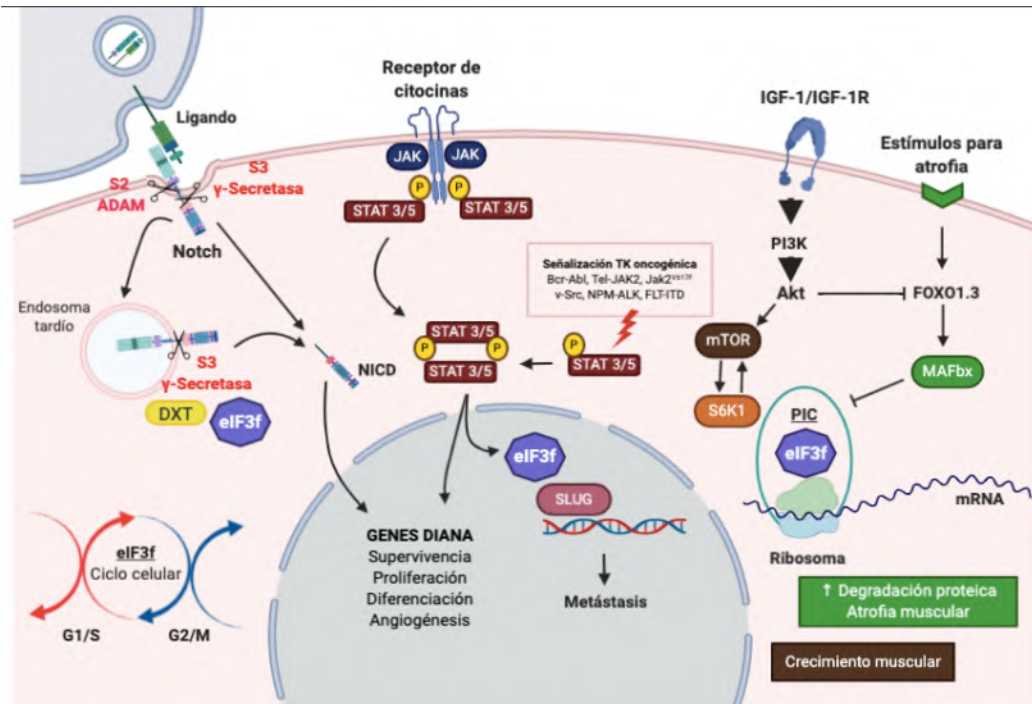


Figura 10. eIF3F como proteína de andamiaje. La imagen resume las vías de señalización en que incide eIF3f, se señala además los picos de expresión en las fases de transición del ciclo celular G1/S y G2/M. eIF3f: Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit F; ADAM: A Disintegrin And Metalloprotease; NICD. Notch intracellular domain; DXT; E3 ubiquitin ligases Deltex; JAK: Janus kinase; STAT: signal transducer and activator of transcription; SLUG/SNAI: Snail Family Transcriptional Repressor 2; IGF-1R: Insulin-like growth factor-1 receptor; PI3K: Phosphoinositide 3-kinases; Akt: serine/threonine kinase 1; mTOR: mammalian target of rapamycin ; S6K1: Ribosomal protein S6 kinase beta-1; PIC: pre-initiation complex; FOXO1.3: forkhead box P3; MAFbx: muscle atrophy F-box. Elaborado por Bautista Verduzco.

3. JUSTIFICACIÓN

Las leucemias agudas son la principal neoplasia maligna en la población infantil y se distingue por su alta mortalidad. Esta neoplasia suele asociarse con alteraciones citogenéticas que propician un entorno de inestabilidad genómica. Dentro de los puntos de control en la expresión génica se encuentran el control transduccional y el control traduccional. En el primer punto se encuentran las proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción (STAT) cuya evidencia ha confirmado su rol en la patogénesis de leucemias y numerosos tumores sólidos. Dentro de esta familia se ha encontrado que la perturbación en la expresión génica de las isoformas de STAT3 y STAT5 se asocia con menor supervivencia y aumento en la resistencia quimioterapéutica. En el segundo punto, se han encontrado alteraciones en factores del inicio de la traducción, tal es eIF3f cuya disminución de su expresión se ha observado en cáncer de mama, gástrico y páncreas. En sus estudios en células de cáncer de pulmón se demostró la localización nuclear de eIF3f y su asociación con factores de transcripción como STAT3. La posible participación de eIF3f con proteínas como STAT3 y STAT5 en el desarrollo tumoral nos ofrece la posibilidad de contribuir a la descripción del fenotipo celular maligno y el impacto que la desregulación de estas moléculas podrían tener en el pronóstico del paciente con leucemia, además la falta de estudio de eIF3f en neoplasias hemato-oncológicas y su impacto clínico apoya su investigación. Se debe recalcar que ante la elevada mortalidad que expone esta enfermedad, la detección y predicción inicial del estado de gravedad de los pacientes es vital entorno a la selección de la estrategia terapéutica que resulte en mejores tasas de remisión completa y supervivencia general, lo que traduce un menor número de recaídas y trasciende en la disminución del gasto hospitalario y reducción de la mortalidad.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué alteración existe en la expresión génica de *eIF3f*, *STAT3β* y *STAT5B* en pacientes con leucemia aguda?

¿Se relacionan las alteraciones en la expresión génica de *eIF3f*, *STAT3β* y *STAT5B* con el pronóstico de pacientes con leucemia aguda?

5. HIPÓTESIS

La disminución de *eIF3f* y *STAT3β* y el incremento de *STAT5B* se asocian a factores de mal pronóstico en los pacientes con leucemia aguda.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar la relación que existe entre la expresión de *eIF3F* con la expresión de *STAT3β* y *STAT5B* y su asociación con factores pronóstico-predictivos en adultos y niños leucemia aguda.

6.2 Objetivos específicos

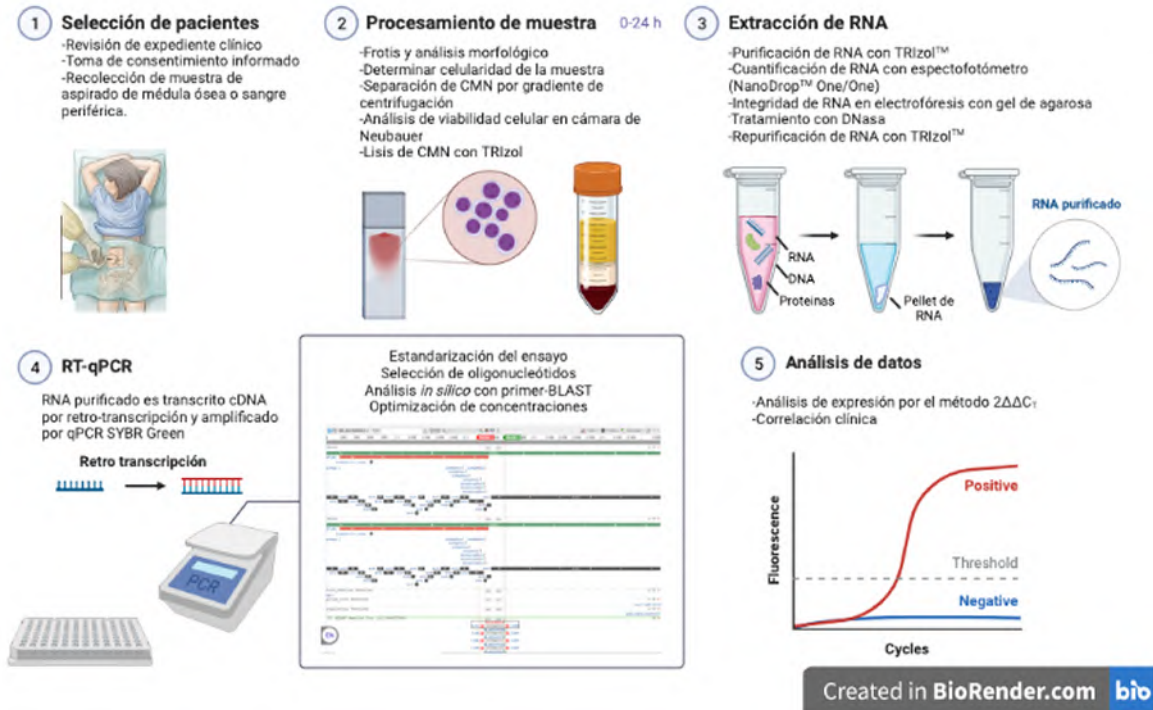
1. Determinar la expresión de *eIF3f*, *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con leucemia aguda *de novo*.
2. Identificar relaciones entre la expresión de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* en leucemia aguda *de novo*.
3. Identificar la razón de expresión de *STAT3β/α* y *STAT5B/A*.
4. Asociar la expresión de *eIF3f*, *STAT3β* y *STAT5B* con factores pronóstico y predictivos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Diseño del estudio

Se trata de un estudio transversal, analítico, descriptivo-comparativo.

7.2 Estrategia experimental



7.3 Universo de trabajo

Pacientes niños y adultos que ingresen con diagnóstico de leucemia mieloide ó linfoblástica aguda de novo pertenecientes al Hospital Regional No. 1 de Morelia, Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”, Hospital General “Dr. Miguel Silva”, Hospital de alta especialidad del ISSSTE y Hospital de la mujer Morelia durante el período de enero a diciembre de 2021, que cuenten con expediente médico e indicación de toma de muestra de sangre periférica y/o MO.

7.4 Muestra

Se utilizarán muestras de médula ósea o sangre periférica de pacientes en protocolo de estudio por sospecha de leucemia aguda. Basados en el reporte de casos en Michoacán

durante el periodo de 2005 a 2010 se diagnosticaron 326 casos de cáncer en menores de 20 años, con una tasa de 1.8 de mortalidad por leucemia (85). Sin embargo no existen reportes oficiales de la incidencia de leucemia aguda, por lo cual acudimos con directivos del Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos” que informan que en el año 2020 se diagnosticaron 32 nuevos casos de leucemia aguda. Considerando estos datos, se calculó el tamaño mínimo de la muestra en una población infinita:

$$n = \frac{Z^2 * p * q * N}{e^2 (N-1) + Z^2 * p * q}$$

Dónde:

n = Tamaño de muestra buscado

Z = Valor crítico de la distribución normal estandarizada. Se utilizará un nivel de confianza del 95%. $Z=1.96$

p = Probabilidad de que ocurra el evento estudiado estimada de pacientes con leucemia aguda en Michoacán, si no se conoce se da valor de 50%

$q = (1 - p)$ = Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado 50%

e = Error de estimación máximo aceptado (+/-5%)

N = Tamaño de la población

Al sustituir dichos valores se obtiene lo siguiente:

$$n = \frac{1.96^2 * 0.5 * 0.5 * 32}{0.05^2 (32-1) + 1.96^2 * 0.5 * 0.5}$$

$$n = 0.568$$

Debido a que no se cuenta con reportes epidemiológicos sobre la incidencia de leucemia aguda en el estado, la n muestral se eligió a conveniencia, incluyendo todos los casos que reúnan los criterios de selección.

7.5 Definición del grupo control

El control negativo comprende muestras de sangre venosa de cordón umbilical (SVCU) de recién nacidos eutócicos, productos de gesta normo evolutiva, en el Hospital de

la Mujer; para descartar la presencia de posibles patologías en la madre o el producto, se recaban los datos clínicos en el anexo 9. Previo consentimiento informado de la madre (Anexo 6), la toma de la muestra es realizada por el médico encargado de la atención de parto, solicitando 10 ml de SVCU recolectada en tubos con EDTA y trasladadas en nevera refrigerante a 4°C. Para esta investigación las muestras son procesadas dentro de las primeras 24 horas después de la toma.

El control positivo para la expresión de *eIF3F*, *STAT3β* y *STAT5B* se establece utilizando material genético de la línea celular K562.

7.6 Criterios de inclusión

- Pacientes con leucemia aguda *de novo* diagnosticados durante el período de estudio

7.7 Criterios de no inclusión

- Pacientes en tratamiento y/o recaída
- Pacientes que no acepten participar en el estudio

7.8 Criterios de eliminación

- Pacientes en quienes no se pudo determinar la expresión de *eIF3f*, *STAT3β* y *STAT5B*.

7.9 Definición de las variables y unidades de medida

Variable	Definición	Tipo de variable	Operacionalización de la variable
Leucemia aguda	Enfermedad caracterizada por un crecimiento autónomo y desmedido de formas inmaduras de leucocitos (blastos) provenientes de una clona maligna que terminan por volverse la estirpe predominante en la MO, con la consecuente disminución del resto de series hematopoyéticas (3, 18). Según la estirpe celular afectada se diferencian entre leucemias mieloides o linfoides (19).	Cualitativa, nominal, dicotómica.	Se clasifica a través de revisión de expediente clínico, en el apartado de nota médica más actual y en la sección de estudios paraclínicos con base en el reporte del laboratorio clínico del análisis microscópico. <ul style="list-style-type: none"> 1. Leucemia aguda mieloide 2. Leucemia aguda linfoblástica 3. Leucemia promielocítica
Expresión de ARNm <i>eIF3f</i>	Expresión de ARNm de la subunidad f del complejo eIF3 mediante RT-qPCR SYBER-Green™	Cuantitativa, continua, discreta.	La expresión génica relativa se calcula con la fórmula $2^{\Delta\Delta C_T}$ con base al cual la expresión génica se clasifica: <ul style="list-style-type: none"> >1: Sobreexpresión =1: Expresión normal <1: Expresión disminuida
Expresión de ARNm <i>STAT3β</i>	Expresión de ARNm de <i>STAT3β</i> mediante RT-qPCR SYBER-Green™	Cuantitativa, continua, discreta.	La expresión génica relativa se calcula con la fórmula $2^{\Delta\Delta C_T}$ con base al cual la expresión génica se clasifica: <ul style="list-style-type: none"> >1: Sobreexpresión =1: Expresión normal <1: Expresión disminuida
Expresión de ARNm <i>STAT5B</i>	Expresión de ARNm de <i>STAT5B</i> mediante RT-qPCR SYBER-Green™	Cuantitativa, continua, discreta.	La expresión génica relativa se calcula con la fórmula $2^{\Delta\Delta C_T}$ con base al cual la expresión génica se clasifica: <ul style="list-style-type: none"> >1: Sobreexpresión =1: Expresión normal <1: Expresión disminuida
Factores pronóstico en leucemia linfoblástica aguda	Elementos individuales relacionados al huésped y al tipo de neoplasia que se asocian positiva o negativamente con uno o varios parámetros de resultado en el desarrollo de una enfermedad (41).	Cualitativa, ordinal, dicotómica	Los datos clínicos y paraclínicos necesarios para la clasificación pronóstica son obtenidos mediante revisión de expediente clínico. Los pacientes se categorizan con fundamento en la GPC IMSS-142-08, la GPC SSA 061-08 y el National Cancer Institute: <ul style="list-style-type: none"> 1. Riesgo estándar (favorable en pacientes pediátricos) Edad: <ul style="list-style-type: none"> o Niños: 1 a 9 años o Adultos: < 35 años Conteo inicial de leucocitos :

			<ul style="list-style-type: none"> o Niños: < 50,000/mm³ o Adultos: < 30,000/mm³ para LLA-B, <100,000 para LLA-T <p>Inmunofenotipo: niños y adultos con linaje celular B</p> <p>Genotipo: niños y adultos con hiperdiploidia (>50 cromosomas), ETV6-RUNX1 [t(12;21)]</p> <p>2. Riesgo adverso</p> <p>Edad:</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: <1 año ó >10 años o Adultos: >35 años <p>Conteo inicial de leucocitos :</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: >50,000/mm³ o Adultos: >30,000/mm³ para LLA-B, >100,000 para LLA-T <p>Inmunofenotipo: linaje celular T en niños y adultos</p> <p>Genotipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: Hipodiploide <45 cromosomas, BCR-ABL1 [t(9;22)], MLL-AF4 [t(4;11)], E2A/PBX1 [t(1;19)], IGH/MYC [t(8;14)]. o Adultos: BCR-ABL1 [t(9;22)], MLL-AF4 [t(4;11)], IGH/MYC [t(8;14)], Hipodiploidía <45 cromosomas, cariotipo complejo (≥5 anomalías no relacionadas).
<p>Factores pronósticos en leucemia mieloide aguda</p>	<p>Elementos individuales relacionados al huésped y al tipo de neoplasia que se asocian positiva o negativamente con uno o varios parámetros de resultado en el desarrollo de una enfermedad (41). En la LMA la citogenética y la biología molecular son los factores de riesgo más importantes para determinar la respuesta de terapia de inducción, clasificando el riesgo en 3 grupos: favorable, intermedio y adverso (42).</p>	<p>Cualitativa, ordinal</p>	<p>Los datos clínicos y paraclínicos necesarios para la clasificación pronóstica son obtenidos mediante revisión de expediente clínico. Los pacientes se categorizan con fundamento en la GPC IMSS-276-10:</p> <p>1. Riesgo favorable</p> <p>Edad:</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: 1 a 9 años o Adultos: < 59 años

		<p>Conteo inicial de leucocitos :</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: < 50,000/mm³ o Adultos: < 100,000/mm³ <p>Genotipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> o t (8; 21) (q22; q22.1); RUNX1-RUNX1T1 o inv (16) (p13.1q22) o (16; 16) (p13.1;q22); CBFMYH11 o Mutación de la NPM1 sin mutación de FLT3-ITD (Cariotipo normal) o Mutación del CEBPA (Cariotipo normal) <p style="text-align: center;">2. Riesgo intermedio</p> <p>Genotipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> o Cariotipo normal con mutación de la NPM1 y FLT3-ITD o Cariotipo normal con NPM1 nativo con/sin mutación de FLT3-ITD o t (9;11) (p21.3; q23.3); MLLT3-MLL o Anomalías citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas <p style="text-align: center;">3. Riesgo adverso</p> <p>Edad:</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: <1 año ó >10 años o Adultos: >60 años <p>Conteo inicial de leucocitos :</p> <ul style="list-style-type: none"> o Niños: > 50,000/mm³ o Adultos: > 100,000/mm³ <p>Genotipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> o t (6; 9) (p23; q34.1); DEK-NUP214 o t (v; 11q23.3); KMT2A reorganizado o t (9; 22) (q34.1; q11.2); BCR-ABL1 o inv (3) (q21.3q26.2) ó t(3; 3) (q21.3; q26.2); GATA2, MECOM (EVI1) -5 o del (5q); -7; -17 / abn(7p) o Cariotipo complejo (+3 alteraciones)
--	--	---

			<ul style="list-style-type: none"> o NPM1 nativo y FLT3-ITD alto o RUNX1 mutado o ASXL1 mutado o TP53 mutado
Factores pronósticos en leucemia promielocítica aguda	A diferencia de otros subtipos de LMA, la LPA tiene un alto riesgo de coagulación intravascular diseminada. Por lo cual se toman parámetros como el conteo inicial de plaquetas para determinar el riesgo de coagulopatía asociado a esta enfermedad (23).		<p>Mediante revisión de expediente clínico se recolectan los datos necesarios para la clasificación pronóstica en LPA, establecida por el grupo PETHEMA 2012:</p> <p>1. Riesgo bajo Conteo inicial de leucocitos</p> <ul style="list-style-type: none"> o Leucocitos $\leq 10,000/\text{mm}^3$ o Plaquetas $> 40,000/\text{mm}^3$ <p>2. Riesgo intermedio Conteo inicial de leucocitos</p> <ul style="list-style-type: none"> o Leucocitos $\leq 10,000/\text{mm}^3$ o Plaquetas $\leq 40,000/\text{mm}^3$ <p>3. Riesgo adverso Conteo inicial de leucocitos</p> <ul style="list-style-type: none"> o Leucocitos $\geq 10,000/\text{mm}^3$ o Plaquetas indistinto
Enfermedad mínima residual en el final de la inducción	La EMR es un factor de riesgo predictivo ya que evalúa el éxito de un tratamiento específico en una situación de enfermedad específica y favorecen una terapia sobre otra (86,87). Se define como el "nivel más bajo de enfermedad detectable en pacientes en remisión clínica continua por los métodos disponibles" (41).	Cualitativa, ordinal, dicotómica	<p>Se realiza seguimiento del paciente y se recolectan resultados de estudio de EMR por citometría de flujo al final de la inducción correspondiente al manejo establecido para el subtipo de leucemia diagnosticado.</p> <p>1. Riesgo estándar De baja extensión ($<0.01\%$) por citometría de flujo ó EMR no detectable por técnicas moleculares</p> <p>2. Riesgo adverso Persistencia de EMR ($\geq 0.01\%$)</p>

7.10 Manejo de las muestras biológicas

Los médicos hematólogos y oncólogos pediatras de los Servicios de Oncología Pediátrica y Medicina Interna (Hematología) del Hospital General Regional No. 1 del IMSS- Morelia, del Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”, del Hospital Civil “Dr. Miguel Silva”, del Hospital de alta especialidad del ISSSTE y del Hospital de la Mujer de Morelia, Mich., identifican y diagnostican a los pacientes con leucemia aguda. Se realiza invitación a los pacientes y/o tutores para participar en el proyecto de investigación, para lo cual firman la hoja de consentimiento y asentamiento informado en pacientes pediátricos (Anexo 1-6).

La recolección de datos clínicos se realiza mediante revisión de expediente de hospitalización al momento del diagnóstico y posteriormente en archivo clínico se continúa con revisión de expediente para su seguimiento (Anexo 7 y 8).

El médico tratante indica la toma de aspirado de médula ósea o de ser inviable se opta por toma de sangre periférica para el abordaje diagnóstico del paciente. Mediante estos procedimientos se nos entrega remanentes de la muestra en tubo con EDTA. Para esta investigación las muestras son procesadas dentro de las primeras 24 horas después de la toma.

De la muestra de médula ósea y/o sangre periférica se procede al aislamiento de células mononucleares y de estas se realiza la purificación de ARN total posterior a la cual se realiza RT-qPCR SYBER™ Green para determinar la expresión de *eIF3f* así como de las isoformas *STAT3* y *STAT5*. Las muestras analizadas son desechadas ya que no pueden volver a utilizarse, bajo la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 sobre el manejo de Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos. El material genético sobrante fue almacenado a -70°C en el CIBIMI para posteriores investigaciones, siendo desligadas de la identidad del paciente.

En necesario un mínimo de 1ml de MO y/o 3ml de sangre periférica, las muestras se conservan en tubo vacutainer con EDTA tapa color lavanda, estéril de primer uso, etiquetado

con nombre completo y edad del paciente, tipo de muestra, fecha de toma, médico a tratante, tratamientos previos que se hayan administrado al paciente y diagnóstico presuntivo. Las muestras son transportadas en cadena de frío en nevera de transporte a 4°C, cuidando que la muestra no entre en contacto directo con el hielo, no sea expuesta a agitación excesiva ni a temperaturas extremas.

7.11 Identificación de blastos

Se realiza frotis de la muestra y se tiñe con el kit Wright Merk™, de acuerdo a las especificaciones del fabricante. El procedimiento consiste en extender 5mL de muestra sobre un portaobjetos, una vez seco, sobre un puente de tinción se adiciona 1 mL de azul de metileno (la cantidad suficiente para cubrir el porta objetos), dejando actuar durante 3 min. Pasado este tiempo, se añade un volumen igual, gota a gota, de agua bidestilada como Buffer de reacción, soplando ligeramente con la pipeta para conseguir una muestra homogénea observando una capa metálica. Después de 3 min se retira el colorante con agua bidestilada y se deja secar al aire libre sobre papel absorbente. Finalmente, las muestras se observan en el microscopio a 40X para la realización del conteo y a 100X para la descripción morfológica de leucocitos. Se seleccionan las muestras con un contenido de blastos $\geq 20\%$ (Fig. 11).

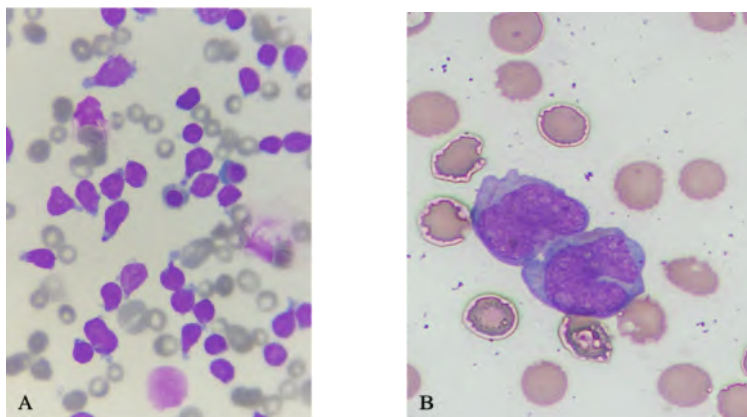


Figura 11. Frotis de médula ósea. A) Linfoblastos en “espejo de mano” y tamaño celular heterogéneo de un paciente con LLA subtipo FAB L2. **B)** Mieloblastos de tamaño grande, núcleo irregular con una incisura amplia y presencia de bastones de Auer de un paciente con LMA subtipo FAB LAM M3. Frotis de pacientes pertenecientes a este estudio.

7.12 Aislamiento de células mononucleares

Se realiza por centrifugación en gradiente de densidad de polisacarosa y diatrizoato de sodio (Histopaque®-1077 de Sigma-Aldrich). Se inicia añadiendo la muestra en un tubo

previamente cargado con un volumen igual de PBS 1X pH 7.4, procediendo a homogeneizar suavemente. Se coloca una capa de esta dilución sobre un tubo cargado previamente con Histopaque® (ver proporción de volumen en Tabla 6), teniendo cuidado de minimizar la mezcla de sangre con el Histopaque®. Se continúa centrifugando a 2000 rpm durante 30 min a temperatura ambiente (18 °C) sin freno. Una vez terminado este ciclo se retira la capa superior correspondiente al plasma sin alterar la interfase que contiene a las CMN, las cuales deben ser extraídas sin perturbar el sedimento de eritrocitos/granulocitos. En casos donde la muestra presenta abundante cantidad de CMN puede persistir la presencia de eritrocitos, por lo que se da un tratamiento con 1 mL de solución de lisis 1X durante 10 min a 4 °C sucesiva centrifugación de 2000 rpm durante 30 min a temperatura ambiente (18 °C), se retira el sobrenadante, resuspendemos en 1 mL de PBS 1X pH 7.4 para centrifugar a 2000 rpm, 5 min 18 °C dando un total 3 lavados, descartando el sobrenadante y resuspendiendo las CMN en PBS 1X pH 7.4 entre cada uno. La viabilidad celular se corrobora mediante conteo en cámara de Neubauer. Se seleccionan las muestras con porcentaje $\geq 90\%$ de viabilidad celular y se procede a la purificación de ARN.

Tabla 6. Volúmenes recomendados para el aislamiento de CMN por gradiente de densidad

SANGRE PERIFÉRICA Ó MÉDULA ÓSEA (mL)	PBS (mL)	LYMPHOPREP™ (mL)	TAMAÑO DEL TUBO (mL)
1	1	1.5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	10	50
10	10	15	50
15	15	15	50

FUENTE: STEMCELL TECHNOLOGIES. Lymphoprep™ Density gradient medium for the isolation of monuclear cells.

7.13 Extracción de ARN

Este procedimiento se lleva a cabo con el método de TRIzol™ Reagent de Invitrogen, siguiendo las recomendaciones del fabricante. La cuantificación y grado de pureza del ARN extraído se obtiene mediante la determinación del ratio de absorbancia a 260 nm vs la absorbancia a 280 nm (A_{260nm}/A_{280nm}) con el sistema Nanodrop™ One, considerando el valor de ~2 como indicativo de ausencia de proteínas, motivo por el cual se seleccionan únicamente los ARN con valores ≥ 1.8 , considerado como un indicador aceptable de pureza; la integridad del ARN se verifica en corrimientos electroforéticos en geles de agarosa al 1.5 % por 30 min a 80 V y son teñidos con BrEt, cada pocillo es llenado con 500ng de ARN. Como indicador principal de la integridad del ARN se considera la presencia de las bandas ribosomales 28S:18S, cumpliendo con el supuesto de que la banda 28S es dos veces más brillante que la banda 18S (Fig. 12) (88).

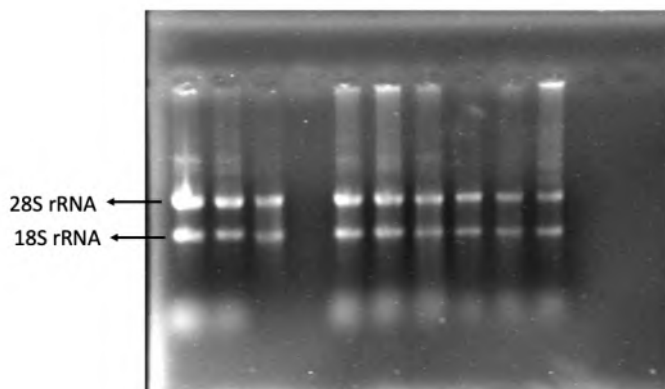


Figura 12. Integridad de ARN. Electroforesis donde se observan las bandas 28S ARNr y 18S ARNr que corroboran la integridad del ARN procedente de muestras de leucemia aguda.

7.14 Tratamiento con DNasa

Es realizado con el kit RQ1 RNase-Free Dnase PROMEGA, siguiendo las recomendaciones del fabricante y omitiendo el uso de la solución RQ1 Dnase Stop (EGTA, pH 8.0, 20 mM) para evitar la interferencia con las reacciones de amplificación (secuestraciones divalentes y repercute en la retrotranscripción inhibiendo a la enzima retrotranscriptasa) (88), en su lugar se añaden 250µL de TRIzol™ para reprecipitar el ARN tratado, son utilizadas las proporciones de cloroformo, isopropanol y etanol indicadas por el fabricante, es decir, para 1ml de TRIzol™, se utilizan 200µL, 500µL, 1ml de cloroformo,

isopropanol y etanol respectivamente. Se establecen entre cada paso los siguientes periodos de incubación y centrifugación: 5 min de incubación en TRIzol™, 3 min de incubación en cloroformo, posterior centrifugado de 15 min a 12 000 rpm a 4°C, 20 min de incubación en Isopropanol a 4°C, seguido de 10 min de centrifugado a 12 000 rpm a 4°C, con el fin de eliminar elementos orgánicos propios del procedimiento el ARN tratado las muestras se almacenan por una semana a -30 °C en etanol al 75% y se termina la extracción con una centrifugación de 7 min a 7 500 rpm 4°C, dejando secar por 15 min en campana de extracción y resuspendiendo en 10 a 20µL de agua estéril, seguido de una incubación de 10 min a 55°C. Al completar la extracción de ARN se realiza su cuantificación con el sistema Nanodrop™ One y se comprueba la integridad del mismo en gel de agarosa al 1.5% 30 min a 80 V (Fig. 12). Durante la estandarización de método la cantidad de ARN que tuvo mejor rendimiento de extracción fueron 10 µg y 6 µg para muestras con menos material genético.

7.15 Manejo del material genético

Las muestras de ARN son conservadas siguiendo las recomendaciones de kit de extracción de Invitrogen. El cDNA es mantenido a -30 °C en el CIBIMI. Los remanentes de sangre periférica y médula ósea se desechan siguiendo las recomendaciones para residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI).

7.16 PCR en tiempo real

La PCR en tiempo real (RT-PCR; Real time PCR) es un método eficaz y utilizado a gran escala que permite identificar la presencia o ausencia de una secuencia específica de ADN ó ARN, aunado a ello la capacidad de cuantificar la abundancia de objetivos de ácidos nucleicos la ha convertido en una herramienta de gran utilidad en análisis diagnósticos y la investigación de firmas de expresión génica.

Al igual que otras variantes de PCR la RT-PCR consiste en 3 fases: desnaturalización, alineación con oligonucleótidos específicos y extensión. La cuantificación del número resultante de copias generadas por la PCR es llevada mediante la detección y cuantificación de una señal informadora fluorescente, que aumenta en proporción de la cantidad de amplificado en la reacción. La emisión de fluorescencia resultante de los productos de PCR

es causada por la unión del SYBRTM Green al ADN de doble cadena. El análisis de las curvas de amplificado en RT-qPCR se compone de una *línea base* que corresponde a los ciclos iniciales de PCR que apenas producen pequeños cambios en la señal de fluorescencia, el *umbral* (*Threshold* por sus siglas en inglés) es determinado automáticamente (o configurado manualmente) por el software del sistema de PCR en tiempo real y establece el punto de corte para la asignación del C_T/C_q (*Threshold cycle/quantification cycle* por sus siglas en inglés) este último representa el número de ciclo de PCR en el que la curva de reacción de la muestra se cruza con la línea de umbral. Este valor indica cuántos ciclos se necesitaron para detectar una señal real de sus muestras (Fig. 13) (89,90).

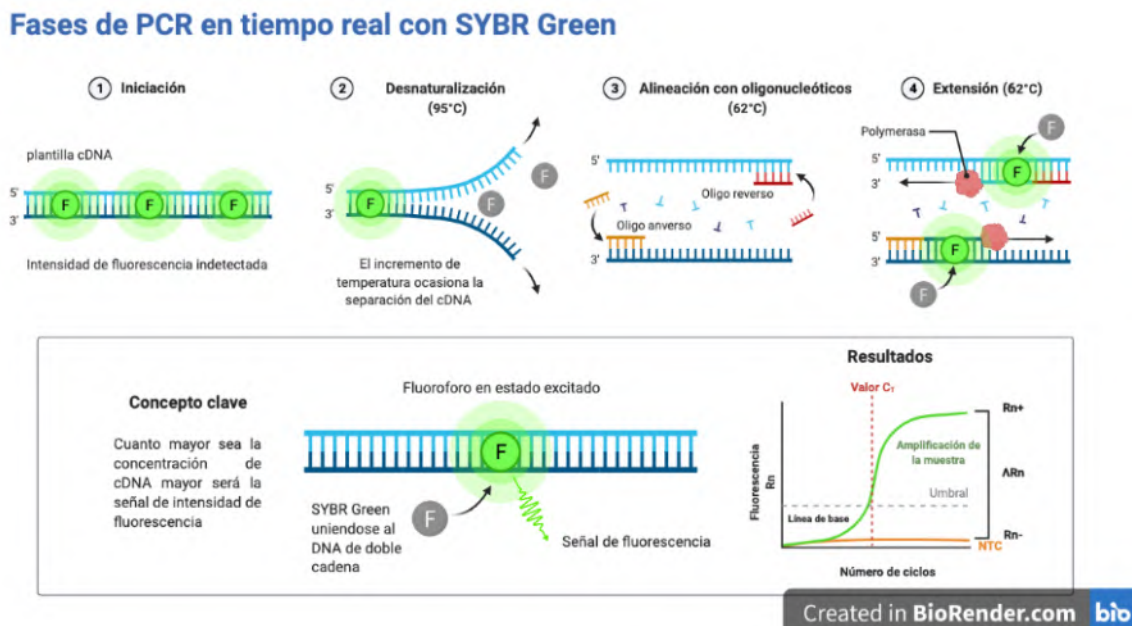


Figura 13. Curva de amplificación en RT-qPCR. Rn: reportero normalizador, traduce la intensidad de fluorescencia emitida, Rn⁺: intensidad en las reacciones con plantilla, Rn⁻: intensidad en los controles sin plantilla, ΔRn : (Rn⁺) - (Rn⁻). Elaborado por Bautista Verduzco.

Para el análisis de datos en RT-qPCR es necesario tener en cuenta algunos conceptos:

- **Gen control.** Es un gen que sirve de referencia interna entre las diferentes muestras y ayuda a normalizar el error experimental, se recomienda que su expresión sea invariante entre las muestras problema y control (89).
- **Eficiencia.** En condiciones óptimas de una reacción de PCR, todos los amplicones deben ser replicados y la cantidad final del producto debe ser el doble a la cantidad previa a cada ciclo. Una reacción de PCR con el 100% de eficiencia

requiere de 3.3 ciclos para incrementar la concentración de amplicones en 10 veces. Se entiende que una pendiente entre -3.6 y -3.1 corresponde a una eficiencia entre 90 y 110% (90).

- **Valor de R^2 .** Es un término estadístico que evalúa la eficiencia estadística, indica que tan bueno es un valor para predecir otro. Cuando R^2 es 1, el valor de “y” (C_T) se puede usar para predecir con precisión el valor de “x”. Si R^2 es 0, el valor de “x” no se puede predecir a partir del valor de “y”. Se entiende que un valor de $R^2 > 0,99$ proporciona una buena confianza en la correlación de dos valores (90).
- **Cuantificación absoluta.** Aunque es un enfoque mas preciso conlleva un mayor coste y tiempo de elaboración. Se genera una curva de calibración estándar a partir de una plantilla cuya cantidad de copias de ácidos nucleicos es bien conocida, al final se determina el número de copias de un transcrito de interés relacionandolo a la señal de la PCR con la curva estándar (90).
- **Cuantificación relativa.** Debido a su versatilidad suele ser el método más utilizado, no requiere de la elaboración de una curva estándar, sin embargo, es necesario que la eficiencia del gen problema y control sean idénticas. Los valores obtenidos expresan la variación relativa de la expresión de un gen en una condición problema con respecto a una condición control (otro tejido, pacientes sanos, muestras sin tratamiento, etc.) que desempeña la función del calibrador y referencia fisiológica. Los resultados son normalizados con base a un gen de referencia cuya expresión es similar en todas las muestras (90).

En esta investigación se optó por realizar la técnica RT-qPCR en dos pasos. Iniciando con la síntesis de cDNA con transcripción inversa, la mezcla de reacción final (40 μ L) está compuesta por una Master Mix (concentración final: Amortiguador 1X, dNTP 1 mM, inhibidor de RNasa 20U, H₂O cpb 15 μ L, Transcriptasa inversa M-MLV Reverse Promega™ 200U) más una mezcla de 2 μ g de ARN total, 1 μ g de Random Hexamer y H₂O inyectable cpb 20 μ L. Se inicia realizando la pre-RT con los Random Hexamer y el ARN en termociclador Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400 incubando por 10 min a 65 °C, enfriando rápidamente en hielo al término de esta, este paso es importante ya que mantiene

el estado desnaturalizado de la hebra de ARN, posteriormente se añade la Master Mix y se incubó nuevamente en termociclador 60 min a 37 °C. Una vez sintetizado el cDNA, se realiza la reacción de PCR en tiempo real en placas de concha dura con 96 pocillos claros BioRad™. Se utilizaron 40 ng (2 µL) de cDNA, Super mix iTaq Universal SYBR Green BioRad™ 1X y oligonucleótidos específicos a los genes de interés para una reacción de final de 10µL. Los tiempos de incubación se seleccionaron de acuerdo con la revisión bibliográfica, se componen de 1 Hold para la activación de la polimerasa a 95 °C/3 min y 39 ciclos que incluyen la desnaturalización a 95 °C/10 seg, alineación/extensión 62 °C/30 seg y un paso adicional para la curva de fusión de 60 °C a 95° C en el equipo CFX96™ (BioRad™) (89). La expresión génica relativa fue calculada mediante el método $2^{-\Delta\Delta C_T}$.

Manejo de los datos

La expresión génica relativa (fc; fold change) fue obtenida por el método comparativo $2^{-\Delta\Delta C_T}$. Este modelo matemático calcula los cambios en la expresión génica como una diferencia relativa al cambio de múltiplo (fold change) entre una muestra experimental y una muestra que hace de calibrador (control). Para su validez se asume que la cinética de amplificación en los ensayos del gen objetivo y de referencia son aproximadamente iguales, porque diferentes eficiencias generarán errores al usar el método (91). Como muestra calibradora se utiliza la media del grupo control correspondiente a muestras de SVCU. Los datos fueron normalizados con el gen control B2M.

Panel de inuotipificación

Para la caracterización aproximada de las poblaciones celulares presentes en la SVCU se utiliza el tubo de inmunofenotipado ALOT propuesto por el grupo EuroFlow y que lo integran los marcadores CD45, CD34, CD117 y HLADR, estos últimos tres altamente sensibles y específicos de células hematopoyéticas inmaduras (92). Las CMN de SVCU son analizadas por citometría de flujo con el objetivo de tener una aproximación de la cantidad de CMH presentes en la muestra.

Las CMN son separadas por medio de gradiente de densidad como se describió previamente, el marcaje celular es realizado con el panel descrito en la Tabla 7. Para el procedimiento de tinción se distribuyen alícuotas de 300 000 CMN/50 μ L, con solución PBS 1X más solución de albúmina de suero bovino al 0.2% (BSA; Bovine serum albumin solution) como agente de bloqueo, se añaden los anticuerpos superficiales (BD Biosciences) en dilución de 1:25, se incuba por 30 minutos a 8 °C protegiendo de la luz. Finalizada la incubación la muestra se resuspende con 200 μ l de PBS 1X, homogenizando cuidadosamente para lavar en centrifugando 2000 rpm 18 °C por 5 min, el sobrenadante de los sedimentos celulares se eliminan por decantado. Se dan pequeños golpes al sedimento celular para aflojarlo y se vuelven a resuspender con 200 μ l de PBS 1X y son fijadas con 50 μ l de paraformaldehído al 2% durante 30 min a 8 °C. A continuación se realiza lavado con 200 μ l de PBS 1X. El análisis por citometría de flujo es realizado con un equipo CytoFLEX® ubicado en la División de Estudios de Posgrados en la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”.

El análisis de las muestras se realiza con un gating inicial dado por el anticuerpo CD45 y su complejidad celular (SSC; side scatter), esta ventana permite identificar las poblaciones presentes en un solo plot en función de la región en que se observan, (Fig. 14). Una vez seleccionada la población de interés (CD45-) se procede a determinar el porcentaje de células positivas para los marcadores de inmadurez enlistados en la Tabla 7.

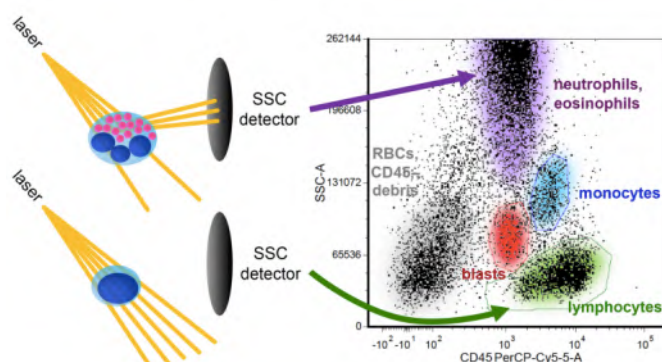


Figura 14. Ventana de CD45 contra SSC. A medida que cada célula pasa por el citómetro un rayo láser incide sobre ella. Los gránulos como los neutrófilos, eosinófilos y monocitos refractan y reflejan parte de la luz de forma perpendicular y es medida con un detector de dispersión lateral que refleja la complejidad celular interna (Side Scatter) mientras que otro detector de dispersión frontal mide la forma y volumen celular. Tomado de Tsai, A. G., *et al.*, 2020.

Tabla 7. Panel de anticuerpos para el análisis de SVCU

CD	EXPRESIÓN	ORIGEN	FLUOROFORO
CD3	Células T maduras	Ratón	Anticuerpo conjugado con FITC
CD5	Células T y B	Ratón	Anticuerpo conjugado con APC-Cy7
CD8	Células T citotóxicas y algunas NK	Ratón	Anticuerpo conjugado con PE-Cy7
CD10	Células pre-B y B del centro germinal	Ratón	Anticuerpo conjugado con PE-Cy7
CD15	Se expresa durante las primeras etapas del desarrollo granulocítico y de forma débil en los monocitos maduros	Ratón	Anticuerpo conjugado con FITC
CD19	Células pre-B y B maduras	Ratón	Anticuerpo conjugado con PerCP-Cy5.5
CD33	Progenitores mieloides y monocitos	Ratón	Anticuerpo conjugado con PE-Cy7
CD38	Se expresa fuertemente en la mayoría de células mieloides pero está ausente en las células madre (CD34+/CD38-)	Ratón	Anticuerpo conjugado con APC-Cy7
CD45	Contribuye en la diferenciación fenotípica de subpoblaciones inmaduras de leucocitos, se le conoce como antígeno leucocitario común.	Ratón	Anticuerpo conjugado con PerCP-Cy5.5
CD61	Se encuentra en estadios tempranos de diferenciación en megacariocitos	Ratón	Anticuerpo conjugado con FITC
CD71	Marcador de diferenciación eritroide	Ratón	Anticuerpo conjugado con FITC
CD117	Receptor del factor de células madre (SCFR, por sus siglas en inglés), es principalmente un marcador de progenitores no linfoides y se expresa en aproximadamente el 50% de los progenitores CD34+.	Ratón	Anticuerpo conjugado con APC-Cy7
HLA-DR	Se puede expresar en algunas células progenitoras hematopoyéticas en diferentes etapas de diferenciación	Ratón	Anticuerpo conjugado con PE-Cy7
ABREVIATURAS: CD: cluster of differentiation, NK: natural killer			

7.17 Consideraciones éticas

El código de Núremberg y la declaración de Helsinki regulan a la comunidad médica en lo relativo a los preceptos de ética en la investigación, donde el principio básico es el respeto por el individuo, su derecho a tomar decisiones una vez que se le ha informado claramente los riesgos y beneficios de su participación o no en un estudio de investigación médica, la cual deberá ser de manera libre, sin presiones de ninguna índole y con el compromiso de que puede retirarse de la investigación cuando así lo decida. Otro precepto es que, el bienestar del sujeto siempre debe estar por encima de los intereses de la ciencia y de la sociedad.

La presente investigación contemplará el uso de bases de datos, expedientes clínicos y obtención de remanentes de muestras de sangre periférica y/o médula ósea de pacientes.

De acuerdo a la Declaración Universal de Bioética Derechos Humanos (UNESCO) la obtención de muestras biológicas como la extracción de sangre con aguja y jeringa se considera un procedimiento invasivo, sin embargo, éste estudio utilizará los remanentes de muestras obtenidas por indicación del médico tratante para estudios de rutina del paciente, por lo cual se considera la investigación con un riesgo mínimo según lo estipulado en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y en el artículo 23 del reglamento antes mencionado. Así, a las pacientes con leucemia aguda y que reúnan los criterios de inclusión, se les invitará a participar en el presente proyecto y una vez explicado los riesgos y beneficios se les pedirá que firmen el documento del consentimiento informado.

El manejo del material genético obedece a los artículos dispuestos en la Declaración Universal Sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos (UNESCO), haciendo énfasis en el artículo 4: “El genoma humano en su estado natural no puede dar lugar a beneficios pecuniarios”; el artículo 5: “Ninguna investigación relativa al genoma humano ni ninguna de sus aplicaciones, en particular en las esferas de la biología, la genética y la medicina, podrá prevalecer sobre el respeto de los derechos humanos, de las libertades fundamentales y de la dignidad humana de los individuos o, si procede, de grupos de individuos”; el artículo 12: “Toda persona debe tener acceso a los progresos de la biología, la genética y la medicina en materia del genoma humano, respetándose su dignidad y derechos”. Así mismo, todos los procedimientos experimentales están sujetos a la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos, subrayando las aplicaciones de las mismas rigurosas exigencias de confidencialidad a todos los datos médicos, que comprenden los datos genéticos y los proteómicos, con independencia de la información que aparentemente contengan. Teniendo presentes los instrumentos internacionales, regionales, además de las legislaciones, reglamentos y textos éticos nacionales referentes a la protección de los derechos humanos y las libertades fundamentales, y al respeto de la dignidad humana en las actividades de

recolección, tratamiento, utilización y conservación de datos científicos, y de datos médicos y personales. Considerando que la recolección, el tratamiento, la utilización y la conservación de los datos genéticos humanos tienen una importancia preponderante para el progreso de las ciencias de la vida y la medicina.

En el aspecto de la conservación de las muestras biológicas, el artículo 17 establece que “Las muestras podrán utilizarse para obtener datos genéticos humanos o datos proteómicos humanos si se cuenta con el consentimiento previo, libre, informado y expreso de la persona interesada”. No obstante, el derecho interno puede prever que, cuando esos datos revistan importancia a efectos de investigación médica y científica, por ejemplo, para realizar estudios epidemiológicos o a efectos de salud pública, puedan ser utilizados con tales fines siguiendo los procedimientos de consulta de los comités de ética de carácter institucional o local correspondientes. Cuando se recolecten datos genéticos humanos, datos proteómicos humanos o muestras biológicas con fines de investigación médica y científica, la persona de que se trate podrá revocar su consentimiento, a menos que esos datos estén irreversiblemente disociados de una persona identificable, ya que por lo dispuesto en el párrafo d) del artículo 6 de la presente Declaración “La revocación del consentimiento no debería acarrear ningún perjuicio o sanción para la persona interesada”.

7.18 Análisis estadístico

Se utilizaron escalas logarítmicas para el tratamiento de los datos. El análisis de normalidad se comprobó con la prueba de Shapiro-Wilk. Una vez conocida la distribución Gaussiana, los grupos se compararon con las pruebas de análisis unidireccional (ANOVA) y Kruskal Wallis así como pruebas post hoc de Tukey y Dunn's respectivamente. Los estudios de correlación se realizaron con el coeficiente de correlación de Pearson ó en su defecto el coeficiente de correlación de Spearman para datos no paramétricos, adjunto a las pruebas de correlación se realizó un análisis de regresión lineal.

La correlación es el grado de dependencia que existe entre variables, cuando se trata de sólo dos variables, se utiliza el coeficiente de correlación de Pearson (Spearman para datos no paramétricos) su objetivo es demostrar el grado de dependencia lineal que existe entre dos

variables, X e Y . Su interpretación sólo está realmente justificada en la medida que la regresión óptima entre ambas variables sea lineal, una vez probada esta condición podemos inferir que el coeficiente de correlación de Pearson está siempre comprendido entre -1 y +1 para lo cual (93):

Coefficiente de correlación (r)		
Fuerza de la asociación	Positivo	Negativo
Baja	0.1 a 0.3	-0.1 a -0.3
Moderada	0.3 a 0.5	-0.3 a -0.5
Alta	0.5 a 1.0	-0.5 a -1.0

Debido a que todos nuestros datos cumplieron con una regresión lineal (Fig. 30), se realizaron las pruebas de correlación lineal de Pearson y Spearman en relación con la normalidad de los datos, en adición utilizamos una prueba dos colas para el contraste de hipótesis con un intervalo de confianza del 95%.

Para la asociación con las variables pronósticas se realizó la comparación de medias entre los grupos de riesgo, con la prueba t de Student y/o U de Mann-Whitney para grupos no paramétricos. La diferencia entre dos poblaciones se considera significativa con intervalos $>95\%$ ($P < 0.05$). Se utilizaron los programas SPSS versión 25.0 y Prism GraphPad versión 8.0.

8. RESULTADOS

8.1 Estandarización de la técnica RT-qPCR

La técnica de RT-qPCR ha sido utilizada para la detección de EMR con una sensibilidad de 10^{-4} ; es por ello que su estandarización metodológica es esencial para garantizar la reproducibilidad del procedimiento y resultados fidedignos (87).

Una vez que los oligonucleótidos son diseñados y obtenidos se deben optimizar las concentraciones para cada uno de ellos. Las concentraciones óptimas de los oligonucleótidos son determinadas de forma empírica aunque se recomienda que sean de 0.05 a 0.9 μM . En ocasiones, las concentraciones óptimas pueden no ser las mismas para ambos oligonucleótidos. Sin embargo, para la mayoría de los propósitos, simplemente valorando cantidades equimolares de los dos oligonucleótidos se obtendrán resultados satisfactorios. Se deben identificar aquellas combinaciones que den el menor C_T , ya que los valores de C_T más bajos corresponden a una producción más eficiente del producto (89,90,94). En la Fig. 15 se muestra el esquema general de trabajo utilizado para la estandarización de la RT-qPCR.

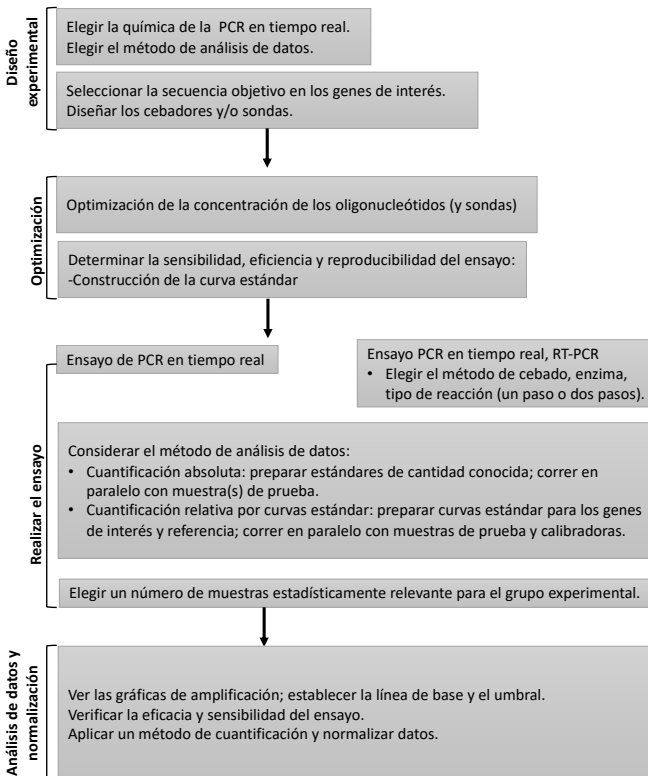


Figura 15 Flujograma de trabajo para la estandarización del ensayo por RT-qPCR. Adaptado y traducido de Cold Spring Harb Protoc; doi:10.1101/pdb.top095000.

a) Diseño de los oligonucleótidos

Mediante revisión bibliográfica se buscaron los oligonucleótidos para los genes *eIF3f*, *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B*; verificando que fueran de origen humano y utilizados en estudios de leucemia aguda. Las secuencias de los oligos fueron analizadas en sitio web "The BLAST Sequence Analysis Tool" siguiendo las recomendaciones para su uso con el tinte SYBR™ Green (Tabla 8, Fig. 16) (89,94):

- Se recomienda una longitud de 20 pares de bases para una imprimación óptima.
- Contenido de GC en el rango de 20 a 80% y este deberá ser el mismo para el par de oligonucleótidos.
- Mantener una temperatura de fusión (T_m) entre 58 y 60 °C.
- Los cinco nucleótidos en el extremo 3' no deben contener más de dos bases G y/o C.
- Los pares de oligonucleótidos deben amplificar un amplicón de tamaño adecuado (<300 pb, idealmente de 100 a 200 pb).
- Los sitios de unión del cebador no deben tener una estructura secundaria extensa.
- Los extremos 3' de la imprimación deben estar libres de estructura secundaria y ser repetitivos.
- Los pares de oligonucleótidos no deben complementarse significativamente entre sí ni a sí mismos.
- Deben tener temperaturas de fusión similares.

Tabla 8. Características de los oligonucleótidos utilizados

5'—Oligonucleótido—3'	Gen	Especie	Número de bases	GC %	TM °C	Concentración Pmol/mL(mM)
TGCAGCA ATACCATTGACCT AGATTGCTCAAAGATAGCAGAAGT	STAT3 α anverso STAT3 α / β reverso	Homosapiens	23 24	45 37.5	58 59.44	100 100
GTTTATCTGTGTGACACCATTTCAT AGATTGCTCAAAGATAGCAGAAGT	STAT3 β anverso STAT3 α / β reverso	Homosapiens	24 24	37.5 37.5	59.44 59.44	100 100
GCAGAGTCCGTGACAGAGG CCACAGGTAGGGACAGAGTCT	STAT5 A anverso STAT5 A reverso	Homosapiens	19 21	63.16 57.14	62 64.52	100 100
CAGAACACGTATGACCGCTG CTGGAGAGCTACCATTTGTTGG	STAT5 B anverso STAT5 B reverso	Homosapiens	20 21	55 52.38	62 62.57	100 100
CACCCAGTCATTTTGGCCTC CGACAGTCCCAACAGGGTC	eIF3f anverso eIF3f reverso	Homosapiens	20 20	55 60	62 64	100 100
TGGAGATAACACTCTAAGCATAACTAAAGGT GATGTAGTTGCTTGGGACCCA	ABL anverso ABL reverso	Homosapiens	31 21	50 50	63.32 62.57	100 100
AGCGTACTCAAAGATTACGGTT TACATGTCTCGATCCCACTTAACTAT	B2M anverso B2M reverso	Homosapiens	23 26	43.48 38.46	59 59	200 200

b) Hidratación de oligonucleótidos

Los stock fueron centrifugados a 5000 rpm por 20 seg, se hidrataron con 100 μ L de agua inyectable estéril, se continuó con otra centrifugación a 5000 rpm por 20 seg y se procedió a incubar 15 min a temperatura ambiente.

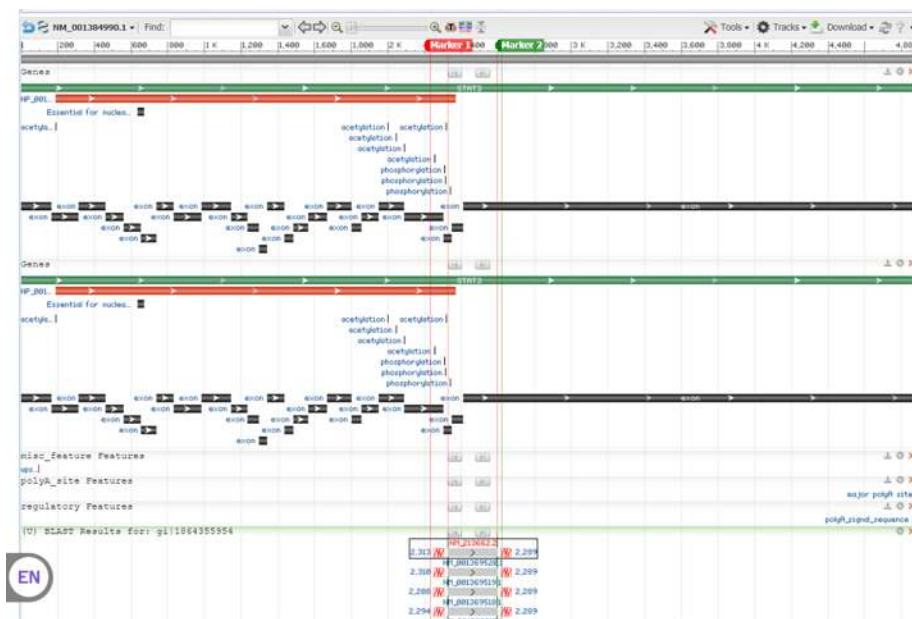


Figura 16. Ejemplo del análisis *BLAST* de *STAT3 β* . Se observa que el amplicon toma 2 exones de *STAT3 β* y flanquea una sección del amplicon.

c) Optimización de la concentración de los oligonucleótidos

Todos los oligonucleótidos fueron cuantificados en el sistema NanodropTM One con el objetivo de descartar la presencia de contaminantes y conocer la cantidad de oligonucleótidos (Fig. 17). Fue de nuestra atención que el anverso de ABL superaba a su complemento en casi el doble de cantidad de oligonucleotidos (672.5 ng/ μ L) razón por la cual procedimos a realizar gel de electroforesis al 1.5% durante 30 min a 80 V para verificar la equimolaridad entre las parejas de oligonucleótico. En la electroforesis fue posible ver esta tendencia nuevamente observando la banda correspondiente a ABL anverso (banda 1 de la Fig. 17) más intensa que su par, el resto de oligonucleótidos se observaron equimolares.

Carril	Oligo	Cantidad ng/μL	260/280	230/260
1	ABL AV	1 559.5	1.91	1.59
2	ABL RV	887.0	1.82	2.09
3	EIF3F AV	725.6	1.31	1.74
3	EIF3F RV	814.5	1.5	1.75
5	STAT5B AV	996.6	1.58	1.82
6	STAT5B RV	811.5	1.56	2.07
7	STAT3β AV	1107.9	1.56	2.05
8	STAT3β RV	1080.8	1.94	1.90

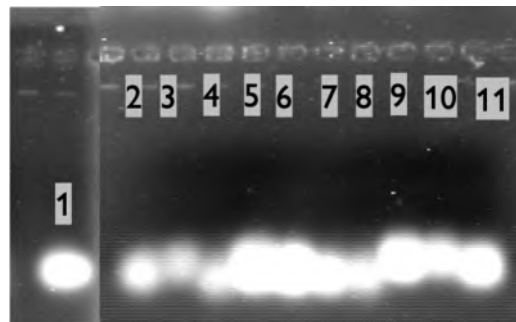


Figura 17. Gel de electroforesis al 1.5% para comprobar la equimolaridad de los oligonucleótidos.

Se continúa realizó una RT-qPCR para comprobar el tamaño de los fragmentos en un volumen de reacción de 10 μL y una concentración final de Super mix iTAq Universal SYBR Green 1X, oligonucleótidos anverso y reverso a 300nM y agua inyectable cbp 10 μL. El tamaño de los fragmentos se comprobó en gel de Poliacrilamida al 12%.

Al observar que el C_T de los oligonucleótidos se mantenía entre 20 y 30 a 300 nM se eligió esta concentración como el punto de corte para los ajustes en su concentración y lograr la optimización de su concentración (Tabla 9). Las diluciones fueron probadas en una muestra de sangre periférica procedente de un paciente sano (control negativo) se observó poca variación en el C_T de las concentraciones de 150 y 300 nM por lo que se optó por elegir la concentración de 150 nM para experimentos posteriores en la línea K562 (control positivo). Además fue posible evaluar la reproducibilidad de resultados en diferentes experimentos y en un inicio se identificó la diferencia de al menos 3 ciclos (C_T) entre experimentos en una misma muestra, sin embargo esto es debido a la poca experiencia del metodólogo en el montaje de la prueba, esta condición fue mejorada y al realizar ensayos por duplicado en la línea K562 (control positivo) es posible observar una mínima variación entre ambos C_T .

Tabla 9. Concentraciones utilizadas para la optimización de los oligonucleótidos.

GEN	CONCENTRACION	C _t CONTROL NEG		C _t CONTROL POS	
		Experimento 1	Experimento 2	Replicado 1	Replicado 2
STAT3 α	75 nM	28.12			
	150 nM	23.54	26.04	17.53	17.83
	300 nM	23.53			
STAT3 β	75 nM	33.54			
	150 nM	27.68	27.47	21.67	20.53
	300 nM	27.75			
STAT5A	75 nM	23.98			
	150 nM	25.03	20.89	15.15	14.28
	300 nM	19.96			
STAT5B	75 nM	22.31			
	150 nM	21.64	26.86	16.88	15.95
	300 nM	21.61			
EIF3F	75 nM	19.99			
	150 nM	19.79	20.24	15.81	14.71
	300 nM	19.69			

Otro punto importante al momento de realizar el análisis de resultados de una qPCR es la interpretación de las curvas de fusión (Melt Curve), lo anterior debido a que proporcionan información sobre la posible presencia de productos inespecíficos debido a contaminación en el proceso o por formación de estructuras secundarias (dimers) (Fig. 18).

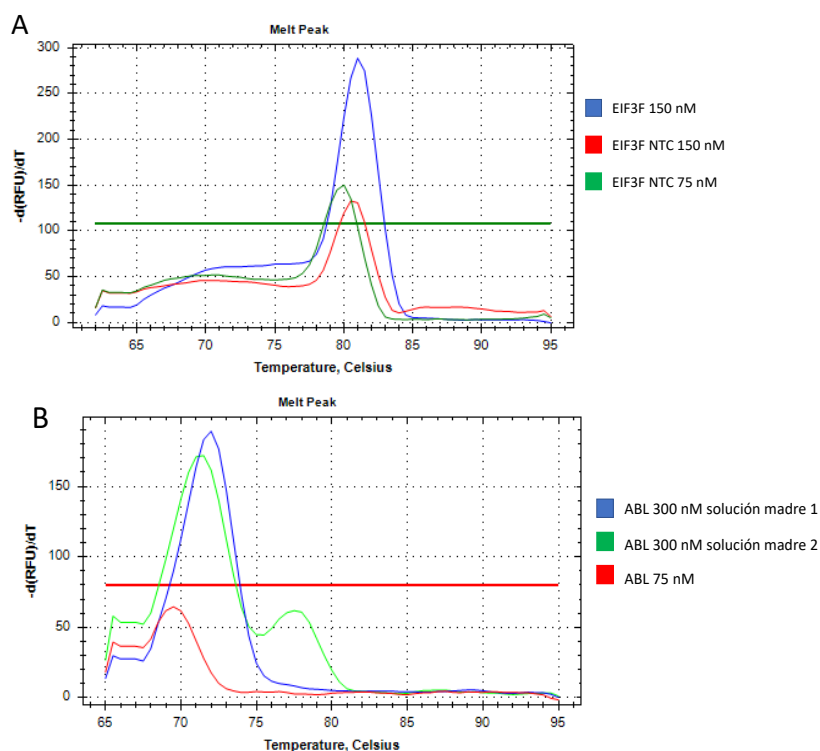


Figura 18. Análisis de curvas de fusión. A) Se observa la diferencia entre una curva de fusión de un amplicón específico en una solución de trabajo contaminada del cebador EIF3F que se encuentra entre 75 y 80 °C con un RFU 80.50 en la muestra sin plantilla de control (NTC; no template control) correspondiente con el amplificado de interés. **B)** Formación de estructuras secundarias identificadas por una curva de fusión (T_m) característica menor de 75 °C.

Debido a la constante presencia de estructuras secundarias en el gen control ABL se procedió a diluir la concentración de los oligonucleótidos por debajo de 75 nM en una muestra control de paciente sano con su respectivo blanco, debido a que en ésta concentración no se obtuvo amplificado específico (Tabla 10). Al disminuir la concentración del cebador anverso frente al reverso (50/50 y 50/75 nM) se logró eliminar la presencia de estructuras secundarias en la muestra control sin plantilla (NTC; no template control) (Fig.19), por lo cual se atribuyen las mismas a este cebador, estos resultados concuerdan con los obtenidos en la electroforesis y cuantificación de oligonucleótidos donde se observa que existe discrepancia entre las concentraciones de ambos oligonucleótidos (Fig. 17). En colorario elegimos la concentración de 150 nM en los oligonucleótidos anverso y reverso para los ensayos subsecuentes.

Tabla 10. Diluciones seriadas del gen control ABL

OPTIMIZACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE ABL						
OLIGONUCLEÓTIDO ANVERSO (nM)	OLIGONUCLEÓTIDO REVERSO (nM)					
	50	C _T DE MUESTRA CONTROL	C _T NTC	75	C _T DE MUESTRA CONTROL	C _T NTC
50	50/50	26.07	N/A	75/50	25.12	35.65
75	50/75	26.99	N/A	75/75	23.79	30.15

ABREVIATURAS: no amplificado (N/A)

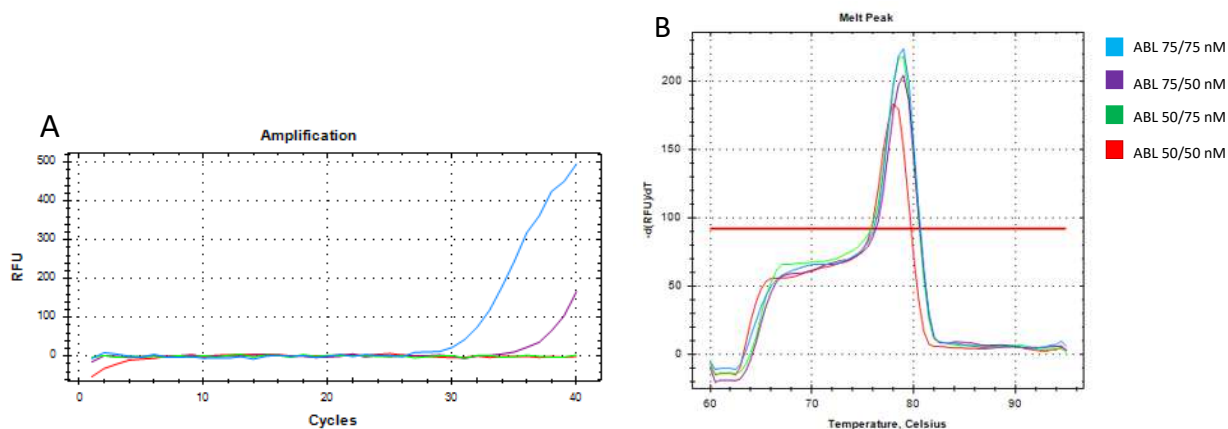


Figura 19. Ensayo de optimización de la concentración del gen ABL. A) Curva de amplificación donde se observa en la línea basal en rojo y verde la ausencia de estructuras secundarias. **B)** Curva de fusión con una T_m de 79 en las concentraciones 75/75, 75/50, 50/50 y de 78 en 50/75 nM.

Este experimento se repitió con el gen control β -2 microglobulina, la concentración de 300 nM para ambos oligonucleótidos mostraba una elevada expresión con un C_T menor a 20 por lo cual se decide disminuir su concentración mediante la combinación de diluciones seriadas (Tabla 11). A una concentración de 150/150 nM obtuvimos valores de C_T cercanos a 20 por lo que utilizamos esta combinación en los ensayos siguientes, es de resaltar que además este gen nunca presentó la formación de estructuras secundarias en el NTC.

Una vez establecidas las concentraciones óptimas para ambos genes de referencia se realizaron varios ensayos en muestras de un paciente sano (CTRL NEG) y en la línea K562 (CTRL POS) con la finalidad de analizar la constancia en la expresión de los genes de referencia entre distintas muestras. El gen ABL mostró discrepancia en el C_T entre ensayos y las muestras, no así β -2 microglobulina cuya expresión se antuvo constante entre los ensayos y las muestras variando en apenas 1 C_T (Tabla 11). Resultados semejantes fueron obtenidos por el grupo de trabajo de Ullmannová V., Haskovec C., en 2003 mediante la validación de diversos genes de referencia por medio de RT-qPCR en células de leucemia mieloide las cuales fueron sometidas a tratamientos con 12-o-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetato (TPA), ácido butírico (BA), factor de necrosis tumoral α (TNF α), camptotecina (CAM) e Interferon γ (Imukin) por tiempos específicos. β -2 microglobulina demostró ser el gen de referencia más estable entre las distintas condiciones. ABL no fue adecuado en la mayoría de los modelos, el único modelo en el que su nivel no se vió influido fue después de la inducción de la diferenciación por TNF α + IFN γ . Esta información respalda nuestros resultados y la decisión de seleccionar a β -2 microglobulina como el gen de referencia para normalizar la expresión de los genes de interés en nuestra población de estudio (95).

Tabla 11. Estabilidad de ABL y β -2 microglobulina

GEN	CONCENTRACION	C_T CTRL NEG	C_T CTRL POS
ABL	50 nM	E1: 29.90—E2: 36.15	22.38
B2M	150 nM	E1: 21.83 E2: 22.61	22.17

d) Eficiencia del ensayo

Para corroborar la eficiencia y reproducibilidad del ensayo se procedió a construir una curva estándar de los genes en estudio. Se considera que para que una reacción de PCR tenga una eficiencia aproximada al 100% tener una diferencia de 3.3 ciclos entre las diluciones seriadas con una diferencia de concentración de 10 veces, dando como resultado una pendiente entre -3.6 y -3.1 y un $R^2 > 0.99$. Para su elaboración se recomienda realizar un mínimo de 5 diluciones logarítmicas seriadas (90,91). Para obtener nuestra pendiente fue necesario el uso de la siguiente ecuación:

$$E = 10^{(-1/\text{slope})} - 1$$

Donde:

E = Eficiencia de la reacción

$Slope$ = pendiente de la gráfica del valor C_T frente al logaritmo de la cantidad de plantilla utilizada.

Las diluciones realizadas fueron las siguientes:

Dilución de cDNA	40	4	0.04	0.004	0.0004
Log ₁₀	1.60205999	0.60205999	-1.39794	-2.39794	-3.39794

La dilución de 0.0004 no mostró amplificación por lo cual se utilizaron únicamente 4 diluciones en la realización de la curva. Al realizar la regresión lineal entre los valores de C_T obtenidos contra el Log_{10} de cada dilución obtuvimos la siguiente tabla y curva estándar:

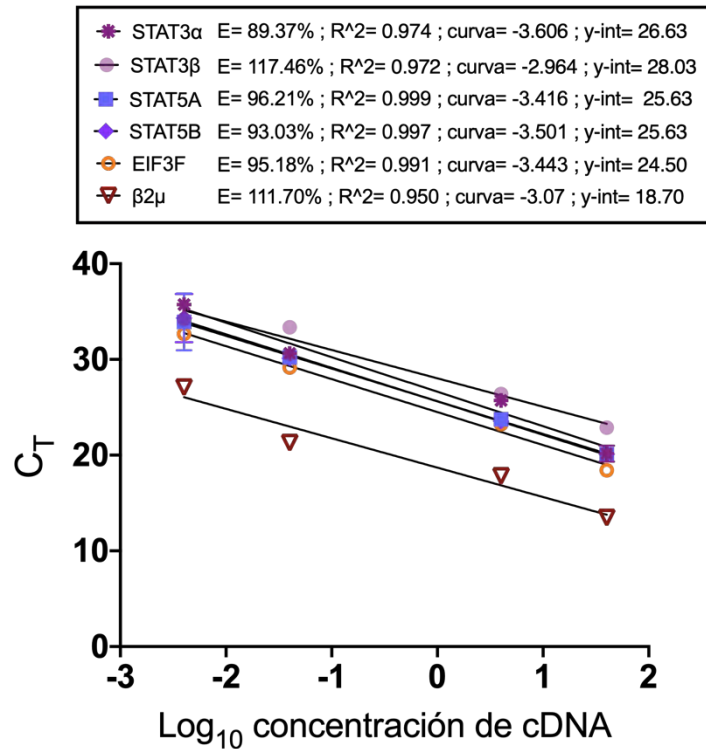


Figura 20. Curva estándar para la eficiencia de la PCR en tiempo real.

Se anexan los gráficos obtenidos del estudio de eficiencia de B2M. En la Fig. 21A se observa las curvas de fusión de las distintas diluciones del gen estudiado observando que todas coinciden en 80° C y se corrobora en los puntos de fusión de la Fig. 21C. En la Fig. 21B a simple vista observamos una diferencia de aproximadamente 3 ciclos entre cada dilución.

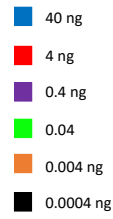
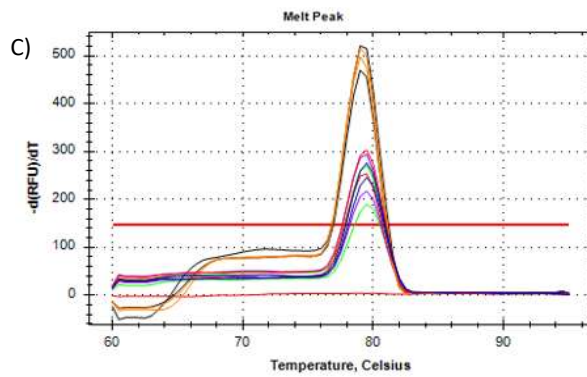
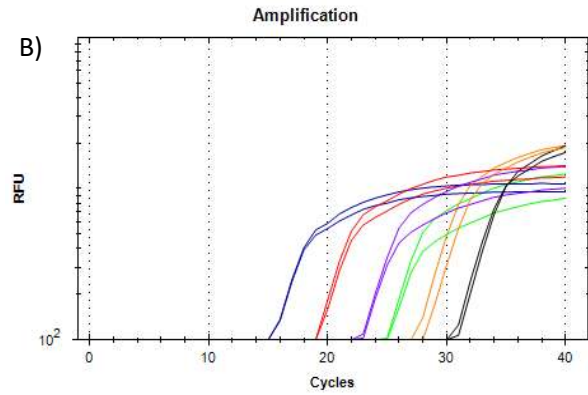
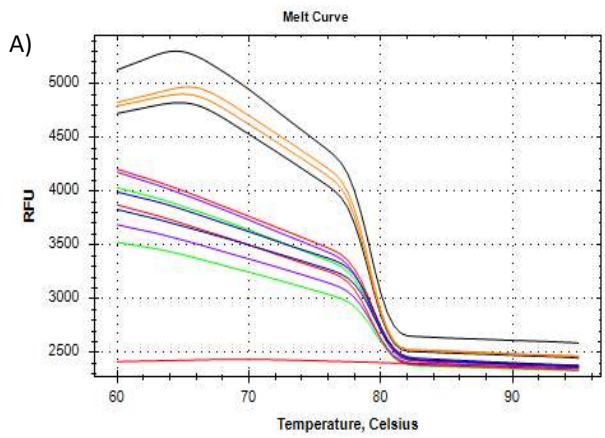


Figura 21. Variaciones en la concentración de β -2 microglobulina. A) Curva de fusión B) Curvas de amplificación C) Pico de fusión.

8.2 Descripción del grupo control

Se obtuvieron 6 muestras de SVCU, debido a patologías diagnosticadas en el puerperio inmediato y deficiencias en la calidad del templado, solo 3 muestras se incluyeron en el grupo control. Las CMN fueron aisladas por gradiente de densidad mediante el protocolo previamente descrito, se procedió a realizar la inmunotipificación de las muestras para la caracterización de sus poblaciones. La Fig. 22 muestra un ejemplo de los diagramas de la citometría de flujo que resultan en la selección de la población de interés: células inmaduras CD45-, posteriormente se determina el porcentaje de células CD117+ y HLA-DR+. El promedio estimado de células inmaduras hematopoyéticas en nuestras muestras fue de 3.03%, por lo cual decidimos se utilizar las CMN de SVCU como grupo control, siendo equiparable a una médula ósea normal.

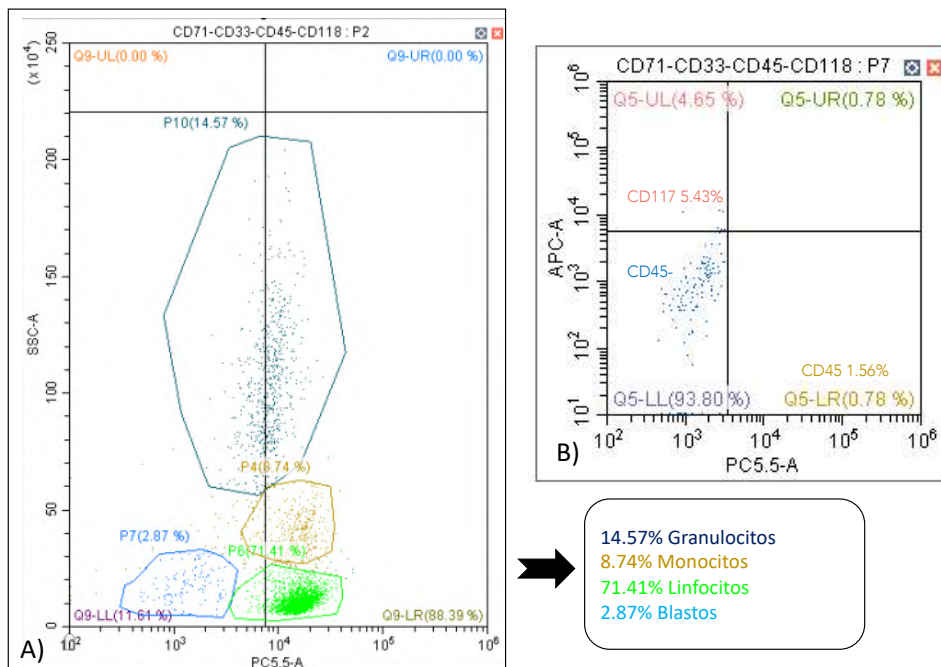


Figura 22. Selección de la población de células inmaduras CD45-. A) Selección de la población de interés (color azul) en base al anticuerpo CD45 y su complejidad (CD45 vs. SSC). **B)** Población positiva para CD117 (color rojo).

8.3 Descripción de la población de estudio

Durante el periodo de septiembre de 2020 al 31 de octubre de 2021 se recibieron muestras de 74 pacientes con diagnóstico probable de leucemia aguda *de novo*, de las cuales 27 no fueron seleccionadas debido a las razones siguientes:

- 3 muestras de pacientes con LA y tratamiento previo de esteroide
- 2 recaída
- 1 anemia aplásica
- 4 muestras sin viabilidad celular
- 1 paciente en remisión
- 2 pacientes con diagnóstico diferente a LA
- 2 pacientes con leucemia linfocítica crónica
- 1 paciente con leucemia bifenotípica
- 1 paciente embarazada
- 10 muestras sin integridad de ARN

La distribución de pacientes referidos por institución fue la siguiente: 31.08% (n= 23) del IMSS, 31.08% (n= 23) del Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”, 27.02% (n= 20) del Hospital Civil “Dr. Miguel Silva”, 6.7% (n= 5) del ISSSTE, 1.35% (n= 1) del Hospital de la Mujer y 2.70% (n= 2) de un medio privado. Estos datos nos orientan sobre la cobertura poblacional que las distintas instituciones publicas tienen, siendo las pertenecientes a la SSA las responsables de atender a un mayor sector poblacional, en general sin seguridad social, estos datos concuerdan con información presentada por la Encuesta Nacional de Empleo y Seguridad Social (ENESS) en su edición 2017 que reporta a Michoacán dentro de los tres estados con menores porcentajes de afiliación (77.6%) (96). La falta de seguridad social pone a los pacientes en una situación vulnerable debido al alto coste que esta patología oncológica representa.

De los 47 pacientes incluidos en este estudio 57.44% (n= 27) fueron adultos y 42.4% (n= 20) pediátricos, respecto al tipo de leucemia la LLA se presentó en un 85% (n= 17) en la población pediátrica frente a 48.1% (n= 13) en adultos. En contraparte la LMA se diagnosticó en un 55% de los pacientes adultos, un análisis más detallado de la distribución del subtipo

de leucemia por grupo de edad se muestra en la Fig. 23, donde observamos que mientras la LLA predomina en pacientes pediátricos y adultos jóvenes, la LMA lo hace en pacientes de mayor edad, convirtiéndose en la enfermedad predominante en mayores de 36 años, esta tendencia concuerda con literatura reportada a nivel nacional y mundial que reportan a la LMA como una neoplasia de adultos mayores cuya incidencia aumenta progresivamente con la edad (3,97,98). Cabe resaltar que la edad de mayor incidencia de LLA fue en el rango de 1 a 9 años, a propósito Pérez-Saldivar *et al.*, (2014) reportan la misma distribución ya que de los 192 pacientes pediátricos con LLA, comprendidos en los años 2006-2007, un total de 146 se encontraban en este segmento etario (22).

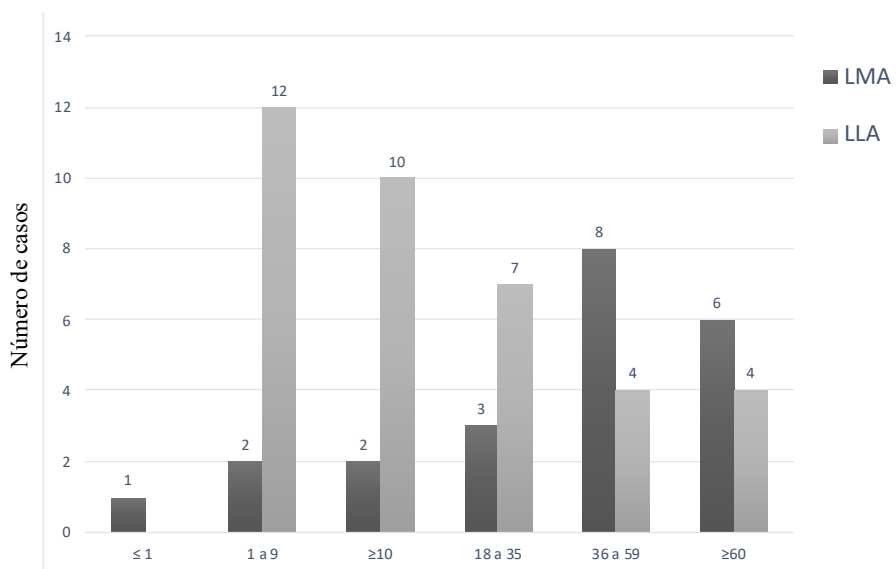


Figura 23. Distribución de pacientes por grupo de edad.

En lo referente a el sexo observamos que la LLA predomina en infantes masculinos (Tabla 12), en México y en el mundo esta distribución de género ha sido equivalente, una de las razones que explican la mayor incidencia de LLA en el sexo masculino y su peor pronóstico se debe al efecto de la prolactina, andrógenos y estrógenos que confieren a las mujeres mayor resistencia en la leucemia (99).

Tabla 12. Población de estudio

Población		Tipo de leucemia	Distribución
Infantil 0 - 17 años	n= 20	LLA 85% n= 17	Media de edad → 9 años Sexo 12 vs 5
		LMA 15% n= 3	Media de edad → 9 años Sexo 1 vs 2
Adulta ≥ 18 años	n= 27	LLA 45% n= 12	Media de edad → 44 años Sexo 6 vs 6
		LMA 30% n= 8	Media de edad → 52 años Sexo 2 vs 6
		LPA 25% n= 7	Media de edad → 49 años Sexo 4 vs 3

En la distribución con arreglo al inmunofenotipo, dentro del sector infantil el tipo de leucemia aguda predominante fue la LLA, ocupada principalmente por los subtipos BII y BIII, estadios más diferenciados que sitúan a los pacientes en un mejor pronóstico. Mientras que en la LMA predominaron las formas monocitoides (M4) (Fig. 24). La disgregación que observamos en nuestra población de pacientes concuerda con reportes nacionales e internacionales, ejemplos de ello son Rivera-Luna R, *et al.*, (2014) que reportan una tasa de incidencia anual promedio de 34.8 para la LLA-Pre B (BII) y de 5.9 para el LLA-T; y Santoyo-Sánchez *et al.*, (2016) que aluden al subtipo FAB M4 como el fenotipo más frecuente en pacientes del valle de México (3,84).

En la población adulta la distribución entre pacientes con LMA y LLA fue similar, en el primer grupo predominan las formas M3 (leucemia promielocítica) y M5, 3 pacientes no contaban con el acceso a este estudio de laboratorio por lo cual se clasificaron en relación a la morfología (FAB). En contraparte, la LLA los subtipos inmunológicos más frecuentes fueron BIII y BII.

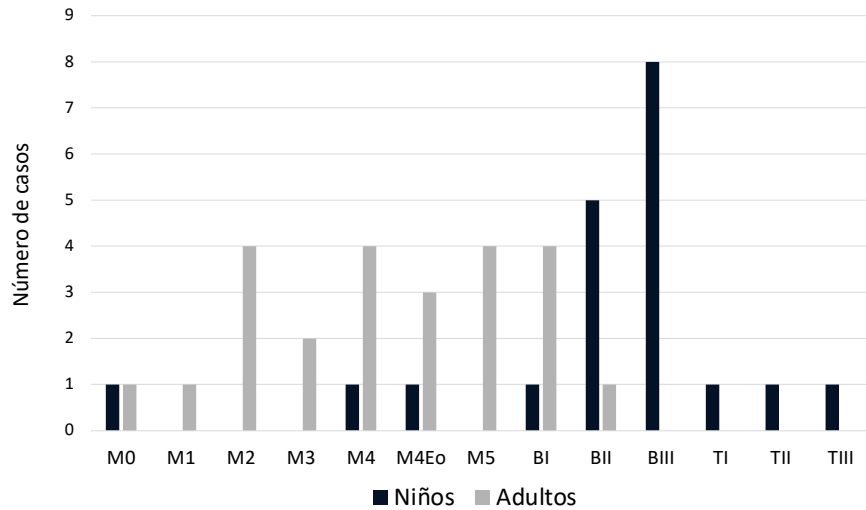


Figura 24. Distribución de inmunofenotipos en la población de estudio.

Las principales alteraciones citogenéticas encontradas en la población de estudio se enlistan en la Tabla 13. Cabe mencionar que los pacientes pertenecientes al Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos” y al ISSSTE son los únicos con acceso a este tipo de estudio y su realización es indispensable para realizar ajustes en la posología y plan terapéutico ya que ofrece la identificación de dianas terapéuticas, un ejemplo lo observamos en nuestra población, un par de niños con la $t(9;22)(q34.1;q11.2)$ que recibieron un inhibidor de tirosin cinasa (IMATINIB) adjunto a su quimioterapia convencional, a pesar del pronóstico adverso que supone esta aberración citogenética, los pacientes resultaron en una mayor sobrevida, el primer caso se trató de un niño que vivió por 117 días y el segundo caso de una niña que hasta el momento sigue en tratamiento.

Por último, la distribución de las muestras incluidas se dio de la siguiente manera: se recibieron un total de 47 muestras, que comprendían 26 muestras de médula ósea y 21 de sangre periférica.

Tabla 13. Alteraciones citogenéticas encontradas en la población de estudio

Diagnóstico	Alteración cromosómica	Adultos (n)	Niños (n)
LMA	t(15;17)(q24.1;q21.2)	3	
	Hiperdiploide	1	1
	t(6;9)(p23;q34.1)(13)	1	
	Inv(16)(p13q22)	1	
	Cariotipo complejo	1	2
	No determinado	8	
LLA	Normal	1	7
	t(9;22)(q34.1;q11.2)		2
	Cariotipo complejo	1	2
	No determinado	10	6

8.4 Objetivos 1 y 3. Determinar la expresión de *eIF3f*, *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con leucemia aguda *de novo*. Identificar la razón de expresión de *STAT3 β / α* y *STAT5B/A*

a) Expresión génica de *eIF3*, las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con leucemia aguda

En la tabla 14 se muestran los resultados de la expresión génica relativa en unidades arbitrarias de acuerdo al método $2^{-\Delta\Delta C_T}$.

Tabla 14. Expresión relativa de los genes *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A*, *STAT5B*

Población	Tipo de leucemia	Gen	Media	EE	DE	
PEDIÁTRICOS	LLA-B	<i>STAT3α</i>	0.56	0.46	1.72	
		<i>STAT3β</i>	0.46	0.32	1.21	
		<i>STAT5A</i>	0.54	0.21	0.79	
		<i>STAT5B</i>	0.28	0.22	0.86	
		<i>eIF3f</i>	0.79	0.22	0.83	
	LLA-T	<i>STAT3α</i>	1.04	0.49	0.85	
		<i>STAT3β</i>	0.34	0.62	1.08	
		<i>STAT5A</i>	0.61	0.24	0.42	
		<i>STAT5B</i>	0.43	0.16	0.28	
		<i>eIF3f</i>	0.57	0.25	0.43	
	LMA	<i>STAT3α</i>	1.47	.38	.67	
		<i>STAT3β</i>	1.49	.30	.53	
		<i>STAT5A</i>	1.46	.07	.13	
		<i>STAT5B</i>	1.29	.41	.72	
		<i>eIF3f</i>	1.25	.18	.31	
ADULTOS	LLA	<i>STAT3α</i>	.004	.53	1.86	
		<i>STAT3β</i>	-.37	.63	2.19	
		<i>STAT5A</i>	.85	.33	1.15	
		<i>STAT5B</i>	.48	.38	1.32	
		<i>eIF3f</i>	.93	.35	1.23	
	LMA	<i>STAT3α</i>	.85	.50	1.43	
		<i>STAT3β</i>	.85	.51	1.45	
		<i>STAT5A</i>	1.01	.22	.64	
		<i>STAT5B</i>	.54	.21	.60	
		<i>eIF3f</i>	.70	.21	.60	
			<i>STAT3α</i>	1.09	.46	1.22
			<i>STAT3β</i>	.53	.50	1.33

	LPA	<i>STAT5A</i>	.68	.35	.94
		<i>STAT5B</i>	.35	.36	.97
		<i>eIF3f</i>	.36	.56	1.49

EE: error estándar, DE: desviación estándar

b) Expresión de las isoformas *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes pediátricos

En los casos de LLA la expresión de *STAT3α* tuvo mayor expresión que *STAT3β*, sin embargo, esta diferencia no tuvo significancia estadística ($p = 0.99$), mientras que en pacientes con LMA la expresión de ambas isoformas fue similar (Fig. 25A). Debido a que *STAT3β* se ha propuesto como un regulador negativo de *STAT3α* y la disminución de su expresión en neoplasias hemato-oncológicas se asocia a mal pronóstico, se obtuvo el cociente de *STAT3β/STAT3α*. El grupo con LLA presentó un cociente de 0.68 y el de LMA de 1.01. Se comparó expresión de las isoformas *STAT3* en los pacientes con LA y el grupo control. En los casos con LLA se presentaron concentraciones similares, mientras que en la LMA se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.03$, fig. 25A).

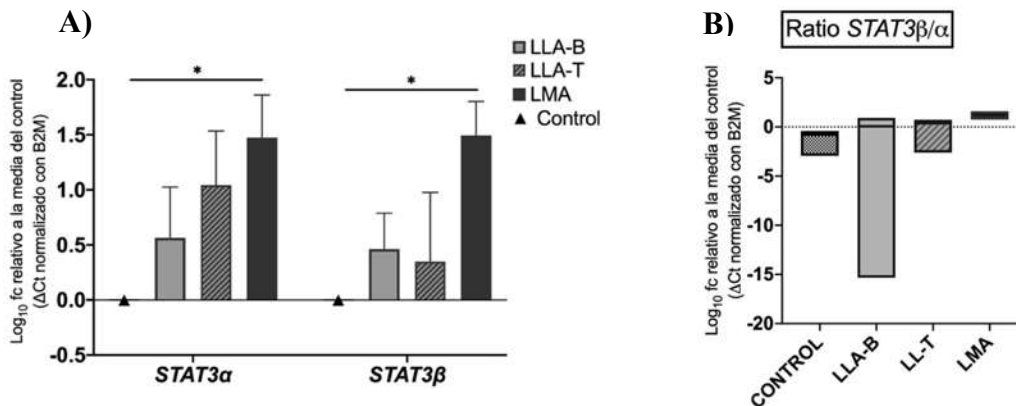


Figura 25. Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes pediátricos. A) Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en la población pediátrica. B) Ratio de expresión de las isoformas *STAT3β/STAT3α*. Para las comparaciones estadísticas se realizó un análisis de varianza unidireccional y una prueba de Tukey para análisis post hoc, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia $*p \leq 0.03$.

c) Expresión de las isoformas *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes adultos

Los casos con LLA y LPA presentaron menor expresión de *STAT3β* que *STAT3α*, no así en la LMA (Tabla 14, Fig. 26A); sin embargo, estas diferencias no fueron significativas.

La razón de expresión entre *STAT3β*/*STAT3α* en los diferentes tipos de leucemia, no presentó diferencias estadísticas (Fig. 26B).

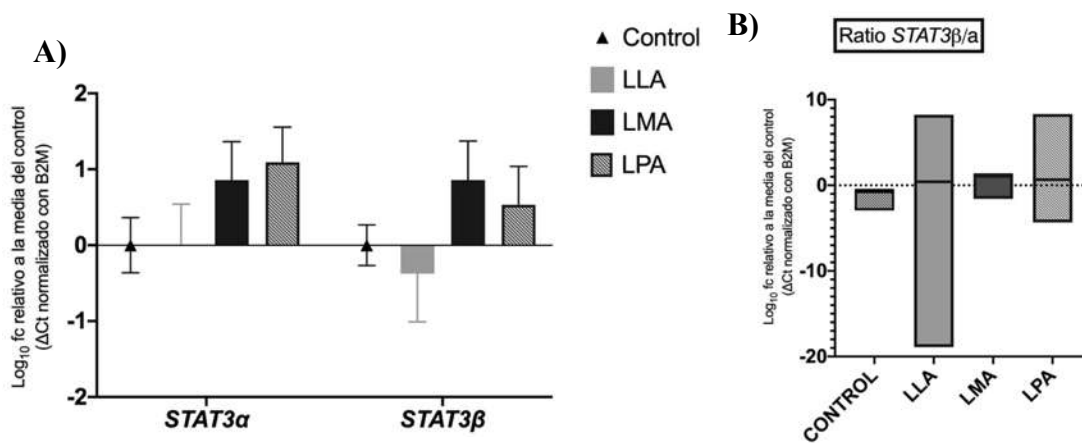


Figura 26. Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes adultos. A) Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en la población adulta. B) Ratio de expresión de las isoformas *STAT3β*/*STAT3α*, se muestra la media, el mínimo y máximo. La normalidad de los datos se evaluó con la prueba Shapiro-Wilk, en LPA *STAT3α* muestra una distribución no normal ($p < 0.05$) al igual que *STAT3β* en LMA, para las comparaciones estadísticas entre grupos se realizaron pruebas de análisis de varianza unidireccional y Kruskal Wallis así como las pruebas post hoc de Tukey y Dunn's respectivamente.

d) Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos

La expresión de *STAT5A* y *STAT5B* fue mayor en la LMA, que en la LLA. El aumento de expresión de ambos genes en la LMA, fue estadísticamente significativo ($p < 0.03$), no así en la LLA (Fig. 27A). Al analizar la proporción de expresión de los genes *STAT5B*/*STAT5A*, se encontró 0.56:1 en LLA y 0.87:1 en LMA; sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 27B).

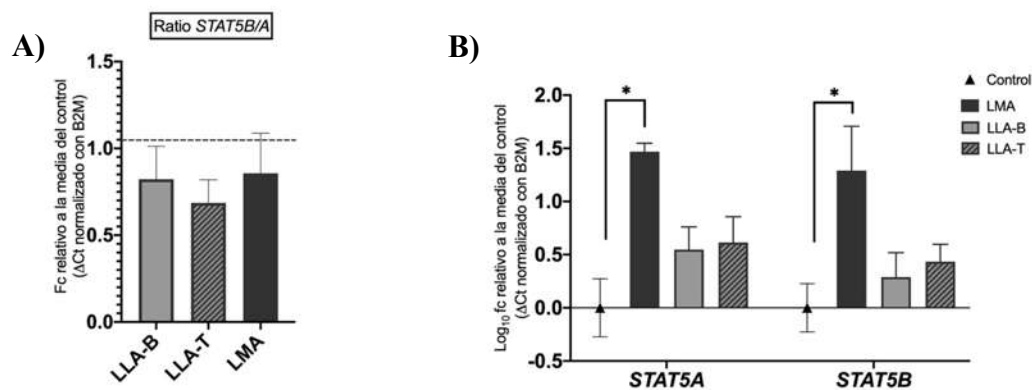


Figura 27. Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos. A) Ratio de expresión de las isoformas *STAT5B*/*STAT5A*, se muestra la media y el error estándar, la línea punteada simboliza el grupo control. B) Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en la población pediátrica. Para las comparaciones estadísticas se realizó un análisis de varianza unidireccional y una prueba de Tukey para análisis post hoc, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p < 0.03$.

e) Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos

STAT5A fue la isoforma dominante sobre *STAT5B*, sin embargo, fue en LPA donde *STAT5B* estaba más disminuida con relación a *STAT5A* (Fig. 28). Enseguida comparamos el comportamiento de estos genes dentro de la población con LA contra el grupo control, aunque se observa que todas las isoformas están sobre expresadas únicamente *STAT5A* del grupo con LMA mostró resultados estadísticamente significativos, lo cual concuerda con lo observado en nuestro grupo pediátrico con LMA (Fig. 27).

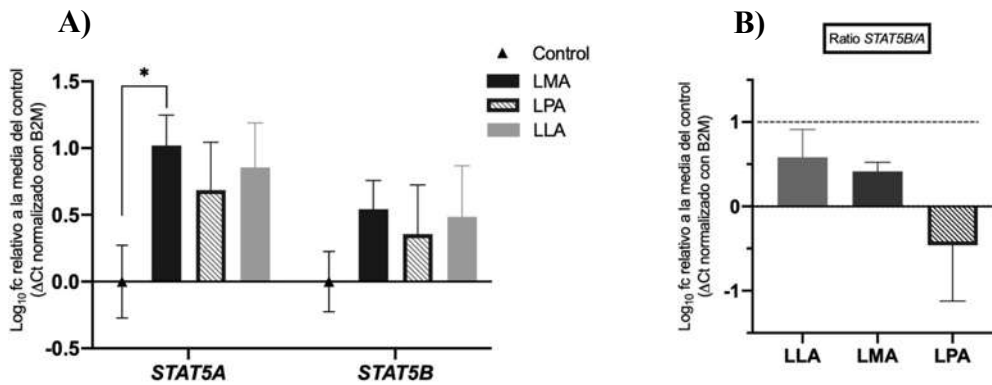


Figura 28. Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos. A) Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en la población adulta. B) Ratio de expresión de las isoformas *STAT5B/STAT5A* en adultos con leucemia aguda, se muestra la media y el error estándar, la línea punteada simboliza el grupo control. La normalidad de los datos se evaluó con la prueba Shapiro-Wilk, *STAT5B* siguió una distribución no normal ($p < 0.05$) en LMA y LPA, para las comparaciones estadísticas entre grupos se realizaron pruebas de análisis de varianza unidireccional y Kruskal Wallis así como las pruebas post hoc de Tukey y Dunn's respectivamente. Niveles de significancia $*p \leq 0.03$.

f) Expresión de *eIF3f*

La población pediátrica presentó mayor expresión de *eIF3f* en ambos tipos de leucemia, no obstante, solo obtuvo significancia estadística ($p < 0.03$) en pacientes pediátricos con LMA (Fig. 29A). En la población adulta, hubo mayor expresión de *eIF3f* en LLA, seguido de LMA y LPA; sin embargo, las diferencias no fueron significativas (Fig. 29B).

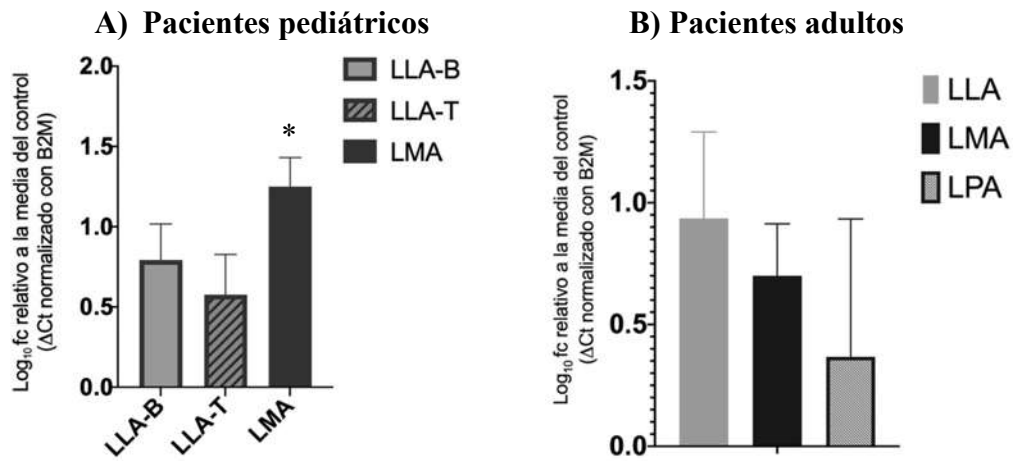


Figura 29. Expresión de *eIF3f* en pacientes con leucemia aguda. A) Expresión de *eIF3f* en pacientes pediátricos. **B)** Expresión de *eIF3f* en adultos. Para las comparaciones estadísticas se realizó un análisis de varianza unidireccional y una prueba de Tukey para análisis post hoc, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

8.5 Objetivo 2. Identificar relaciones entre la expresión de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* en leucemia aguda *de novo*

a) Relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con LLA

La expresión de *eIF3f* se asoció significativamente ($p < 0.03$) con ambas isoformas de *STAT3*, aunque mejor con *STAT3 α* ($p = 0.0009$), que como se mencionó previamente fue la isoforma dominante en este grupo (Fig. 30). En cuanto a los genes *STAT5* ambas resultaron relacionarse de forma significativa con *eIF3f*, no obstante, fue *STAT5A* quien se asocio con mayor significancia ($p < 0.0001$) que *STAT5B*. La relación de *eIF3f* con todas las isoformas estudiadas en este grupo obtuvo una correlación lineal positiva, es decir que *eIF3f* aumenta en correspondencia con las STAT (Fig. 30, 31).

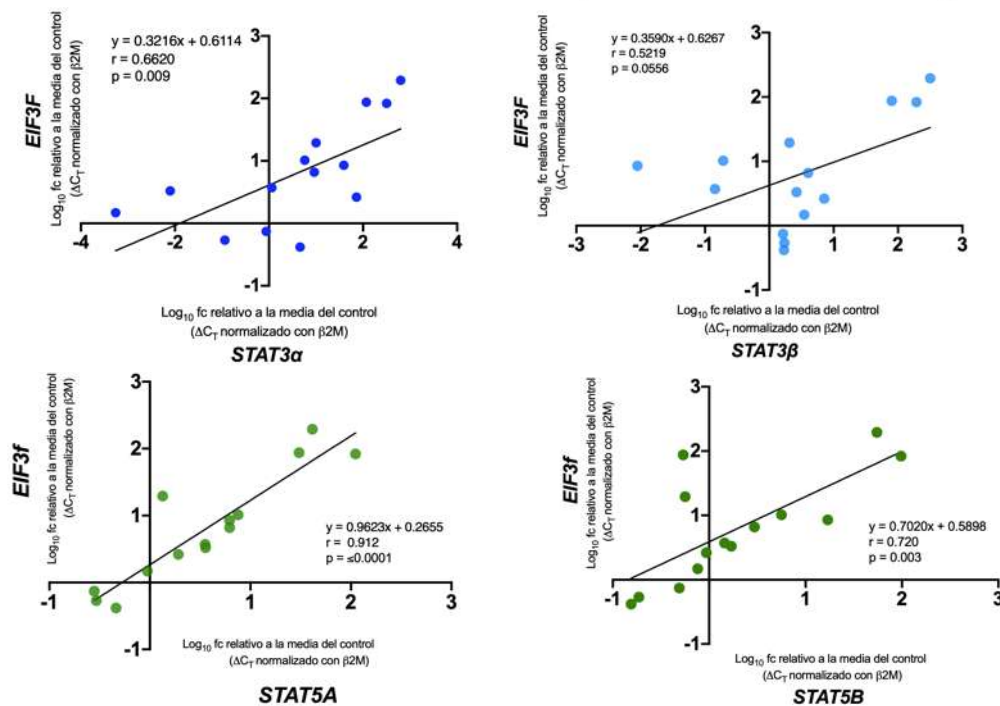


Figura 30. Ejemplo de correlaciones lineales en pacientes pediátricos con LLA-B.

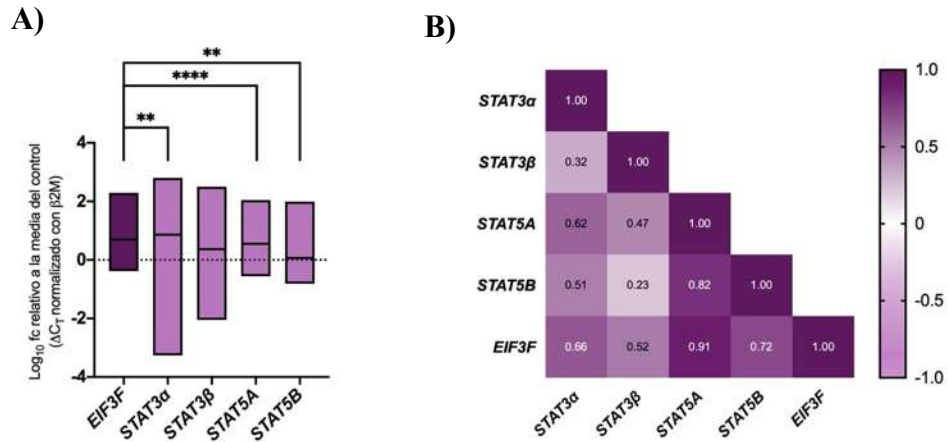


Figura 31. Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. A) Histograma que muestra la significancia estadística entre la relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* B) Mapa de calor que con los valores del coeficiente de correlación entre los genes de estudio. Niveles de significancia *p < 0.03, **p < 0.002, **p < 0.0001.**

b) Relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con LMA

La expresión de *eIF3f* no se asoció a la LMA (Fig. 32A); sin embargo, cabe señalar que mientras aumentó la expresión de los STAT, *eIF3F* disminuyó. Esta tendencia fue mas notoria con el aumento en la expresión de las isoformas *STAT3 β* y *STAT5B* (Fig. 32B).

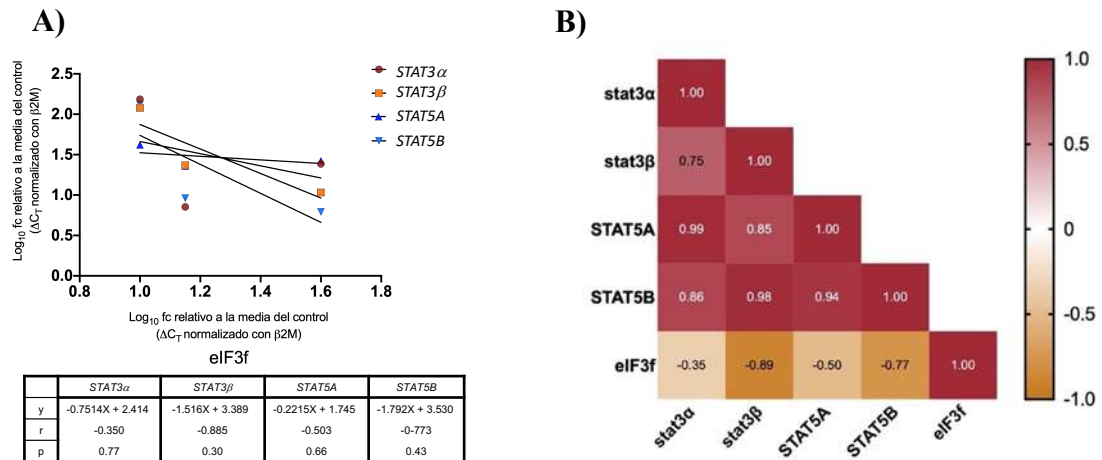


Figura 32. Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda. A) Regresión lineal y correlación de Pearson entre *eIF3f* y las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B*. B) Mapa de calor que con los valores del coeficiente de correlación entre los genes de estudio, los valores cercanos a -1 se muestran en color rojo y traducen correlación negativa fuerte.

b) Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con LLA

La expresión de *eIF3f* tuvo una correlación positiva con *STAT3β* ($p = 0.010$), *STAT5A* ($p = <0.0001$) y *STAT5B* ($p = <0.0001$), siendo estos dos últimos los que tuvieron mayor correlación. (Fig. 33).

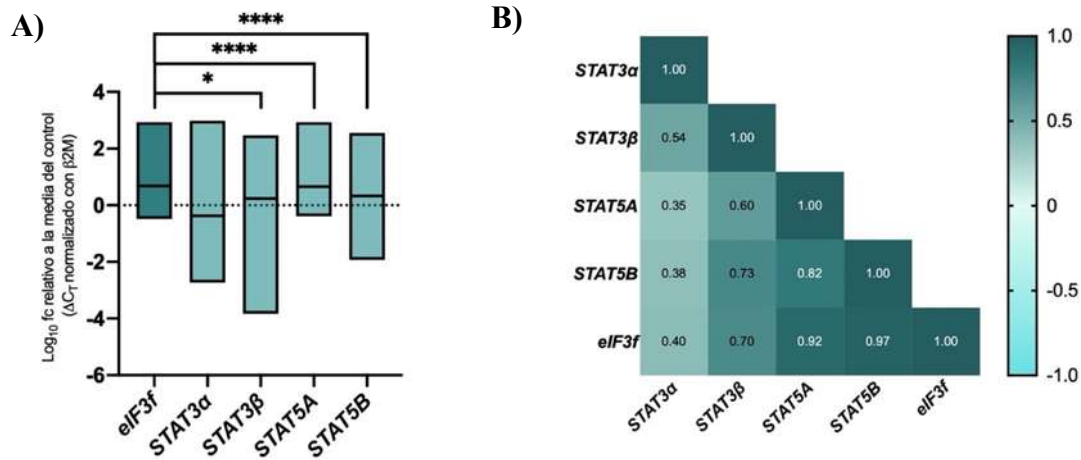


Figura 33. Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda. A) Histograma que muestra la significancia estadística entre la relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* B) Mapa de calor que muestra los valores del coeficiente de correlación entre los genes de estudio. Niveles de significancia *p < 0.03, **p < 0.0001.**

c) Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con LMA y LPA

Para el análisis de correlación dentro del grupo con LMA encontramos que los datos correspondientes a *STAT3β* y *STAT5B* no tuvieron una distribución Gaussiana en consecuencia estas asociaciones se establecieron por medio del coeficiente de correlación de Spearman, el resto de las isoformas con distribución normal fueron analizadas con el coeficiente de correlación de Pearson. Las isoformas *STAT3α* y *STAT3β* no mostraron relación con *eIF3f*, en contraste *STAT5A* y *STAT5B* se correlacionaron de forma positiva alta con valores de 0.85 y 0.91 ($p = 0.008$ y $p = 0.002$) respectivamente (Fig. 34).

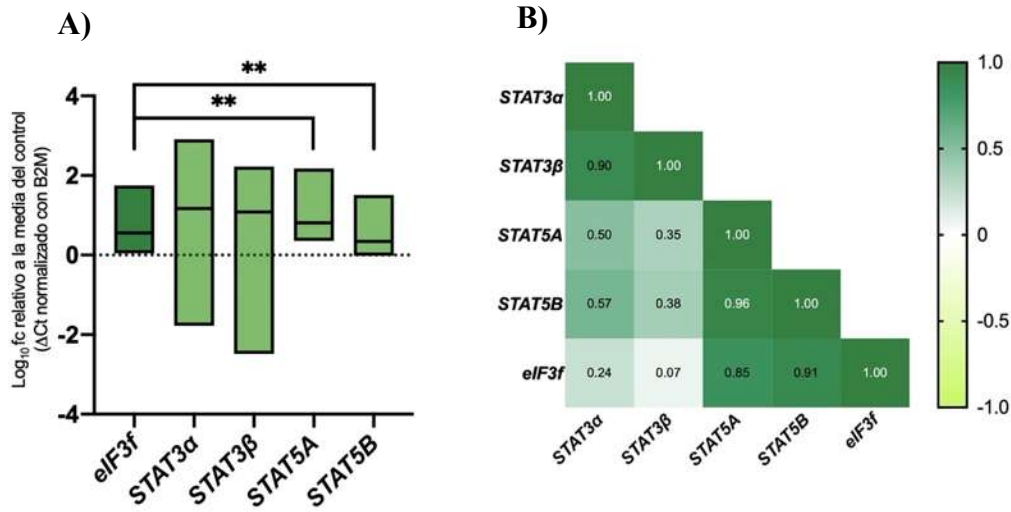


Figura 34. Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda. **A)** Histograma que muestra la significancia estadística entre la relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* **B)** Mapa de calor que con los valores del coeficiente de correlación entre los genes de estudio. Las correlaciones de *eIF3f* con *STAT3 β* y *STAT5B* seguían una distribución no normal por lo que se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman. Niveles de significancia ** $p < 0.002$

En relación con el grupo de pacientes diagnosticados con LPA las isoformas *STAT3 α* y *STAT3 β* se correlacionaron (Fig. 35A), en cuanto a las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* obtuvimos correlaciones significativas con una tendencia de asociación positiva alta, siendo mayor en la isoforma *STAT5B* que mostró un coeficiente de correlación de Spearman de 0.90 (Fig. 35B).

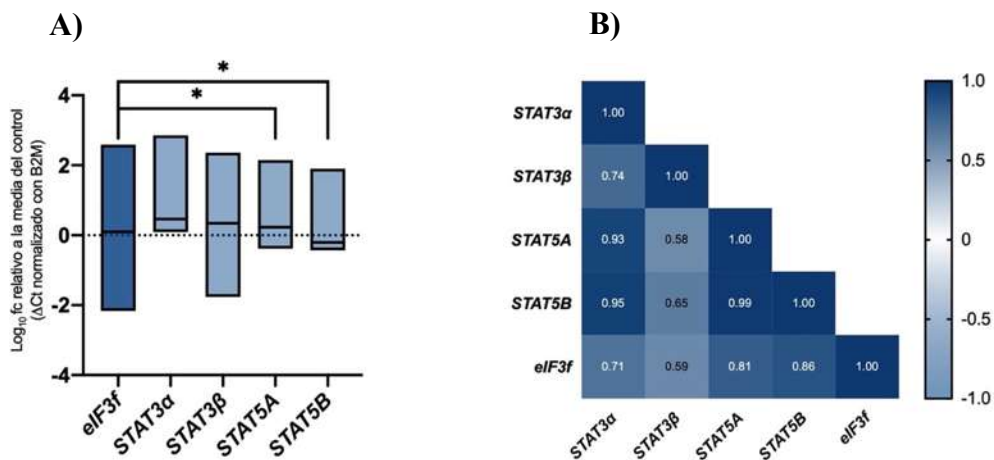


Figura 35. Relación de *eIF3f* con las isoformas *STAT3 α* , *STAT3 β* , *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con leucemia promielocítica aguda. **A)** Histograma que muestra la significancia estadística entre la relación de *eIF3f* con las isoformas de *STAT3* y *STAT5* **B)** Mapa de calor que con los valores del coeficiente de correlación de Pearson entre los genes de estudio. Las correlaciones de *eIF3f* con *STAT3 α* y *STAT5B* seguían una distribución no normal por lo que se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman. Niveles de significancia * $p < 0.03$.

8.6 Objetivo 4: Asociar la expresión de *EIF3f*, *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A* y *STAT5B* con factores pronóstico y predictivos

Para este objetivo se crearon grupos conforme a las variables pronósticas que segmentan a los pacientes en riesgo estándar y adverso definidas en el apartado 8.9. El análisis general dentro de la población pediátrica y adulta se muestra en las Tablas 15 y 16 respectivamente, se resaltan en azul marino las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) y en azul claro aquellas cercanas a serlo.

a) Expresión de las isoformas *STAT3α* y *STAT3β* respecto a la edad de riesgo

En los pacientes pediátricos con LLA la expresión de *STAT3α* estuvo disminuida en el grupo con edad de riesgo favorable, sin embargo esta diferencia no fue significativa. La isoforma *STAT3β* estuvo disminuido de forma significativa en el grupo de pacientes con riesgo adverso (Fig. 36A). En el caso de niños con LMA, no se pudo realizar el análisis porque los 3 niños que integran el grupo, tuvieron edad de riesgo adverso.

En el grupo de adultos con LLA agrupados en riesgo adverso, *STAT3α* se encontró más expresión, mientras que *STAT3β* la expresión fue menor; sin embargo las diferencias no fueron significativas (Fig. 36B).

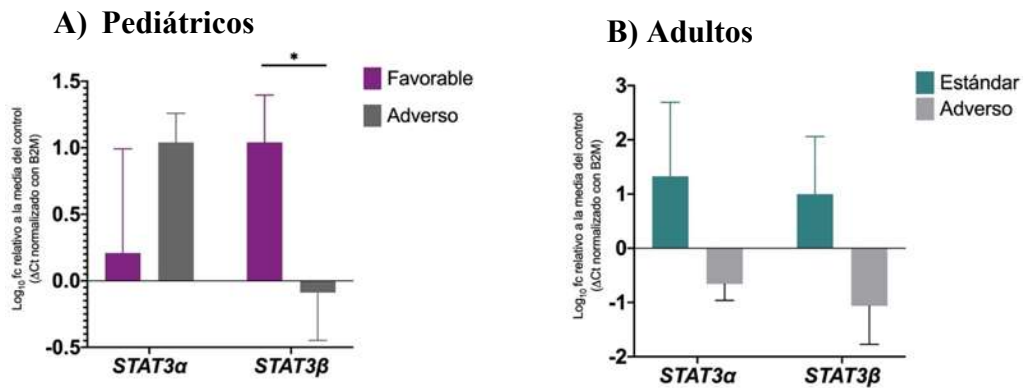


Figura 36. Expresión de las isoformas *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes con leucemia linfoblástica aguda con edad de riesgo. A) Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes pediátricos con riesgo favorable (1-9 años) y adverso (<1 año y ≥ 10 años) **B)** Expresión de *STAT3α* y *STAT3β* en pacientes adultos con riesgo estándar (<35 años) y adverso (≥ 35 años). Para las comparaciones estadísticas se realizó una prueba t de Student para muestras independientes, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

b) Expresión de los genes *STAT5A* y *STAT5B* respecto a la edad de riesgo

En el grupo pediátrico con LLA la media de expresión de *STAT5B* en riesgo adverso es mayor que en el riesgo favorable, sin embargo esta diferencia no fue significativa (Fig. 37A). Para *STAT5A* no hubo diferencia en su expresión entre ambos grupos de riesgo. En los adultos con LLA la expresión de *STAT5A* y *STAT5B* fue menor en pacientes con riesgo adverso, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) (Fig. 37B).

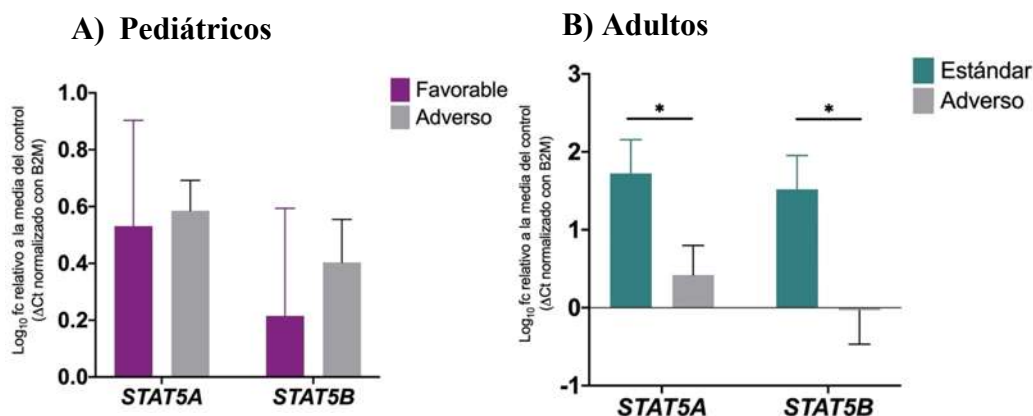


Figura 37. Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con leucemia linfoblástica aguda con edad de riesgo. A) Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con riesgo favorable (1-9 años) y adverso (<1 año y ≥10 años) B) Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con riesgo estándar (<35 años) y adverso (≥35 años). Para las comparaciones estadísticas se realizó una prueba t de Student para muestras independientes, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

c) Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* respecto al inmunofenotipo de riesgo

En pacientes adultos con LMA la expresión de *STAT5B* fue mayor en el grupo de riesgo adverso que al de riesgo estándar, lo cual fue estadísticamente significativo (Fig. 38B). El análisis de los pacientes con LLA no se muestra debido a que la categoría de riesgo adverso solo contaba con una muestra y sus resultados no fueron contundentes. En el grupo de pacientes pediátricos con LMA no fue posible realizar este análisis puesto que todos tenían un riesgo adverso, mientras que en LLA observamos un comportamiento similar a los adultos con LMA, con mayor expresión de *STAT5B* en pacientes con riesgo adverso, aunque la diferencia con el riesgo favorable no resultó significativa (Fig. 38A).

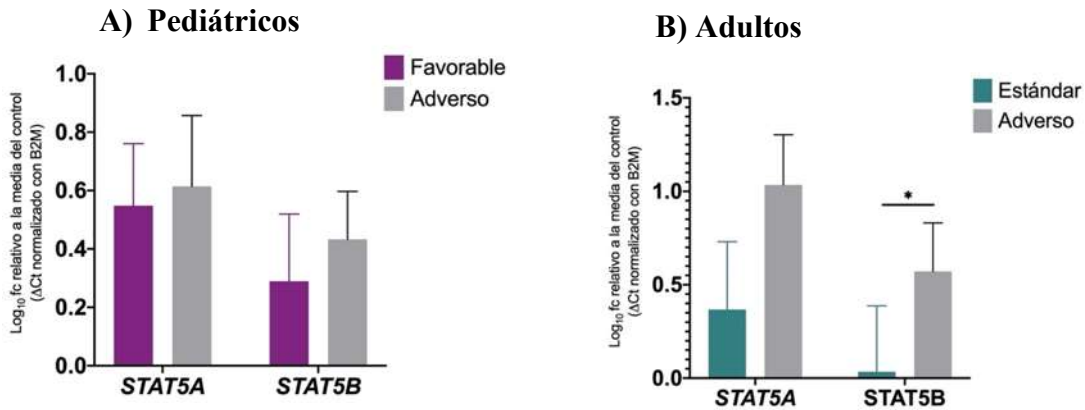


Figura 38. Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con leucemia aguda respecto al inmunofenotipo de riesgo. **A)** Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con LLA, riesgo favorable (LLA-B) y adverso (LLA-T). **B)** Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes adultos con LMA, riesgo estándar (M2, M3, M4) y adverso (M0, M1, M5, M6, M7). Para las comparaciones estadísticas se realizó la prueba t de Student para muestras independientes, con excepción de *STAT5B* que mostró una distribución no normal y se aplicó la prueba U de Mann-Whitney. Se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

d) Expresión de *STAT5A* y *STAT5B* con citogenética de riesgo

En la población pediátrica, los pacientes con LLA y riesgo adverso *STAT5B* estuvo más disminuido en relación a los pacientes con riesgo favorable, siendo esta diferencia significativa ($p = 0.018$). Mientras que *STAT5A* se expresó en forma similar en ambos grupos (Fig. 39).

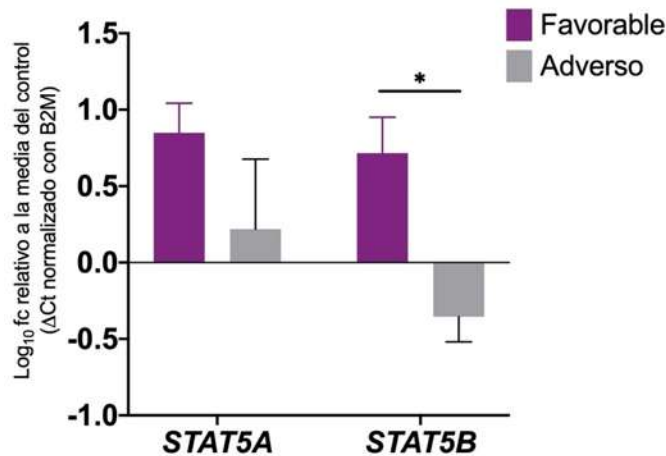


Figura 39. Expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda en relación al riesgo citogenético. Para las comparaciones estadísticas se realizó la prueba t de Student para muestras independientes. Se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

d) Expresión de *EIF3f* en relación a los factores pronóstico de pacientes

Abordando el factor edad y LLA, en la población pediátrica la expresión de *eIF3f* fue similar en ambos grupos de riesgo, mientras que los adultos mostraron diferencias significativas entre el grupo de riesgo estándar y adverso ($p = 0.020$) a expensas de la disminución de *eIF3f* (Fig. 40A). Esta tendencia se observó en los pacientes adultos con LMA de riesgo adverso, sin embargo no fue significativa ($p = 0.080$). Por otro lado en el grupo con LPA la disminución de *eIF3f* fue más relevante en los pacientes con riesgo favorable aunque sin relevancia estadística.

En relación al riesgo por conteo inicial de leucocitos, la población pediátrica con LLA y LMA mostró medias de *eIF3f* menores en aquellos con riesgo adverso; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. Este comportamiento también fue observado en los mismos grupos de pacientes adultos a excepción de aquellos con LPA donde la disminución de *eIF3f* es más notoria en el riesgo favorable al igual que lo observado con el factor edad (Fig. 40B).

De acuerdo al riesgo por inmunofenotipo y expresión de *eIF3f*, pacientes pediátricos con LLA y riesgo adverso, *eIF3f* se expresó menos que aquellos con riesgo favorable; caso contrario en adultos con LMA donde la disminución de *eIF3f* estuvo en pacientes con riesgo estándar. Cabe mencionar que el inmunofenotipo de riesgo estándar en LMA corresponde a los subtipos M2, M3 y M4, es decir que engloba a las LPA, por lo que asociamos esta inclinación a lo observado en LPA con riesgo por edad y conteo inicial de leucocitos (Fig. 40C).

Respecto al riesgo por alteraciones citogenéticas no obtuvimos resultados significativos; sin embargo, observamos una tendencia hacia la disminución en la expresión de *eIF3f* en los pacientes categorizados con riesgo adverso. En pacientes pediátricos con LMA no fue posible comparar la expresión de *eIF3f* ya que los 3 pacientes que integran este grupo presentaron características citogenéticas de riesgo favorable. Mientras que aquellos con LLA observamos que la expresión de *eIF3f* se encontró disminuida en pacientes de riesgo

adverso en comparativa a los de riesgo favorable; este contexto también fue observado en la población adulta con LMA (Fig. 40D).

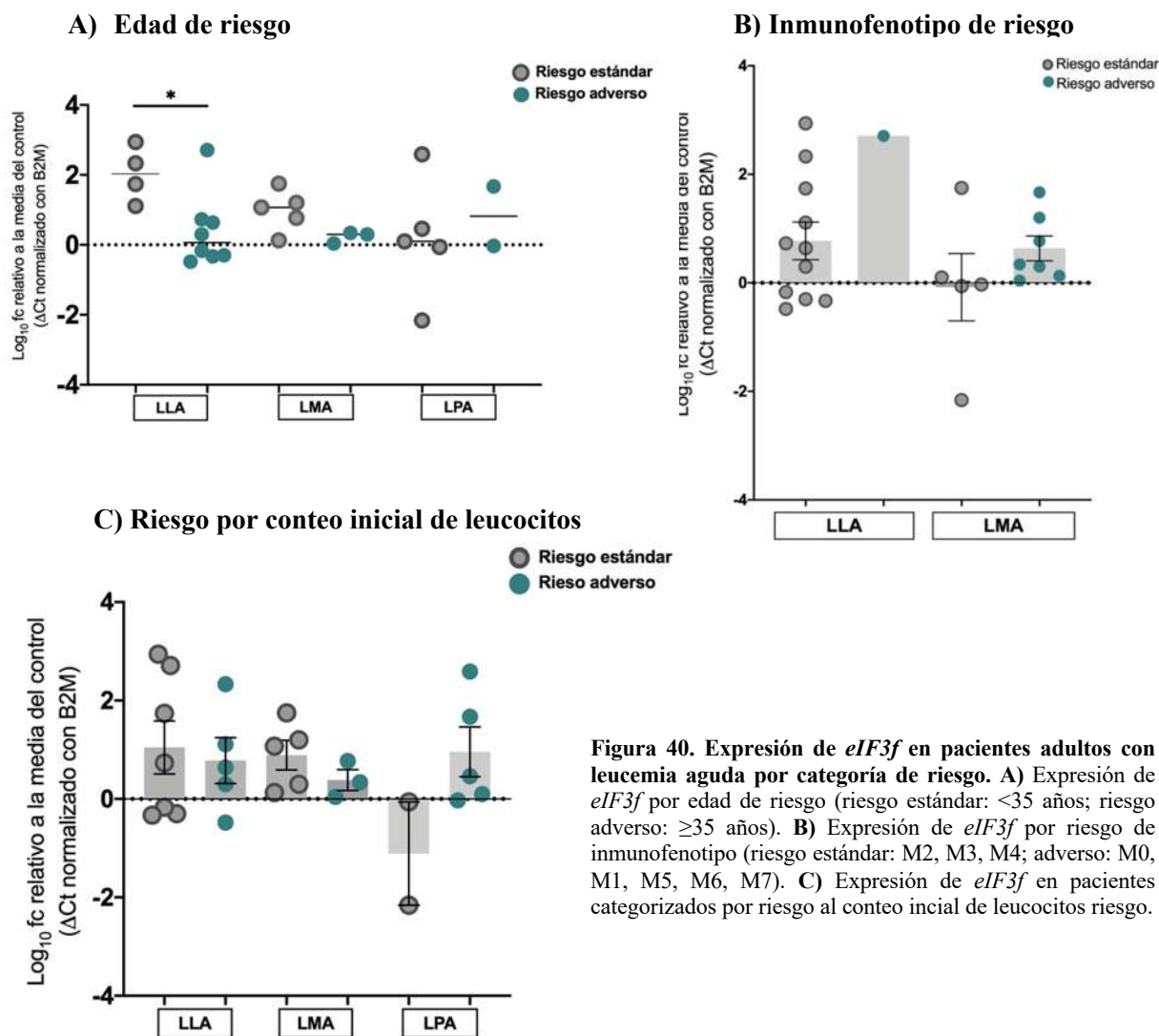


Figura 40. Expresión de *eIF3f* en pacientes adultos con leucemia aguda por categoría de riesgo. A) Expresión de *eIF3f* por edad de riesgo (riesgo estándar: <35 años; riesgo adverso: ≥35 años). **B)** Expresión de *eIF3f* por riesgo de inmunofenotipo (riesgo estándar: M2, M3, M4; adverso: M0, M1, M5, M6, M7). **C)** Expresión de *eIF3f* en pacientes categorizados por riesgo al conteo inicial de leucocitos riesgo.

Tabla 15. Asociaciones pronósticas en pacientes pediátricos con leucemia aguda

Variable	Diagnóstico	Categoría de riesgo	N	STAT3 α		STAT3 β		STAT5A		STAT5B		eIF3f	
				Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media
Edad	Leucemia linfoblástica aguda	Favorable	8	0.299	0.20	0.042	1.04	0.886	0.53	0.637	0.21	0.989	0.75
		Adverso	9		1.03		-0.88		0.58		0.40		0.75
	Leucemia mieloide aguda	Favorable	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Adverso	3	1.47	1.49	1.46	1.29	1.25					
Conteo inicial de leucocitos	Leucemia linfoblástica aguda	Favorable	10	0.465	0.89	0.650	0.55	0.718	0.61	0.583	0.40	0.297	0.92
		Adverso	7		0.29		0.28		0.47		0.18		0.51
	Leucemia mieloide aguda	Favorable	1	0.927	1.38	0.462	1.03	0.818	1.42	0.592	0.79	0.154	1.6
		Adverso	2		1.51		1.72		1.49		1.54		1.07
Inmunofenotipo	Leucemia linfoblástica aguda	Favorable	14	0.652	0.56	0.884	0.46	0.893	0.54	0.783	0.28	0.676	0.79
		Adverso	3		1.04		0.34		0.61		0.43		0.57
	Leucemia mieloide aguda	Favorable	0	ND	1.47	1.49	ND	1.46	ND	1.29	ND	1.25	
		Adverso	3										
Citogenética	Leucemia linfoblástica aguda	Favorable	10	0.777	0.86	0.564	0.33	0.155	0.84	0.018	0.71	0.21	1.05
		Adverso	4		1.13		0.79		0.21		-0.35		0.46
	Leucemia mieloide aguda	Favorable	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
		Intermedio	0										
		Adverso	0										

Tabla 16. Asociaciones pronósticas en pacientes adultos con leucemia aguda

Variable	Diagnóstico	Categoría de riesgo	N	STAT3 α		STAT3 β		STAT5A		STAT5B		eIF3f	
				Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media
Edad	Leucemia linfoblástica aguda	Estándar	4	0.079	1.32	0.072	1.81	0.028	1.53	0.049	1.5	0.020	2.0
		Adverso	8		-0.65		0.16		0.13		-0.03		0.38
	Leucemia mieloide aguda	Estándar	5	0.634	0.64	0.703	0.69	0.062	1.33	0.15	0.78	0.080	0.98
		Adverso	3		1.2		1.13		0.48		0.13		0.22
	Leucemia promielocítica aguda	Estándar	5	0.61	0.92	0.382	0.31	0.970	0.67	0.74	0.27	0.65	0.18
		Adverso	2		1.50		1.45		0.71		0.57		0.82
Conteo inicial de leucocitos	Leucemia linfoblástica aguda	Estándar	7	0.427	0.38	0.305	0.19	0.679	0.98	0.504	0.71	0.731	1.04
		Adverso	5		-0.52		-1.18		0.68		0.16		0.78
	Leucemia mieloide aguda	Estándar	5	0.846	0.77	0.829	0.76	0.243	1.23	0.346	0.71	0.281	0.89
		Adverso	3		1		1.01		0.65		0.26		0.38
	Leucemia promielocítica aguda	Estándar	2	0.437	0.45	0.826	0.33	0.361	0.11	0.283	-0.32	0.097	-1.11
		Adverso	5		1.34		0.61		0.91		0.62		0.95
Inmunofenotipo	Leucemia linfoblástica aguda	Estándar	11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
		Adverso	1										
	Leucemia mieloide aguda	Estándar	5	0.287	0.68	0.185	0.70	0.160	0.36	0.048	-0.30	0.248	-0.08
		Adverso	7		1.36		1.2		1.03		0.22		0.63
Citogenética	Leucemia linfoblástica aguda	Estándar	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
		Adverso											
	Leucemia mieloide aguda	Favorable	4	0.750	0.50	0.277	0.47	0.495	3	0.496	3	0.626	-0.33
		Intermedio	1		1.27		1.28		5		5		0.3
Adverso		2	1.28		1.39		5.5		5.5		0.66		

e) Expresión de *STAT3α*, *STAT3β*, *STAT5A*, *STAT5B* y *eIF3f* en relación a la enfermedad mínima residual como factor predictivo

Dentro de la población pediátrica con LLA, 4 pacientes que fallecieron en la fase de inducción, no tuvieron resultado de EMR, por lo que sólo se analizaron 13 casos distribuidos como se muestra en la Tabla 17. La expresión *STAT3α* y *STAT3β* fue menor en los casos de EMR positiva, lo cual fue estadísticamente significativa ($p = 0.010$ y $p = 0.044$), Fig. 41A y 41B). Esta tendencia se observó también en las isoformas *STAT5A* y *STAT5B*, pero no fue significativa. Por otro lado *eIF3f* se encontró disminuido en aquellos pacientes con EMR positiva con resultados estadísticos significativos ($p = 0.02$, 41C). En el grupo pediátrico con LMA no fue posible realizar el análisis estadístico puesto que sólo 1 paciente contaba con el estudio y el resto murieron en inducción. Situación semejante en la población adulta ya que de los pacientes con LLA únicamente 2 contaban con el estudio, mientras que la realización del mismo solo fue posible en 1 y 2 pacientes con LMA y LPA respectivamente.

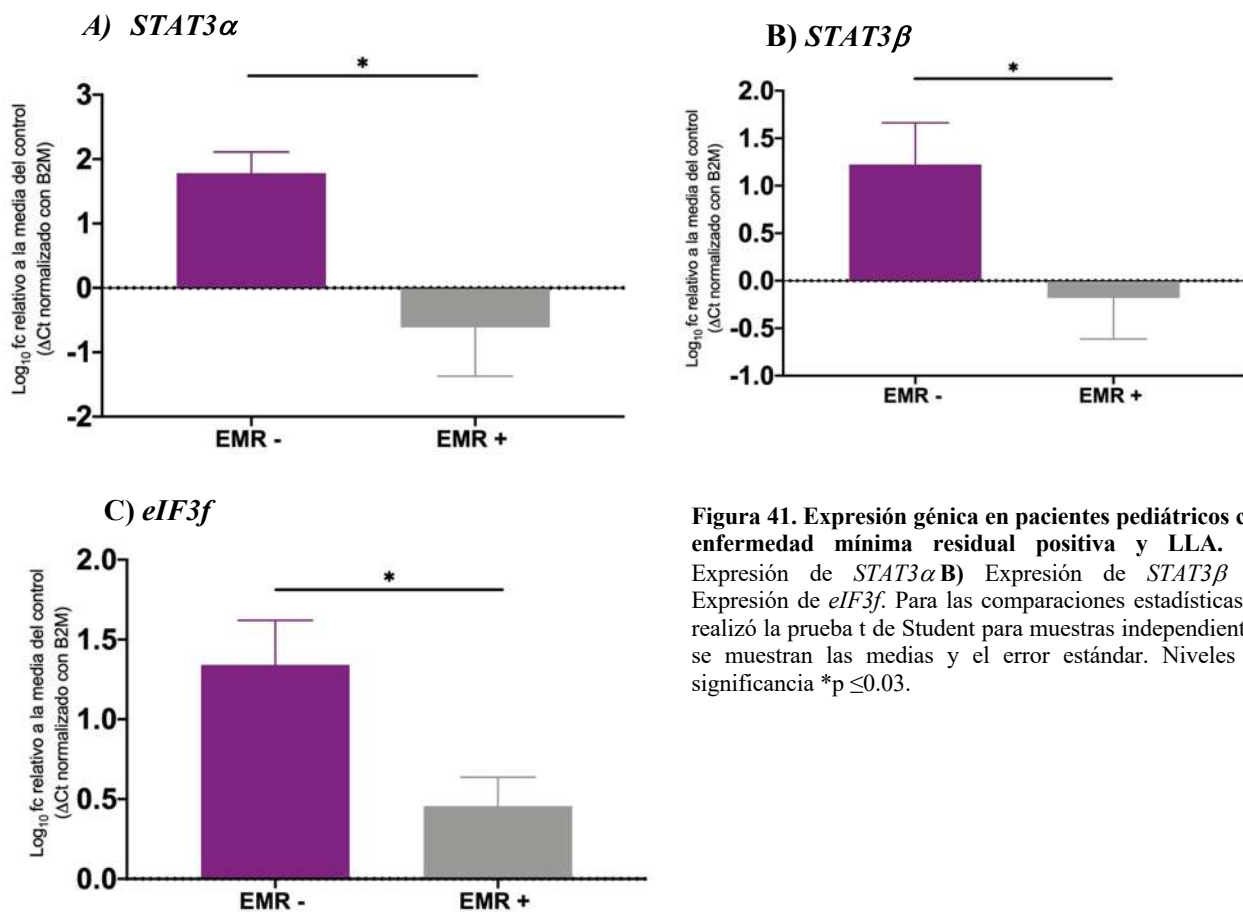


Figura 41. Expresión génica en pacientes pediátricos con enfermedad mínima residual positiva y LLA. A) Expresión de *STAT3α* B) Expresión de *STAT3β* C) Expresión de *eIF3f*. Para las comparaciones estadísticas se realizó la prueba t de Student para muestras independientes, se muestran las medias y el error estándar. Niveles de significancia * $p \leq 0.03$.

Tabla 17. Asociaciones predictivas en pacientes con leucemia aguda

Población	Diagnóstico	EMR	N	STAT3 α		STAT3 β		STAT5A		STAT5B		eIF3f		
				Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	Sig	Media	
<i>Pediátrica</i>	Leucemia linfoblástica aguda	Positiva	6	0.010	-0.61	0.044	-0.182	0.079	0.35	0.373	0.20	0.026	0.45	
		Negativa	7		1.78		1.22		1.03		0.62		1.34	
	Leucemia mieloide aguda	Positiva	1	ND										
		Negativa		ND										
<i>Adulta</i>	Leucemia linfoblástica aguda	Positiva	1	ND										
		Negativa	1	ND										
	Leucemia mieloide aguda	Positiva	1	ND										
		Negativa		ND										
	Leucemia promielocítica aguda	Positiva		ND										
		Negativa	2	ND										

La EMR es un factor predictivo de suma importancia ya que indica la respuesta del paciente al tratamiento y orienta al médico en la toma de decisiones terapéuticas. Sin embargo, dentro de nuestra población se encontraron irregularidades terapéuticas que hacen que la utilidad de este estudio pierda validez, la indisponibilidad de medicamentos, el abandono y retrasos secundarios a la toxicidad quimioterapéutica fueron las causas más comunes (Tabla 18). Este tipo de obstáculos son característicos en países en desarrollo y se ha probado que el retraso e interrupciones en la quimioterapia se asocian con mayores tasas de recaída e influye sustancialmente en la supervivencia de los pacientes (102).

Tabla 18. Limitantes terapéuticas encontradas en pacientes con leucemia aguda

Población infantil					
	Retraso por indisponibilidad de quimioterapeúticos	Retraso por olvido del paciente	Abandono	Ninguno	Otro*
LLA	6	1	1	5	4
LMA			3		
*Citopenias prolongadas, pancreatitis aguda secundario a L-ASP, fiebre y neutropenia, inestabilidad hemodinámica.					
Población adulta					
	Retraso por indisponibilidad de quimioterapéuticos	Retraso por olvido del paciente	Abandono	Ninguno	Otro*
LLA	2	1	4	1	4
LMA	2		1	1	4
LPA	1			2	4
*COVID, inestabilidad hemodinámica, defunción temprana en segundo día de hospitalización, neutropenia.					

Por último, realizamos un análisis de la mortalidad en nuestros grupos de estudio, en la Tabla 19 se describe la temporalidad de la muerte en paralelo al estadio terapéutico de cada paciente. Con fecha de corte al 31 de octubre de 2021, el grupo de adultos con LMA presentó 10 defunciones y el grupo con LLA un total de 9, lo que nos deja un acumulado de 19 pacientes que representaron el 70.3% de pacientes incluidos en este sector poblacional. En lo referente a la población infantil se perdieron 6 niños con LLA y 3 con LMA, que traducen el 45% de la población respectiva a este grupo etario.

En ambos grupos etarios, el mayor número de muertes aconteció durante la inducción a la remisión, periodo en el cual las infecciones resaltan como principal causa de defunción, como resultado del estado de inmunosupresión que supone la exposición a altas dosis de quimioterapéuticos, así como la incidencia de enfermedades virales emergentes y potencialmente contagiables (Tabla 19).

Tabla 19. Principales causas de defunción en la población de estudio

Adultos				
LMA Total = 10	Patología principal	Infección†	Sangrado	Otras‡
Antes de la terapia inicial				
Muerte en inducción día 0-40	3	3		1
Muerte post-inducción	1		1	1
† 2 septicemias, 1 COVID; ‡ 1 toxicidad relacionada a la quimioterapia y abandono				
LLA Total = 9	Patología principal	Infección	Sangrado	Otras
Muerte en inducción día 0-40	1	5†		1‡
Muerte post- inducción	2			
† 3 septicemias, 1 COVID, 1 infección intestinal; ‡ abandono				

Infantil				
LLA Total = 6	Patología principal	Infección†	Sangrado	Otras‡
Antes de la terapia inicial				
Muerte en inducción día 0-40		2		1
Muerte post-inducción		3		
† 3 septicemias, 1 neumonía intrahospitalaria; ‡ falla cardíaca.				

9. DISCUSIÓN

En lo referente a la distribución epidemiológica, este trabajo ofrece un parteaguas del comportamiento de esta neoplasia en el estado de Michoacán. Previamente detallamos que se alínean a reportes en otros estados de la República Mexicana; sin embargo, también lo hacen con reportes en países colindantes e internacionales (100,101), con lo que se pone de manifiesto que la población local no difiere del resto del mundo, pero que a diferencia de países con altos ingresos. La supervivencia de nuestra localidad se ve afectada por tópicos como la deficiencia diagnóstica, que aumenta el riesgo de toxicidad relacionada a la quimioterapia y el abandono, resultado de los escasos recursos financieros, el pobre entendimiento de la enfermedad y otros problemas culturales. Las variables socio-demográficas son de tal relevancia que han sido tomados como potenciales predictores de mortalidad (102). Gupta *et al.*, (2012) realizaron un análisis retrospectivo en pacientes infantiles con LMA de países con bajo ingreso económico (El Salvador, Guatemala y Honduras), dentro de las variables socioeconómicas que analizaron, la paridad de poder adquisitivo mensual presentó mayor asociación con la muerte temprana y entre las principales causas de muerte se enlistan a las infecciones relacionadas a la inmunosupresión por quimioterapia (103).

Es importante no subestimar variables como las antes mencionadas, dado que factores intrínsecos y ambientales tienen tal repercusión en el funcionamiento del nicho hematopoyético, un sistema heterogéneo y sumamente regulado, que alteraciones en su homeostasis pueden llevar a patologías como la leucemia aguda. Dores *et al.*, (2015) en su revisión señalaron la importancia de desarrollar herramientas que puedan predecir el comportamiento de las células policlonales en el contexto de microentornos anormales dentro de la médula ósea leucémica (104).

Para esclarecer las alteraciones celulares y microambientales que llevan a la dominancia de clonas leucémicas, se han abordado estudios sobre la dinámica genética,

micro-ambiental y el contexto clínico dando como resultado un mejor entendimiento de la biopatobiología de la enfermedad y el advenimiento de nuevas estrategias terapéuticas.

La interacción tumor-microambiente es esencial para la protección y progresión de las células malignas, donde una serie de interacciones mediadas por integrinas, citocinas y quimiocinas producidas y expresadas por elementos celulares del nicho hematopoyético, pueden dictar el desenlace de la enfermedad. Un ejemplo es el descubrimiento del cromosoma Philadelphia por Peter C. Nowell y el estudiante David Hungerford en 1960, una aberración cromosómica oncogénica en leucemia mieloide crónica caracterizada por (9;22)(q34;q11), que además de la creación de nuevas estratificaciones pronósticas y planes terapéuticos, han llevado a la caracterización de vías de señalización involucradas en la progresión tumoral, tal es el caso de la vía JAK-STAT (105).

Dentro de la familia STAT se identifican 7 miembros (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B y STAT6) sin embargo, STAT3 y STAT5 se han evidenciado como oncogenes en distintas neoplasias (10). La estructura elemental de las proteínas STAT consiste en cinco dominios: un dominio N-terminal, un dominio enrollado, un dominio de unión al ADN, un dominio SH2 y un dominio de transactivación C-terminal (TAD), sin embargo se ha identificado una isoforma de STAT3 creada por empalme alternativo (STAT3 β) que resulta en un cambio en el marco lectura dando un codón de terminación y origina una isoforma de STAT3 carente de 55 aminoácidos c-terminales en el TAD, incluyendo el aminoácido S727, debido a que carece de la capacidad de activación transcripcional en varios genes diana de su contraparte la isoforma STAT3 α se sostiene que STAT3 β se desempeña como un regulador negativo de la actividad transcripcional de STAT3 α (65).

En el presente estudio se observó que *STAT3 α* se expresa más que *STAT3 β* en pacientes pediátricos y adultos con LLA y LPA. Cabe mencionar que nuestro estudio es el primero en analizar la expresión de ambas isoformas en ambos sectores poblacionales de forma simultánea. Aunque la diferencia entre la expresión de ambas isoformas no mostró significancia estadística, comprobamos la dominancia de *STAT3 α* en la mayoría de nuestros

grupos de estudio. Aigner *et al.*, (2019) argumentan que entre mayor es la pérdida de este equilibrio a expensas de la depleción de *STAT3β*, la supervivencia de pacientes con LMA se ve disminuida (67). Además encontramos que en los pacientes adultos y pediátricos con LMA la expresión de *STAT3α* y *STAT3β* fue similar y resalta que en el grupo pediátrico ambas isoformas estaban significativamente elevadas ($p \leq 0.03$). No se investigó si la elevación simultánea de *STAT3β* es inherente o simplemente el efecto de la competencia con *STAT3α*. No obstante, existen diversos reportes que concuerdan con nuestros resultados, tal es el caso de H. F. Zhang *et al.* (2016) en su análisis de pacientes con carcinoma esofágico de células escamosas se encontró que la expresión moderada/fuerte de *STAT3β* se relacionó con una supervivencia global significativamente mayor en comparación con aquellos con niveles negativos/débiles de *STAT3β*. Además sus estudios *in vitro* mostraron que la sobreexpresión de *STAT3β* promovió la fosforilación de *STAT3α*^{Y705} oncogénico, pero de forma paradójica disminuyó la actividad transcripcional de *STAT3α*; el resultado fue la disminución de la capacidad clonogénica y la mejora en la quimiorresistencia (106). Estudios similares se observaron en células de pacientes con mieloma múltiple, donde la expresión de *STAT3β* resultó en una disminución de hasta el 80% de la expresión génica y proteica de Bcl-xL (107).

La explicación a lo observado viene de la naturaleza hidrofóbica de *STAT3β*, lo que le protege de la desfosforilación y evita su degradación proteosómica, dando origen a dímeros más estables y estados de fosforilación más prolongados. Por el contrario la cola ácida de *STAT3α* puede desestabilizar su forma dimérica activa, lo que da como resultado una menor unión al ADN. No obstante, ambas isoformas pueden dimerizarse mediante el residuo de Y705, escenario en el que la fosforilación y retención nuclear de *STAT3α* se ve mejorada por *STAT3β*. En conclusión se propone que las funciones oncogénicas o supresoras de *STAT3* dependen de *STAT3β* (108).

Siguiendo la propuesta de que un alto nivel de p*STAT3α*^{Y705}, como resultado de la expresión de *STAT3β*, promueve un entorno oncosupresor y que la expresión negativa o débil de *STAT3β* indica un entorno oncogénico, observamos que en los niños con LLA y

riesgo adverso para la edad, la expresión de *STAT3β* se encontró significativamente disminuida ($p = 0.04$) y de forma interesante los niños del mismo grupo sin respuesta al tratamiento (EMR positiva) tuvieron una disminución significativa de *STAT3β* en comparación con aquellos sin presencia de la enfermedad ($n = 6$ vs 7 ; $p = 0.04$).

Para explicar el por qué *STAT3β* solo se sobreexpresó en pacientes con LMA y no así en aquellos con LLA, iniciaremos con detallar la relevancia de las isoformas STAT3 en la diferenciación mieloide. A pesar de que STAT3 es el principal objetivo del G-CSF, en leucemias mieloides STAT3 responde de manera anómala a esta citocina lo que conduce a las células a proliferar sin diferenciarse. De forma específica el G-CSF activa a *STAT3α* en células leucémicas mieloides y por el contrario en células CD34+ sanas solo se activa *STAT3β* (109). El bloqueo en la diferenciación por parte de *STAT3α* se ha observado también en leucemia murina M1 (110). La cinética de ambas isoformas durante la diferenciación granulocítica normal queda explicada con los experimentos realizados por Hevehan *et al.*, (2002), estos autores estudiaron la expresión de distintas isoformas de STAT3 durante la diferenciación de células CD34+ procedentes de donadores sanos, en sus resultados se observa que la expresión y fosforilación de *STAT3β* aumentó en paralelo al avance de la diferenciación celular, por el contrario la expresión *STAT3α* predominó en estadios de inmadurez (111).

Curiosamente los tres niños que integraron el grupo con LMA se caracterizaron por tener en común un cariotipo con las siguientes alteraciones citogenéticas: $t(8;21)(q22;q22)$, $del(9)(q22q33)$ e $inv(16)$; que de acuerdo a la clasificación OMS 2016, suponen un riesgo favorable y podría explicar la sobreexpresión simultánea de ambas isoformas. Ya que si bien *STAT3β* promueve la diferenciación granulocítica, la presencia del gen de fusión AML1-ETO [$t(8;21)$] origina anomalías en las respuestas a factores de crecimiento hematopoyético, propiciada por un entorno patológico con alteraciones en la liberación de citoquinas y la señalización intracelular corriente abajo (112).

La expresión de los genes *STAT5A* y *STAT5B*, fue distinta a nuestra hipótesis inicial que propuso a *STAT5B* como el responsable de la progresión tumoral, nuestros resultados fueron opuestos, con un aumento de *STAT5A* sobre *STAT5B*. Aunque la diferencia entre la expresión de ambos genes no tuvo significancia estadística, la disminución de *STAT5B* fue más notable en el grupo de adultos con LPA. Una cuestión interesante en este resultado es que los pacientes con LPA tuvieron un ratio de expresión *STAT5B/STAT5A* mucho menor en comparativa a aquellos con LLA y LMA. En detalle, los genes que codifican *STAT5A* y *STAT5B* se encuentran dentro de una región de ~204 kilobases entre sí, en el cromosoma 17q11.2 (113). Las LPA se caracterizan por la presencia del gen de fusión PML-RAR α , que da como resultado un reordenamiento cromosómico recíproco caracterizado por la t(15;17)(q22;q12), con puntos de ruptura dentro del gen PML y el gen RAR α , en consecuencia a dichas aberraciones se han identificado pacientes con LPA resistentes al tratamiento con ATRA, caracterizadas por la presencia de la fusión entre *STAT5B-RAR α* (114, 115). Esta proteína quimérica genera la ausencia de los residuos Y699, esencial para la activación de *STAT5B*, y el dominio de transactivación C-terminal con Ser731 involucrado en la regulación de la actividad transcripcional de *STAT5B* (116). Uno de los resultados obtenidos que puede sustentar la tendencia observada en LPA, es la disminución significativa de *STAT5B* en pacientes adultos con LMA e inmunofenotipo de riesgo favorable ($p = 0.04$), recordemos que en LMA el inmunofenotipo favorable lo componen los subtipos M2, M3 (LPA) y M4, en nuestro caso este grupo estuvo conformado en su mayoría por pacientes M3.

La presencia de *STAT5A* y *STAT5B* es distintiva de mamíferos, dado que *STAT5A* es un regulador maestro de la función mamaria. Curiosamente se ha encontrado la presencia de dos isoformas semejantes a *STAT5A* y *STAT5B* en el pez zebra, las cuales se denominan *stat5.1* y *stat5.2* respectivamente, la primera resultó tener una alta homología con *STAT5A* y formas mutadas de la misma llevaron a la reducción en el tamaño del pez, por el contrario las alteraciones en *stat5.2* no ocasionaron ningún defecto (113). En ratones la deficiencia de *STAT5A* se relacionó con defectos en la formación de la glándula mamaria, mientras que *STAT5B* parece regular el crecimiento a través de la hormona del crecimiento (GH) a lo largo de la vida en ratones macho pero sólo hasta la pubertad en ratones hembra. Este dimorfismo sexual es resultado de el papel de *STAT5B* en regular la expresión del ER α , CIS

y SOCS, estos últimos dos importantes reguladores antagónicos de la señalización JAK-STAT (117).

No se ha reportado si las alteraciones en la expresión de STAT5B se relacionan con el riesgo adverso por sexo y edad en pacientes con leucemia aguda. En nuestra investigación encontramos que los pacientes adultos con LLA mayores de 60 años tuvieron una reducción significativa en la expresión ambos genes (*STAT5A* $p = 0.028$; *STAT5B* $p = 0.04$). Este resultado es interesante puesto que la LLA tiene dos picos de incidencia, el primero de dos a cinco años y el segundo en la sexta década de la vida (19), por lo cual la reducción de estas isoformas en la etapa senil se justifica por la reducción en las concentraciones de hormona de crecimiento que supone el aumento de la edad, con decrementos de hasta un tercio más bajas en hombres y mujeres sanos mayores de 55 años que en hombres y mujeres de 18 a 33 años (118), situación que afecta el ciclo de retroalimentación negativa propuesto entre STAT5B, SOCS2 y CIS (114).

Tanto STAT5A como STAT5B son indispensables en la mielopoiesis y desarrollo linfóide. Se ha observado que en los estadios más diferenciados de las células hematopoyéticas STAT5B se expresa en mayor cantidad; de hecho en todos los tipos de células hematopoyéticas diferenciadas, STAT5B se expresa en niveles más altos en comparación con STAT5A (113). Los ensayos de Kollmann *et al.*, (2019) sobre células leucémicas BCR/ABL positivas señalaron a la isoforma STAT5B como responsable de la leucemogénesis, ya que su silenciamiento provocó la reducción de colonias *in vitro* así como tumoraciones más pequeñas en ratones (62). Sin embargo, estos resultados pueden estar sujetos a las funciones inherentes de STAT5B y ser el resultado y no la causa de la enfermedad, de hecho STAT5B es tan relevante en la hematopoyesis que su deficiencia origina un raro síndrome en los seres humanos, caracterizado por alteraciones en el crecimiento, infecciones recurrentes debido a la inmunodeficiencia que lleva el deterioro en la diferenciación y activación de células T, Treg y NK, mientras que STAT5A no alcanza a compensar todas las funciones de STAT5B (119).

Uno de los puntos importantes que ofrece nuestra investigación es que podemos analizar la expresión de STAT5A y STAT5B en diferentes contextos, ya mencionamos que

la expresión de *STAT5B* fue mucho menor en pacientes seniles con LLA, esta reducción también fue observada en los infantes con LLA y alteraciones citogenéticas de mal pronóstico ($p = 0.018$); estas alteraciones consistían en 1 caso con hipodiploidía y 3 casos con el gen BCR/ABL [t(9;22)(q34.1;q11.2)]. Deducimos que la disminución de *STAT5B* refleja el estado de inmadurez celular que define a la LA.

La sobreexpresión de *STAT5A* fue una constante en nuestros grupos y alcanzó significancia estadística en los pacientes adultos e infantes con LMA, mientras que *STAT5B* se encontró sobreexpresado únicamente en los niños con LMA ($p \leq 0.03$). Nuestro resultado es equiparable a los obtenidos por el grupo de Maurer, Nivarthi, *et al.*, (2019) que revelaron una mayor expresión y actividad de las proteínas *STAT5A* y *STAT5B* en pacientes con linfoma periférico de células T; sin embargo, solo la sobreexpresión de *STAT5A* fue significativa (120). Recientemente en un análisis transcriptómico de *STAT5A* y *STAT5B* se encontró que ambos genes son específicas de órganos y tienen niveles de expresión significativamente más altos en células cancerosas, aunque la sobreexpresión de *STAT5A* parece ser característica en órganos linfoides y mieloides. En este mismo análisis citamos como ejemplo el pico de expresión de *STAT5A* en la línea K562 con hasta 250nTPM mientras que *STAT5B* se expresó apenas en 85nTPM (121).

Los principales procesos involucrados en regular la expresión génica son la transcripción y traducción del mRNA. Sólo existe un estudio que plantea la interacción entre factores de inicio de la traducción y proteínas involucradas en la transcripción génica en neoplasias (8). Por lo que en este trabajo buscamos de forma específica la correlación entre isoformas *STAT3* y *STAT5* con la subunidad f de *eIF3*.

En este análisis, *eIF3f* se correlacionó positivamente con la expresión de las isoformas *STAT3* y *STAT5*. En detalle, los genes que más se correlacionaron a *eIF3f* fueron *STAT5A* y *STAT5B*, y esta correlación alcanzó mayor significancia en los adultos y niños con LLA ($p \leq 0.0001$) y disminuyó de forma escalonada en los pacientes adultos con LMA y LPA, no obstante, aún con significancia estadística (LMA $p = <0.002$; LPA $p = <0.03$). Esta correlación puede ser el resultado de la proliferación clonal exacerbada por la sobreexpresión

de las isoformas STAT5, que reflejan el aumento en la síntesis proteica y por lo tanto de *eIF3f*, además resaltó que esta relación fue independiente al subtipo de leucemia.

Otra de las dianas génicas importantes de STAT5 es la ciclina D, específica de la transición G1-S, punto en el cual las células irreversiblemente están determinadas a dividirse (122). Por lo cual la correlación positiva que observamos entre *STAT5-eIF3f* podría ameritarse a los picos de expresión que mantiene eIF3f en la transición de las fases G2/M y G1/S (7). Este pico de expresión se observó también en pacientes con leucemia aguda en el trabajo de tesis de Vergara-Hernández (2020) (75). Otro estudio que apoya este supuesto es la asociación de eIF3f con Ki67, un marcador utilizado para determinar la fracción de crecimiento de una población celular dada en la progresión tumoral, en cáncer de mama (123). La relevancia de eIF3f en la expansión clonal fue comprobada también por Li *et al.*, (2020), en sus estudios en cáncer de próstata, la eliminación de eIF3f redujo significativamente la expansión clonal *in vitro*, este hallazgo se comprobó en ratones que desarrollaron tumores significativamente más pequeños aunado de la disminución en la expresión de Ki67 (124).

Sólo existe un reporte sobre la relación de eIF3f con STAT3 (8), y nuestra investigación es la primera en estudiar esta relación en leucemia aguda y de forma específica con isoformas STAT3. Si bien no existen investigaciones más profundas sobre esta interacción, parece interesante que un par de estudios reporten la fosforilación de Akt en Ser⁴⁷³ regulada a la baja como consecuencia de la eliminación de eIF3f y STAT3 (124, 125).

Si bien la sobreexpresión de eIF3f fue una tendencia entre los subtipos de leucemia, solo fue significativa en el grupo de niños con LMA ($p \leq 0.03$) este resultado concuerda con lo encontrado por Vergara-Hernández (2020) (75). No obstante, en este mismo grupo obtuvimos una correlación negativa con las isoformas STAT3 y STAT5. ebido a que este grupo solo se integró por 3 pacientes no alcanzó correlación significativa.

Por último, en relación a la segmentación de nuestra población como resultado de variables biológicas relevantes en su patología, observamos una tendencia por la disminución

en la expresión de eIF3f en pacientes con riesgo adverso, sobre todo en los adultos, y alcanzó significancia estadística ($p = 0.02$) en aquellos con LLA y riesgo adverso para la edad (>35 años). Este resultado es similar a lo observado por Durán Díaz, LY (2020) en cáncer de mama, un alto porcentaje de pacientes con el subtipo triple negativo asociados a la mutación BRCA1, que presentó el comportamiento más agresivo, tenían disminución en la expresión de eIF3f (123).

La disminución de eIF3f también fue significativa en pacientes pediátricos con LLA sin respuesta al tratamiento ($p = 0.02$), resultado que respalda lo observado en el trabajo de tesis de Vergara-Hernández (2020) (75).

La disminución de eIF3f en neoplasias malignas fue reportado por primera vez por Shi *et al.*, (2006), quienes asumen que eIF3f es un inductor de apoptosis, y que su sobreexpresión origina la muerte celular en algunos tipos de neoplasias (6). Nuestro grupo ha encontrado que eIF3f se encuentra sobreexpresado en leucemia aguda y cáncer de mama, situación donde la sobreexpresión incluso se correlacionó con el tamaño tumoral. La diferencia entre nuestros resultados y los obtenidos por el grupo de Shi *et al.*, (2006), puede explicarse por la metodología utilizada, ya que los experimentos basados en matrices de cDNA tienen gran variabilidad entre matrices, secundario de la variación biológica y la técnica (126), además de que la cuantificación por RT-qPCR se realizó en líneas celulares de melanoma mientras que en nuestro análisis se realizaron comparaciones tanto en el subtipo de leucemia como categorizados en función de la variación biológica que conlleva, la edad, el inmunofenotipo, la respuesta de la enfermedad, etc.

Esta claro que eIF3f comparte vías de señalización vitales para el crecimiento celular, ya que si bien su sobreexpresión conduce a la apoptosis (6, 7) su silenciamiento conduce a estados hipotróficos (127) y a muerte celular (7). Además es interesante la función de eIF3f en la traducción de proteínas, con la asociación de mTOR y S6K1 (130). mTOR juega un papel importante en el crecimiento celular y se le ha planteado como una diana terapéutica, sin embargo su inhibición en células madre hematopoyéticas se ha relacionado con la activación de ejes alternos como ERK/MNK/eIF4E/ARNpolimerasaII/c-Myc como un

mecanismo de adaptación esto origina mayor accesibilidad a la cromatina y una expresión génica global activada, lo que permite que las células hiperproliferen (129). De hecho un estudio reciente en células leucémicas sugiere que los efectos de la síntesis reducida de proteínas en las células leucémicas pueden variar con la progresión de la transformación, en sus ensayos la variabilidad transcripcional llevo a la reducción en el ensamblaje ribosómico sin afectación en la síntesis de proteínas (130).

10. CONCLUSIONES

Se comprueba la hipótesis de que la disminución en la expresión de *eIF3f* y *STAT3β* se asocia a factores de mal pronóstico. En el grupo de adultos con LLA se observó la disminución de *eIF3f* en pacientes con riesgo adverso para la edad, mientras que en el grupo pediátrico esta disminución fue observada en pacientes con enfermedad mínima residual positiva al término de la inducción a la remisión.

También se comprueba la hipótesis de que el incremento de *STAT5B* se asocia a factores de mal pronóstico. En el grupo de pacientes adultos con LMA, la sobreexpresión de *STAT5B* se asoció con los subtipos inmunofenotípicos de riesgo adverso.

Además la expresión de *eIF3f* se correlacionó positivamente con la expresión de las isoformas *STAT5A* y *STAT5B*.

11. PERSPECTIVAS

eIF3f puede ser un marcador de proliferación celular con valor de riesgo predictivo, sin embargo, sería importante medir su expresión en médula ósea normal de sujetos pediátricos y adultos sanos.

Para confirmar las asociaciones que observamos entre la expresión de eIF3f y STAT3 β con la EMR, sugerimos medir la expresión de estas moléculas en muestras obtenidas al término de la inducción a la remisión.

12. REFERENCIAS

1. Leukaemia Source: Globocan 2018. 2018. Available from: <http://gco.iarc.fr/today>
2. Shalkow J. CÁNCER INFANTIL EN MÉXICO “Situación Actual y Retos.”; 2017. <https://www.paho.org/sites/default/files/Cancer-infantil-en-MEXICO.pdf>
3. Santoyo-Sánchez A, Ramos-Peñañiel CO, Saavedra-González A, González-Almanza L, Martínez-Tovar A, Olarte-Carrillo I, et al. Frecuencias de edad y género de pacientes con leucemia en dos centros de referencia del valle de México. *Gaceta Médica de México*. 2017;153(1):44–8.
4. Gao B, Roux PP. Translational control by oncogenic signaling pathways. Vol. 1849, *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*. Elsevier; 2015. p. 753–65.
5. Gomes-Duarte A, Lacerda R, Menezes J, Romão L. eIF3: a factor for human health and disease [Internet]. Vol. 15, *RNA Biology*. Taylor and Francis Inc.; 2018. p. 26–34. Available from: [/pmc/articles/PMC5785978/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30111111/)
6. Shi J, Kahle A, Hershey JWB, et al. Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. *Oncogene*. 2006;25(35):4923-4936. doi:10.1038/sj.onc.1209495
7. Higareda-Mendoza AE, Pardo-Galván MA. Expression of human eukaryotic initiation factor 3f oscillates with cell cycle in A549 cells and is essential for cell viability. *Cell Division*. 2010;5:10. doi:10.1186/1747-1028-5-10
8. Esteves P, Dard L, Brillac A, Hubert C, Sarlak S, Rousseau B, et al. Nuclear control of lung cancer cells migration, invasion and bioenergetics by eukaryotic translation initiation factor 3F. *Oncogene* 2020 Jan 16;39(3):617–36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41388-019-1009-x>
9. Benekli M, Baumann H, Wetzler M. Targeting signal transducer and activator of transcription signaling pathway in leukemias. Vol. 27, *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology; 2009. p. 4422–32. Available from: [/pmc/articles/PMC2744278/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19111111/)
10. Brachet-Botineau M, Polomski M, Neubauer HA, Juen L, Hédou D, Viaud-Massuard MC, et al. Pharmacological inhibition of oncogenic STAT3 and STAT5 signaling in hematopoietic cancers. Vol. 12, *Cancers*. MDPI AG; 2020. Available from: [/pmc/articles/PMC7016966/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32111111/)
11. Lee JW, Cho B. Prognostic factors and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. Vol. 60, *Korean Journal of Pediatrics*. Korean Pediatric Society; 2017. p. 129–37. Available from: [/pmc/articles/PMC5461276/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30111111/)
12. Inaba, H., & Pui, C. H. (2021). Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Clinical Medicine*, 10(9), 1926. <https://doi.org/10.3390/jcm10091926>
13. Longo DL, Harrison TR. Harrison’s Hematology and Oncology. Fauci AS, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Kasper DL, Loscalzo J, editors. New York; 2010. 788.
14. Mera C, Roa L, Ramírez S. Hematopoietic stem cells, generalities and pathways involved in their self-renewal mechanisms. *Health Sciences Magazine*. 2007;5(1):67–89.

15. Gartner LP, Hiatt JL. Texto atlas de Histología. 3rd ed. México, D.F.: McGraw-Hill; 2007.
16. Rocha, V., & Gluckman, E. (2006). Clinical Use of Umbilical Cord Blood Hematopoietic Stem Cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 12(1), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2005.09.006>
17. Mayani, H., & Lansdorp, P. M. (1998). Biology of Human Umbilical Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *STEM CELLS*, 16(3), 153–165. <https://doi.org/10.1002/stem.160153>
18. Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring T challenges. *Blood Reviews*. 2019;36(36):70–87.
19. Ortega MA, Ortega LO, Barrientos VR. Artículo de revisión Leucemia linfoblástica aguda. 2007;26–33.
20. DCP3 Cancer_Ch 7.pdf.
21. -Cruz L, Leyto Cruz F. Leucemia mieloide aguda. *Rev Hematol Mex* 2018 ene. 2018;19(1):24–40.
22. Pérez-Saldivar ML, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L, et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*. 2011 Dec 17;11(1):355. Available from: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-11-355>
23. Arber DA, Borowitz MJ, Cessna M, Ezzell J, Foucar K, Hassarjian RP, et al. Initial diagnostic workup of acute Leukemia guideline from the College of American pathologists and the American Society of Hematology. Vol. 141, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. College of American Pathologists; 2017. p. 1342–93. Available from: www.archivesofpathology.org
24. de Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. ‘Acute myeloid leukemia: A comprehensive review and 2016 update’. Vol. 6, *Blood Cancer Journal*. Nature Publishing Group; 2016. p. e441. Available from: [/pmc/articles/PMC5030376/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2703376/)
25. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood cancer journal*. 2017 Jun 30;7(6):e577. Available from: [/pmc/articles/PMC5520400/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2703376/)
26. Arber DA, Orazi A, Hassarjian R, Thiele J, Borowitz MJ, le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Vol. 127, *Blood*. American Society of Hematology; 2016. p. 2391–405. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/127/20/2391/1393154/2391.pdf>
27. Béné MC, Nebe T, Bettelheim P, Buldini B, Bumbea H, Kern W, et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: A consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. Vol. 25, *Leukemia*. Nature Publishing Group; 2011. p. 567–74. Available from: www.nature.com/leu
28. Dorantes-Acosta E, Medina-Sanson A, Dávila-Ornelas K, López-Martínez B. Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia). *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2013;12(3):136–42.

29. Bain BJ, Béné MC. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *Acta Haematologica*. 2019;141(4):232–44. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/496097>
30. Röllig C, Ehninger G. How I treat hyperleukocytosis in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2015 May 21;125(21):3246–52. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/125/21/3246/1386257/3246.pdf>
31. Tamamyán G, Kadia T, Ravandi F, Borthakur G, Cortes J, Jabbour E, et al. Frontline treatment of acute myeloid leukemia in adults. Vol. 110, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd; 2017. p. 20–34. Available from: </pmc/articles/PMC5410376/?report=abstract>
32. Fey MF, Buske C. Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. 2013;VI138–43. Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)31560-1/fulltext#](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)31560-1/fulltext#)
33. Bain BJ, Béné MC. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *Acta Haematologica* . 2019;141(4):232–44. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/496097>
34. Mrózek K, Harper DP, Aplan PD. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia . Vol. 23, *Hematology/Oncology Clinics of North America*. NIH Public Access; 2009. p. 991–1010. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3607311/>
35. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Vol. 111, *Blood*. American Society of Hematology; 2008. p. 3941–67. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/111/8/3941/1299467/zh800808003941.pdf>
36. Kwon WK, Lee JY, Mun YC, Seong CM, Chung WS, Huh J. Clinical utility of FISH analysis in addition to G-banded karyotype in hematologic malignancies and proposal of a practical approach. *The Korean Journal of Hematology* [Internet]. 2010 [cited 2020 Aug 4];45(3):171. Available from: </pmc/articles/PMC2983032/?report=abstract>
37. Agriello E, Cazap N, Dourisboure R, Fernández I, Ferrari L, Fischman L, et al. *Leucemias Agudas*. 2017; p. 368.
38. Jiménez-Morales S, Hidalgo-Miranda A, Ramírez-Bello J. Acute lymphoblastic leukemia: a genomic perspective. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition)*. 2017 Jan 1;74(1):13–26.
39. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine*. 2015 Oct 15;373(16):1541–52. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1400972>
40. PDQ Adult Treatment Editorial Board. Adult Acute Myeloid Leukemia Treatment (PDQ®): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries. 2002. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26389432>
41. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Vol. 129, *Blood*. American Society of Hematology; 2017. p. 424–47. Available from: </pmc/articles/PMC5291965/?report=abstract>
42. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(12):1136–52.

43. Walter RB, Othus M, Borthakur G, Ravandi F, Cortes JE, Pierce SA, et al. Prediction of early death after induction therapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia with pretreatment risk scores: A novel paradigm for treatment assignment. *Journal of Clinical Oncology*. 2011 Nov 20;29(33):4417–23. Available from: [/pmc/articles/PMC3221524/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3221524/?report=abstract)
44. Taskesen E, Bullinger L, Corbacioglu A, Sanders MA, Erpelinck CAJ, Wouters BJ, et al. Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: Further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood*. 2011 Feb 24;117(8):2469–75.
45. Ho G, Wun T, Muffly L, Li Q, Brunson A, Rosenberg AS, et al. Decreased early mortality associated with the treatment of acute myeloid leukemia at National Cancer Institute-designated cancer centers in California. *Cancer*. 2018 May 1;124(9):1938–45. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.31296>
46. PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (PDQ®): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries. 2002 . Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26389206>
47. Dombret H, Gardin C. An update of current treatments for adult acute myeloid leukemia. Vol. 127, *Blood*. American Society of Hematology; 2016. p. 53–61. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/127/1/53/1391616/53.pdf>
48. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2012 Mar 22;366(12):1079–89. Available from: [/pmc/articles/PMC3545649/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3545649/?report=abstract)
49. Pemmaraju N, Kantarjian H, Ravandi F, Cortes J. FLT3 inhibitors in the treatment of acute myeloid leukemia: The start of an Era?. Vol. 117, *Cancer*. NIH Public Access; 2011. p. 3293–304. Available from: [/pmc/articles/PMC4316826/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC4316826/?report=abstract)
50. Frank NY, Schatton T, Frank MH. The therapeutic promise of the cancer stem cell concept. *Journal of Clinical Investigation*. 2010 Jan 4;120(1):41–50. Available from: <http://www.jci.org>
51. Zhao XF, Reitz M, Chen QC, Stass S. Pathogenesis of early leukemia and lymphoma. *Cancer Biomarkers*. 2011;9(1–6):341–74.
52. Mak TW, Saunders ME. Hematopoietic Cancers. In: *The Immune Response* [Internet]. Elsevier; 2006. p. 1025–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-012088451-3.50032-6>
53. Bongiovanni D, Saccomani V, Piovani E. Aberrant signaling pathways in t-cell acute lymphoblastic leukemia [Internet]. Vol. 18, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2017. Available from: [/pmc/articles/PMC5618553/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC5618553/?report=abstract)
54. Takahashi S. Downstream molecular pathways of FLT3 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia: Biology and therapeutic implications. Vol. 4, *Journal of Hematology and Oncology*. BioMed Central; 2011. p. 13. Available from: [/pmc/articles/PMC3076284/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3076284/?report=abstract)

55. Shi Y, Zhang Z, Qu X, Zhu X, Zhao L, Wei R, et al. Roles of STAT3 in Leukemia (Review). Vol. 53, *International Journal of Oncology*. Spandidos Publications; 2018. p. 7–20. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2018.4386/abstract>
56. Wingelhofer B, Neubauer HA, Valent P, Han X, Constantinescu SN, Gunning PT, et al. Implications of STAT3 and STAT5 signaling on gene regulation and chromatin remodeling in hematopoietic cancer. Vol. 32, *Leukemia*. Nature Publishing Group; 2018 [cited 2020 Sep 8]. p. 1713–26. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0117-x>
57. Orlova A, Wagner C, de Araujo ED, Bajusz D, Neubauer HA, Herling M, et al. Direct targeting options for STAT3 and STAT5 in cancer. Vol. 11, *Cancers*. MDPI AG; 2019. Available from: [pmc/articles/PMC6966570/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35466570/)
58. Brachet-Botineau M, Polomski M, Neubauer HA, Juen L, Hédou D, Viaud-Massuard MC, et al. Pharmacological inhibition of oncogenic STAT3 and STAT5 signaling in hematopoietic cancers. Vol. 12, *Cancers*. MDPI AG; 2020. Available from: [pmc/articles/PMC7016966/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35466570/)
59. de Araujo E.D, Erdogan F, Neubauer HA, et al. Structural and functional consequences of the STAT5BN642H driver mutation. *Nat Commun* 10, 2517 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10422-7>
60. Kontro M, Kuusanmäki H, Eldfors S, Burmeister T, Andersson EI, Bruserud, et al. Novel activating STAT5B mutations as putative drivers of T-cell acute lymphoblastic leukemia [Internet]. Vol. 28, *Leukemia*. Nature Publishing Group; 2014 [cited 2020 Nov 6]. p. 1738–42. Available from: <https://www.nature.com/articles/leu201489>
61. Bandapalli, Obul R, et al. “The activating STAT5B N642H mutation is a common abnormality in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia and confers a higher risk of relapse.” *Haematologica* 2014;vol. 99,10 : e188-92. doi:10.3324/haematol.2014.104992
62. Kollmann S, Grundschober E, Maurer B, Warsch W, Grausenburger R, Edlinger L, et al. Twins with different personalities: STAT5B—but not STAT5A—has a key role in BCR/ABL-induced leukemia. *Leukemia*. 2019 Jul;33(7):1583–97. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0369-5>
63. Hoelbl A, Schuster C, Kovacic B, et al. STAT5 is indispensable for the maintenance of BCR/ABL-positive leukaemia. *EMBO Mol Med*. 2010;2:98-110 <https://doi.org/10.1002/emmm.201000062>
64. Ng, I. W., Ng, D. H., Jans, D., & Bogoyevitch, M. (2012). Selective STAT3- α or - β expression reveals spliceform-specific phosphorylation kinetics, nuclear retention and distinct gene expression outcomes. *Biochemical Journal*, 447(1), 125–136. <https://doi.org/10.1042/bj20120941>
65. Zhang, H. X., Yang, P. L., Li, E. M., & Xu, L. Y. (2019). STAT3beta, a distinct isoform from STAT3. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 110, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2019.02.006>
66. Chiarle R, Simmons W, Cai H, et al. STAT3 is required for ALK-mediated lymphomagenesis and provides a possible therapeutic target. *Nat Med* 2005;11, 623–629. <https://doi.org/10.1038/nm1249>
67. Aigner, P., Mizutani, T., Horvath, J., Eder, T., Heber, S., Lind, K., Just, V., Moll, H. P., Yeroslaviz, A., Fischer, M. J. M., Kenner, L., Györfy, B., Sill, H., Grebien,

- F., Moriggl, R., Casanova, E., & Stoiber, D. (2019). STAT3 β is a tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Blood Advances*, 3(13), 1989–2002. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018026385>
68. Pan YR, Chen CC, Chan YT, Wang HJ, Chien FT, Chen YL, et al. STAT3-coordinated migration facilitates the dissemination of diffuse large B-cell lymphomas. *Nature Communications*. 2018;9(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-06134-z>
 69. Kyung HC, Kang JJ, Shang CS, et al. STAT3 mediates TGF- β 1-induced TWIST1 expression and prostate cancer invasion. *Cancer Letters* 2013;336(1):167-173. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.04.024>.
 70. Qin P, Pang Y, Hou W, et al. Integrated decoding hematopoiesis and leukemogenesis using single-cell sequencing and its medical implication. *Cell Discov* 2021;7, 2. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-00223-4>
 71. Stevens, Alexandra M, et al. Ligand-induced STAT3 signaling increases at relapse and is associated with outcome in pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Haematologica* 2015;100(12): e496-500. doi:10.3324/haematol.2015.131508
 72. Blumert C, Kalkhof S, Brocke-Heidrich K, et al. Analysis of the STAT3 interactome using in-situ biotinylation and SILAC. *Journal of Proteomics* 2013;94: 370-386. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.08.021>.
 73. Gutiérrez-Fernández MJ, Higareda-Mendoza AE, Gómez-Correa CA, Pardo-Galván MA. The eukaryotic translation initiation factor 3f (eIF3f) interacts physically with the alpha 1B-adrenergic receptor and stimulates adrenoceptor activity Cellular and membrane biochemistry. *BMC Biochemistry*. 2015;16(1). doi:10.1186/s12858-015-0054-5
 74. Bautista Tejada AA. Perfil de expresión del gen eIF3f en linfocitos humanos. Tesis de maestría 2015-2017.
 75. Vergara Hernández JA. eIF3f como posible marcador pronóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda de células B (LLA-B). Tesis de maestría 2018-2020.
 76. Doldan A, Chandramouli A, Shanas R, et al. Loss of the eukaryotic initiation factor 3f in pancreatic cancer. *Molecular Carcinogenesis*. 2008;47(3):235-244. doi:10.1002/mc.20379
 77. Docquier A, Pavlin L, Raibon A, et al. eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse. *The Journal of Physiology*. 2019;597(12):3107-3131. doi:10.1113/JP277841
 78. Li G, Wang N, Sun C, Li B. Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f is an adverse prognostic factor for stage I-III gastric cancer. *World Journal of Surgical Oncology*. 2014;12(1):1-6. doi:10.1186/1477-7819-12-72
 79. Lee JY, Kim HJ, Rho SB, Lee SH. eIF3f reduces tumor growth by directly interrupting clusterin with anti-apoptotic property in cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7(14):18541-18557. doi:10.18632/oncotarget.8105
 80. Moretti J, Chastagner P, Gastaldello S, et al. The Translation Initiation Factor 3f (eIF3f) Exhibits a Deubiquitinase Activity Regulating Notch Activation.
 81. Wang J, Lv X, Guo X, et al. Feedback activation of STAT3 limits the response to PI3K/AKT/mTOR inhibitors in PTEN-deficient cancer cells. *Oncogenesis* 2021;10, 8. <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00292-w>

82. Hata Y, Iida J. (2009) Scaffold Protein. In: Binder M.D, Hirokawa N, Windhorst U. (eds) Encyclopedia of Neuroscience. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_5231
83. Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, et al. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. Cell. 2018;173(2):321-337.e10. doi:10.1016/j.cell.2018.03.035
84. Rivera-Luna R, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, et al. Descriptive Epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. BMC Cancer. 2014;14(1):790. doi:10.1186/1471-2407-14-790
85. SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de cáncer en niños y adolescentes en México
86. Liersch R, Müller-Tidow C, Berdel WE, Krug U. Prognostic factors for acute myeloid leukaemia in adults – biological significance and clinical use. British Journal of Haematology. 2014;165(1):17-38. doi:10.1111/BJH.12750
87. Kim IS. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia: technical aspects and implications for clinical interpretation. Blood Res. 2020;55(S1):S19-S26. doi:10.5045/br.2020.S004
88. Imbeaud, S. (2005). Towards standardization of RNA quality assessment using user-independent classifiers of microcapillary electrophoresis traces. *Nucleic Acids Research*, 33(6), e56. <https://doi.org/10.1093/nar/gni054>
89. SYBR® Green PCR Master Mix and SYBR® Green RT-PCR Reagents Kit User Guide. 4310251 Rev. G. 2011.
90. Fraga D, Meulia T, Fenster S. Real-Time PCR. Wiley Online Library. 2014; 10.3.1-10.3.40. doi: 10.1002/9780470089941.et1003s08
91. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta-Delta C(T)) method. *Methods* 25:402-408.
92. van Dongen, J. J. M., Lhermitte, L., Böttcher, S., Almeida, J., van der Velden, V. H. J., Flores-Montero, J., Rawstron, A., Asnafi, V., Lécresse, Q., Lucio, P., Mejstrikova, E., Szczepański, T., Kalina, T., de Tute, R., Brüggemann, M., Sedek, L., Cullen, M., Langerak, A. W., Mendonça, A., . . . Orfao, A. (2012). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*, 26(9), 1908–1975. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.120>
93. Novales, A. (2010). Análisis de Regresión. Departamento de Economía Cunitativa Universidad Complutense. 2010. <https://www.ucm.es/data/cont/docs/518-2013-11-13-Analisis%20de%20Regresion.pdf>
94. Michael R. Green and Joseph Sambrook. Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harb Protoc. 2018. doi:10.1101/pdb.prot095042
95. Ullmannová V., Haskovec C., The Use of Housekeeping Genes (HKG) as an Internal Control for the Detection of Gene Expression by Quantitative Real-Time RT-PCR. *Folia Biologica (Praha)*. 2013;49, 211-216.
96. INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA Y ESTADISTICA. (2018, 20 diciembre). SEXTA EDICIÓN DE LA ENCUESTA NACIONAL DE EMPLEO Y SEGURIDAD SOCIAL (ENESS) [Comunicado de prensa].

- <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/ENESS2018.pdf>
97. Deschler, B., & Lübbert, M. (2006). Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*, 107(9), 2099–2107. <https://doi.org/10.1002/cncr.22233>
 98. Dores, G. M., Devesa, S. S., Curtis, R. E., Linet, M. S., & Morton, L. M. (2012). Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001–2007. *Blood*, 119(1), 34–43. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-347872>.
 99. Ratajczak, M. Why are hematopoietic stem cells so ‘sexy’? on a search for developmental explanation. *Leukemia* 31, 1671–1677 (2017). <https://doi.org/10.1038/leu.2017.148>
 100. (Suarez, A., Piña, M., Nichols-Vinueza, D. X., Lopera, J., Rengifo, L., Mesa, M., Cardenas, M., Morrissey, L., Veintemilla, G., Vizcaino, M., del Toro, L., Vicuna, V., Fernandez, J., Neuberg, D., Stevenson, K., & Gutierrez, A. (2015). A strategy to improve treatment-related mortality and abandonment of therapy for childhood ALL in a developing country reveals the impact of treatment delays. *Pediatric Blood & Cancer*, 62(8), 1395–1402. <https://doi.org/10.1002/pbc.25510>)
 101. Bispo, J. A. B., Pinheiro, P. S., & Kobetz, E. K. (2019). Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(6), a034819. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034819>,
 102. Dong, Y., Shi, O., Zeng, Q., Lu, X., Wang, W., Li, Y., & Wang, Q. (2020). Leukemia incidence trends at the global, regional, and national level between 1990 and 2017. *Experimental Hematology & Oncology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00170-6>.
 103. Gupta, S., Bonilla, M., Valverde, P., Fu, L., Howard, S. C., Ribeiro, R. C., & Sung, L. (2012). Treatment-related mortality in children with acute myeloid leukaemia in Central America: Incidence, timing and predictors. *European Journal of Cancer*, 48(9), 1363–1369. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.10.009>
 104. Enciso J, Mendoza L and Pelayo R (2015) Normal vs. Malignant hematopoiesis: the complexity of acute leukemia through systems biology. *Front. Genet.* 6:290. doi: 10.3389/fgene.2015.00290.
 105. O’Hare, T., Deininger, M. W., Eide, C. A., Clackson, T., & Druker, B. J. (2011). Targeting the BCR-ABL Signaling Pathway in Therapy-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemia. *Clinical Cancer Research*, 17(2), 212–221. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-09-3314>
 106. Zhang, H. F., Chen, Y., Wu, C., Wu, Z. Y., Twardy, D. J., Alshareef, A., Liao, L. D., Xue, Y. J., Wu, J. Y., Chen, B., Xu, X. E., Gopal, K., Gupta, N., Li, E. M., Xu, L. Y., & Lai, R. (2016). The Opposing Function of STAT3 as an Oncoprotein and Tumor Suppressor Is Dictated by the Expression Status of STAT3 β in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 22(3), 691–703. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-15-1253>
 107. Catlett-Falcone, R., Landowski, T. H., Oshiro, M. M., Turkson, J., Levitzki, A., Savino, R., Ciliberto, G., Moscinski, L., Fernández-Luna, J. L., Nuñez, G., Dalton, W. S., & Jove, R. (1999). Constitutive Activation of Stat3 Signaling Confers Resistance to Apoptosis in Human U266 Myeloma Cells. *Immunity*, 10(1), 105–115. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80011-4](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80011-4)

108. Dewilde, S. (2008). Of alphas and betas: distinct and overlapping functions of STAT3 isoforms. *Frontiers in Bioscience*, Volume(13), 6501. <https://doi.org/10.2741/3170>
109. Chakraborty, A., White, S., Schaefer, T., Ball, E., Dyer, K., & Tweardy, D. (1996). Granulocyte colony-stimulating factor activation of Stat3 alpha and Stat3 beta in immature normal and leukemic human myeloid cells. *Blood*, 88(7), 2442–2449. <https://doi.org/10.1182/blood.v88.7.2442.bloodjournal8872442>
110. Nicholson, S. E., Starr, R., Novak, U., Hilton, D. J., & Layton, J. E. (1996). Tyrosine Residues in the Granulocyte Colony-stimulating Factor (G-CSF) Receptor Mediate G-CSF-induced Differentiation of Murine Myeloid Leukemic (M1) Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 271(43), 26947–26953. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.43.26947>
111. Hevehan, D. L., Miller, W. M., & Papoutsakis, E. T. (2002). Differential expression and phosphorylation of distinct STAT3 proteins during granulocytic differentiation. *Blood*, 99(5), 1627–1637. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.5.1627>
112. Reikvam, H., Hatfield, K. J., Kittang, A. O., Hovland, R., & Bruserud, Y. (2011). Acute Myeloid Leukemia with the t(8;21) Translocation: Clinical Consequences and Biological Implications. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2011/104631>
113. Maurer, Kollmann, Pickem, Hoelbl-Kovacic, & Sexl. (2019). STAT5A and STAT5B—Twins with Different Personalities in Hematopoiesis and Leukemia. *Cancers*, 11(11), 1726. <https://doi.org/10.3390/cancers11111726>
114. Chen, H., Pan, J., Yao, L., Wu, L., Zhu, J., Wang, W., Liu, C., Han, Q., Du, G., Cen, J., Xue, Y., Wu, D., Sun, M., & Chen, S. (2012). Acute promyelocytic leukemia with a STAT5b-RAR α fusion transcript defined by array-CGH, FISH, and RT-PCR. *Cancer Genetics*, 205(6), 327–331. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2012.02.007>
115. Wang, L., Yan, X., & He, J. (2020). Does acute promyelocytic leukemia patient with the STAT5B/RAR α fusion gene respond well to decitabine? *Medicine*, 99(43), e22923. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000022923>
116. Arnould, C., Philippe, C., Bourdon, V., Gregoire, M. J., Berger, R., & Jonveaux, P. (1999). The Signal Transducer and Activator of Transcription STAT5b Gene Is a New Partner of Retinoic Acid Receptor in Acute Promyelocytic-Like Leukaemia. *Human Molecular Genetics*, 8(9), 1741–1749. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.9.1741>
117. Paul, R. G., Hennebry, A. S., Elston, M. S., Conaglen, J. V., & McMahon, C. D. (2019). Regulation of murine skeletal muscle growth by STAT5B is age- and sex-specific. *Skeletal Muscle*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13395-019-0204-3>
118. Lee Vance, M. (1990). Growth Hormone for the Elderly? *New England Journal of Medicine*, 323(1), 52–54. <https://doi.org/10.1056/nejm199007053230109>
119. Hwa, V. (2016). STAT5B deficiency: Impacts on human growth and immunity. *Growth Hormone & IGF Research*, 28, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2015.12.006>
120. Maurer, B., Nivarthi, H., Wingelhofer, B., Pham, H. T. T., Schlederer, M., Suske, T., Grausenburger, R., Schiefer, A. I., Prchal-Murphy, M., Chen, D., Winkler, S., Merkel, O., Kornauth, C., Hofbauer, M., Hochgatterer, B., Hoermann, G., Hoelbl-

- Kovacic, A., Prochazkova, J., Lobello, C., . . . Moriggl, R. (2019). High activation of STAT5A drives peripheral T-cell lymphoma and leukemia. *Haematologica*, 105(2), 435–447. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.216986>
121. Tang, Y., Xiao, S., Wang, Z., Liang, Y., Xing, Y., Wu, J., & Lu, M. (2022). A Prognostic Model for Acute Myeloid Leukemia Based on IL-2/STAT5 Pathway-Related Genes. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.785899>
122. de Groot, R. P., Raaijmakers, J. A., Lammers, J. W. J., & Koenderman, L. (2000b). STAT5-Dependent CyclinD1 and Bcl-xL Expression in Bcr-Abl-Transformed Cells. *Molecular Cell Biology Research Communications*, 3(5), 299–305. <https://doi.org/10.1006/mcbr.2000.0231>
123. Durán Díaz, LY. Valoración de eIF3F y Ki67 como posibles marcadores de proliferación celular que aunado a la estadificación coadyuven en la terapéutica y pronóstico de cáncer de mama. Tesis de maestría 2019-2021
124. Li, J., Yu, W., Ge, J., Zhang, J., Wang, Y., Wang, P., & Shi, G. (2020). <p>Targeting eIF3f Suppresses the Growth of Prostate Cancer Cells by Inhibiting Akt Signaling</p> *OncoTargets and Therapy*, Volume 13, 3739–3750. <https://doi.org/10.2147/ott.s244345>
125. Picco, M. E., Castro, M. V., Quezada, M. J., Barbero, G., Villanueva, M. B., Fernández, N. B., Kim, H., & Lopez-Bergami, P. (2019). STAT3 enhances the constitutive activity of AGC kinases in melanoma by transactivating PDK1. *Cell & Bioscience*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0265-8>
126. Mocellin, S., Provenzano, M., Rossi, C. R., Pilati, P., Nitti, D., & Lise, M. (2005). DNA Array-Based Gene Profiling. *Annals of Surgery*, 241(1), 16–26. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000150157.83537.53>
127. Csibi, A., Cornille, K., Leibovitch, M. P., Poupon, A., Tintignac, L. A., Sanchez, A. M. J., & Leibovitch, S. A. (2010). The Translation Regulatory Subunit eIF3f Controls the Kinase-Dependent mTOR Signaling Required for Muscle Differentiation and Hypertrophy in Mouse. *PLoS ONE*, 5(2), e8994. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008994>
128. Lagirand-Cantaloube, J., Offner, N., Csibi, A., Leibovitch, M. P., Batonnet-Pichon, S., Tintignac, L. A., Segura, C. T., & Leibovitch, S. A. (2008). The initiation factor eIF3-f is a major target for Atrogin1/MAFbx function in skeletal muscle atrophy. *The EMBO Journal*, 27(8), 1266–1276. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.52>
129. Fan, C., Zhao, C., Zhang, F., Kesarwani, M., Tu, Z., Cai, X., Davis, A. K., Xu, L., Hochstetler, C. L., Chen, X., Guo, F., Huang, G., Azam, M., Tian, W., Lu, Q. R., & Zheng, Y. (2020). Adaptive responses to mTOR gene targeting in hematopoietic stem cells reveal a proliferative mechanism evasive to mTOR inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(1). <https://doi.org/10.1073/pnas.2020102118>
130. Gupta, S., Dovey, O. M., Domingues, A. F., Cyran, O. W., Cash, C. M., Giotopoulos, G., Rak, J., Cooper, J., Gozdecka, M., Asby, R. J., Al-Jabery, N., Hernandez-Hernandez, V., Prabakaran, S., Huntly, B. J., Vassiliou, G. S., & Pina, C. (2021). Transcriptional variability accelerates pre-leukemia by cell diversification and perturbation of protein synthesis. *bioRxiv* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.10.18.464824>

13. ANEXOS

Anexo 1. Carta de consentimiento informado IMSS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL GENERAL REGIONAL N°1

Morelia, Mich, a ___ de _____ del 202_.

Usted ha sido invitado a participar en el estudio de investigación titulado: **“Asociación entre la expresión de EIF3F y la expresión de STAT3 y STAT5 en pacientes con leucemia aguda”** registrado ante la Comisión Nacional de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social, con el Número _____.

El siguiente documento le proporciona información detallada del proyecto de investigación. Por favor léalo cuidadosamente.

Justificación y objetivo

La leucemia, conocida como cáncer de la sangre, es una enfermedad que puede afectar tanto a niños como a personas adultas. En nuestro país en el período 2007-2012 se enfermaron 7,066 personas menores de 18 años. Los médicos especialistas que tratan a los pacientes con leucemia son los oncólogos pediatras o los hematólogos, quienes aplican una serie de medicamentos (quimioterapia) de acuerdo a variables biológicas del propio paciente (edad, sexo, estado nutricional) y de las características de la estirpe celular afectada (linfoblastos, mieloblastos). Es por ello que en décadas recientes los investigadores que buscan tratamientos más efectivos para el control de la leucemia, se han concentrado en conocer con mayor claridad los mecanismos moleculares de las células cancerosas que controlan su crecimiento, la inhibición de su propia muerte celular y la invasión a otros tejidos.

En el presente proyecto de investigación se pretende medir la cantidad de las moléculas eIF3f, STAT3 y STAT5 presentes en las células leucémicas y ver si la cantidad de estas moléculas se asocia a una mejor respuesta al tratamiento.

Naturaleza del estudio

Con el presente estudio se pretende analizar la expresión de moléculas involucradas en la proliferación y migración celular (eIF3f y STAT3 respectivamente), así como en la diferenciación de células hematopoyéticas (STAT5) en pacientes con leucemia aguda al momento de su diagnóstico (de novo), en muestras de sangre periférica y/o médula ósea, adicionalmente se revisarán los expedientes clínicos del paciente para la obtención de datos clínicos y paraclínicos necesarios para el desarrollo de esta investigación. Con esto se estudiará el patrón de expresión de estas moléculas y si su alteración (sobreexpresión o expresión disminuida) se relaciona con el pronóstico del paciente.

Procedimientos

Se me ha explicado de manera clara que con la aceptación para participar en este estudio me darán seguimiento a mi estado de salud hasta que egrese del hospital. El investigador no hará ninguna modificación a mi tratamiento médico, solo lo registrará en una hoja. Además, me han explicado que se tomarán los remanentes de las muestras de médula ósea o sangre periférica que el médico tratante necesita para el diagnóstico o evaluación de la respuesta al tratamiento para realizar las determinaciones de las moléculas del presente estudio. Otros datos se recabarán de mi expediente médico.

Riesgos y molestias

El investigador me ha comentado que con mi participación en este estudio no generará ninguna molestia ni riesgo adicional a lo que me haga el médico tratante, pues se aprovecharán las tomas de muestras biológicas rutinarias para el diagnóstico y control de mi enfermedad.

Beneficios:

Directamente usted no tendrá ningún beneficio, pero la información que se obtenga permitirá identificar nuevos marcadores moleculares que expliquen la respuesta al tratamiento y que los médicos tratantes utilizarán en otros pacientes para alcanzar más rápido el control de la enfermedad.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:

El investigador responsable se ha comprometido a darme información sobre los resultados de los estudios generados en el proyecto de investigación. Además, el investigador responsable se ha comprometido a responder y aclarar cualquier duda que pudiera tener acerca de los procedimientos que se llevarán al cabo, los riesgos, beneficios o cualquier asunto relacionado con la investigación.

Participación o retiro

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Es decir, que si usted no desea participar en el estudio, su decisión no afectará su relación con el IMSS ni su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que ya recibe. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en el momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS. Para los fines de esta investigación, sólo utilizaremos la información que usted nos ha brindado desde el momento en que aceptó participar hasta el momento en el cual nos haga saber que ya no desea continuar en el estudio.

Privacidad y Confidencialidad

El investigador responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

Beneficios al término del estudio

Los beneficios al término del estudio que tendré será el estar informado de los resultados de los estudios realizados y probablemente un mejor conocimiento acerca de mi enfermedad.

PERSONAL DE CONTACTO EN CASO DE DUDAS O ACLARACIONES

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 8:00 a 15:00 hrs, de lunes a viernes con el Dr. Sergio Gutiérrez Castellanos que es el investigador responsable del estudio, al teléfono: 322-2600 extensión 16 o con la Dra. Anel Gómez García Presidente del Comité Local de Ética e Investigación en Salud (CLEIS) N° 16028 del HGR N°1 al teléfono 310 9950 extensión 31315.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre Completo del Participante

Firma del Participante o Tutor Legal para
de menores de edad

FIRMA DEL TESTIGO

Mi firma como testigo certifica que el/la participante ó Tutor Legal firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre del Testigo

Firma del Testigo

Anexo 2. Carta de asentimiento informado IMSS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL GENERAL REGIONAL N°1

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Hola mi nombre es Corintia Alejandra Bautista Verduzco actualmente estoy realizando una investigación llamada: ***“Asociación entre la expresión de EIF3F y la expresión de STAT3 y STAT5 en pacientes con leucemia aguda”***. Este estudio es para conocer más acerca de la leucemia (enfermedad de la sangre que daña la salud) en niños y para ello queremos pedirte que nos apoyes.

El OBJETIVO principal de esta investigación es evaluar la presencia de algunas moléculas que hacen que las células de la sangre se dividan de forma descontrolada y dañen la salud, ocasionando enfermedades como la que tu tienes, este estudio lo haremos en niños del servicio de pediatría del Hospital General Regional número 1 de Charo en Michoacán. PROCEDIMIENTO: Se solicitará la autorización de alguno de tus padres o tutor para incluirte en este estudio de investigación. Se recolectará información de tu enfermedad y nadie más que los investigadores y tus médicos tratantes tendrán acceso a ella, después pediremos a tu médico lo que sobre de las muestras de sangre o médula ósea (sangre que esta dentro de tus huesos) que ha indicado el médico te sean tomadas de forma rutinaria, NO SOLICITAREMOS NINGÚN ESTUDIO EXTRA a lo indicado por tu médico, en el sobrante de tus muestras podremos investigar si estas moléculas estan en tu sangre. Los investigadores no haremos ninguna modificación a tu tratamiento ni procedimientos extra a lo que tu médico indique. Tu participación en el estudio consistiría en **autorizar que el médico nos regale lo que sobre de tus muestras de sangre o médula ósea y dejarnos tener acceso a la información sobre tu enfermedad.**

Tu participación en el estudio es voluntaria, es decir, aun cuando tu papá, mamá o tutor hayan dicho que puedes participar, si tú no quieres hacerlo puedes decir que no. Es tu decisión si participas o no en el estudio. También es importante que sepas que si en un momento dado ya no quieres continuar en el estudio, no habrá ningún problema. Toda la información que obtengamos y los análisis que realicemos nos ayudarán a saber como estás moléculas afectan a las células de la sangre, también ayudará a muchos médicos e investigadores a conocer las acciones que podemos llevar a cabo para modificar (cambiar) esto.

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una (✓) en el cuadrito de abajo que dice “Sí quiero participar” y escribe tu nombre.

Si no quieres participar, no pongas ninguna (✓), ni escribas tu nombre.

Sí quiero participar

Nombre: _____

SI TIENES DUDAS O NECESITAS ALGUNA ACLARACIÓN RELACIONADA A ESTA INVESTIGACIÓN PUEDES DIRIGIRTE DE 8:00 a 15:00 hrs, de lunes a viernes con el Doctor Sergio Gutiérrez Castellanos que es el investigador responsable del estudio, al teléfono: 322-2600 extensión 16 o con la Doctora Anel Gómez García Presidente del Comité Local de Ética e Investigación en Salud (CLEIS) N° 16028 del HGR N°1 al teléfono 310 9950 extensión 31315. Doctora Corintia Alejandra Bautista Verduzco estudiante de maestría en Ciencias de la Salud al teléfono 443 134 5474.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma de ambos padres
o tutores o representante legal

Nombre y firma de quien obtiene
el consentimiento

Testigo 1
Nombre, dirección, relación y firma

**Anexo 3. Carta de consentimiento informado para pacientes del Hospital General
“Dr. Miguel Silva”**

HOSPITAL GENERAL “DR. MIGUEL SILVA”

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN
VOLUNTARIA EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Morelia, Mich, a _____ del mes de _____ del año 202_.

Por medio del presente yo: _____

Acepto participar en el proyecto de investigación titulado:

*“LA EXPRESIÓN DE EIF3F Y LAS ISOFORMAS STAT3 β Y STAT5B SE
ASOCIAN CON EL FACTOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA
AGUDA”*

Esta investigación tiene el fin de entender anomalías que participan en el desarrollo del cáncer de sangre, para mi participación en él NO es necesaria la intervención del investigador, únicamente se obtendrán los remanentes de las muestras que hayan sido utilizadas para los fines con los que se me solicitaron por parte de mi médico tratante para el diagnóstico de mi enfermedad, siendo el estudio de RIESGO MÍNIMO de acuerdo al artículo 17 del reglamento de la ley general de salud. El estudio de estas muestras permitirá ampliar conocimientos respecto a las diversas alteraciones que se pueden presentar en el cáncer de sangre y se mantendrá comunicación constante con el personal del Hospital General “Dr. Miguel Silva” proporcionando información que pueda ser de apoyo para la orientación al tratamiento. En caso de sobrar muestra de análisis esta será guardada y deslindada de mi persona, y se utilizará en futuras investigaciones que ayuden a entender enfermedades malignas de la sangre. Se me ha explicado de manera clara que con la aceptación para participar en este estudio me darán seguimiento a mi estado de salud hasta que egrese del hospital. El investigador no hará ninguna modificación a mi tratamiento médico, solo lo registrará en una hoja. Otros datos se recabarán de mi expediente clínico.

Posibles riesgos y molestias

El investigador me ha comentado que con mi participación en este estudio NO generará ninguna molestia ni riesgo adicional a lo que me haga el médico tratante.

Participación o retiro

El Investigador Responsable se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclararme cualquier duda que le plantee acerca de las preguntas que me realizarán.

Privacidad y Confidencialidad

El investigador responsable me ha dado seguridad de que NO se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

Beneficios al término del estudio

Los beneficios al término del estudio que tendré será el estar informado de los resultados de los estudios realizados y probablemente un mejor conocimiento acerca de mi enfermedad.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre Completo del Participante

FIRMA DEL TESTIGO

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre y firma del testigo

Anexo 4. Carta de consentimiento informado para pacientes del Hospital Infantil

“Eva Sámano de López Mateos”



HOSPITAL INFANTIL

“EVA SÁMANO DE LÓPEZ MATEOS”

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA



Morelia, Mich, a _____ del mes de _____ del año 20__.

Autorizo que mi hijo (a): _____ participe en el proyecto de investigación titulado:

La expresión de eIF3f y las isoformas STAT3b y STAT5B se asocian con el factor pronóstico de pacientes con leucemia aguda.

Estoy enterado y de acuerdo en que se obtendrán los remanentes de las muestras que hayan sido utilizadas para los fines con los que se solicitaron (muestra de sangre periférica y/o de médula ósea) teniendo en cuenta que el médico especialista será quien realice la toma de muestra de médula ósea y el personal del laboratorio clínico en el caso de la muestra sanguínea con los siguientes riesgos relacionados: infección, hemorragia y dolor en el sitio de punción siendo el estudio de riesgo mínimo de acuerdo al artículo 17 del reglamento de la ley general de salud. El estudio de estas muestras permitirá ampliar los conocimientos respecto a las diversas alteraciones que se pueden presentar en patologías oncológicas y se mantendrá comunicación constante con el personal del hospital infantil proporcionando información que pueda ser de apoyo para la orientación al tratamiento. Así mismo, se me ha explicado que la participación en este estudio no pone en riesgo la salud de mi hijo, ni condiciona la atención dentro del Hospital.

Se me ha informado que puedo retirar a mi hijo del protocolo en cualquier momento que considere conveniente, sin que ello afecte la atención recibida en el Hospital; también, que la identidad de mi hijo quedará protegida, por lo que sus datos serán utilizados únicamente en la investigación en la que apruebo su participación.

Firmo la presente carta de consentimiento bajo la información voluntaria y estando enterado ampliamente de los beneficios y riesgos del acto autorizado.

Nombre y firma del familiar ó tutor legalmente responsable

Nombre y firma del segundo testigo

Nombre y firma del primer testigo

Nombre y firma de investigador responsable
Dr. Ana Edith Higareda Mendoza
FCMB-UMSNH

Anexo 5. Carta de consentimiento informado para pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad del ISSSTE



ISSSTE

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN
VOLUNTARIA EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Morelia, Mich, a _____ del mes de _____ del año 20_.

Por medio del presente yo: _____

Acepto participar en el proyecto de investigación titulado:

*“LA EXPRESIÓN DE EIF3F Y LAS ISOFORMAS STAT3 β Y STAT5B SE ASOCIAN CON
EL FACTOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA”*

Estoy enterado y de acuerdo en que se obtendrán los remanentes (sobrante) de las muestras que hayan sido utilizadas para los fines con los que se solicitaron (menos de 2ml de muestra de sangre periférica y de médula ósea) teniendo en cuenta que el médico especialista será quien realice la toma de muestra de médula ósea y el personal de laboratorio en el caso de tratarse de muestra sanguínea con los siguientes riesgos relacionados: infección, hemorragia y dolor en el sitio de punción siendo el estudio de riesgo mínimo de acuerdo al artículo 17 del reglamento de la ley general de salud. El estudio de estas muestras permitirá ampliar conocimientos respecto a las diversas alteraciones que se pueden presentar en patologías oncológicas y se mantendrá comunicación constante con el personal de la Unidad Médica de Alta Especialidad del ISSSTE proporcionando información que pueda ser de apoyo para la orientación al tratamiento. Se me ha explicado de manera clara que con la aceptación para participar en este estudio darán seguimiento a mi estado de salud o al de mi hijo (a) hasta que se egrese del hospital. El investigador NO HARÁ NINGUNA modificación a mi tratamiento médico y NO SE RELIZARÁN PROCEDIMIENTOS médicos extras a lo indicado por mi médico tratante. Otros datos se recabarán de mi expediente clínico.

Posibles riesgos y molestias

El investigador me ha comentado que con mi participación en este estudio no generará ninguna molestia ni riesgo adicional a lo que me haga el médico tratante.

Participación o retiro

El Investigador Responsable se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclararme cualquier duda que le plantee acerca de las preguntas que me realizarán.

El investigador responsable se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Privacidad y Confidencialidad

El investigador responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

Beneficios al término del estudio

Los beneficios al término del estudio que tendré será el estar informado de los resultados de los estudios realizados y probablemente un mejor conocimiento acerca de mi enfermedad.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre Completo del Participante

En caso de tratarse de un menor de edad, como su tutor y representante legal acepto que mi familiar participe en la investigación que aquí se describe.

Nombre Completo del Participante

FIRMA DEL TESTIGO

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre y firma del testigo

Anexo 6. Carta de consentimiento informado para pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de la Mujer.



HOSPITAL DE LA MUJER SSM

Morelia, Mich, a _____ del mes de _____ del año 20__.

Por medio del presente yo: _____

Acepto participar en el proyecto de investigación titulado:

“LA EXPRESIÓN DE EIF3F Y LAS ISOFORMAS STAT3 β Y STAT5B SE ASOCIAN CON EL FACTOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA”

Estoy enterado y de acuerdo en que se obtendrán los remanentes de las muestras que hayan sido utilizadas para los fines con los que se solicitaron (muestra de sangre periférica y de médula ósea, ó en su caso sangre de cordón umbilical) con los siguientes riesgos relacionados: infección, hemorragia y dolor en el sitio de punción siendo el estudio de riesgo mínimo de acuerdo al artículo 17 del reglamento de la ley general de salud. El estudio de estas muestras permitirá ampliar conocimientos respecto a las diversas alteraciones que se pueden presentar en el cáncer de sangre y se mantendrá comunicación constante con el personal del Hospital de la Mujer proporcionando información que pueda ser de apoyo para la orientación al tratamiento. Se me ha explicado de manera clara que con la aceptación para participar en este estudio me darán seguimiento a mi estado de salud hasta que egrese del hospital. El investigador no hará ninguna modificación a mi tratamiento médico, solo lo registrará en una hoja. Otros datos se recabarán de mi expediente clínico.

Posibles riesgos y molestias

El investigador me ha comentado que con mi participación en este estudio no generará ninguna molestia ni riesgo adicional a lo que me haga el médico tratante.

Participación o retiro

El Investigador Responsable se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclararme cualquier duda que le plantee acerca de las preguntas que me realizarán.

Privacidad y Confidencialidad

El investigador responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

Beneficios al término del estudio

Los beneficios al término del estudio que tendré será el estar informado de los resultados de los estudios realizados y probablemente un mejor conocimiento acerca de mi enfermedad.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre Completo del Participante ó representante legal.

FIRMA DEL TESTIGO

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre y firma del testigo

Anexo 7. Recolección de datos de pacientes con leucemia aguda

FICHA DE IDENTIFICACIÓN		
Fecha de ingreso		
Edad	Sexo	Fecha de registro
Diagnóstico		

EXÁMENES DE LABORATORIO Y GABINETE		
BIOMETRÍA HEMÁTICA		
Conteo inicial de leucocitos		
Porcentaje de blastos		
CITOGENÉTICA Y MOLECULAR		
Especifique la anomalía cromosómica presente:		
Tipo de estudio:		
<input type="checkbox"/> CARIOTIPO	MOLECULAR <input type="checkbox"/>	
Hiperdiploide (>50 cromosomas)	Hipodiploide (<45 cromosomas)	
Cariotipo complejo (≥5 anomalías no relacionadas)		
Sí	No	
Clasificación pronóstica correspondiente en LLA		
Subraya la anomalía presente		
Riesgo favorable:	Riesgo adverso:	
<u>t(12;21)</u>	BCR-ABL1 [t(9;22)]	
	MLL-AF4 [t(4;11)]	
	E2A/PBX1 [t(1;19)]	
	IGH/MYC [t(8;14)]	
Clasificación pronóstica correspondiente en LMA		
Subraya la anomalía presente		
Riesgo favorable	Riesgo intermedio	Riesgo adverso
<u>ot (8; 21) (q22; q22.1); RUNX1-RUNX1T1</u>	oCariotipo normal con mutación de la NPM1 y FLT3-ITD	o t (6; 9) (p23; q34.1); DEK-NUP214

<p>o inv (16) (p13.1q22) o (16; 16) (p13.1;q22); CBFβ-MYH11</p> <p>o Mutación de la NPM1 sin mutación de FLT3-ITD (Cariotipo normal)</p> <p>o Mutación del CEBPA (Cariotipo normal)</p>	<p>o Cariotipo normal con NPM1 nativo con/sin mutación de FLT3-ITD</p> <p>o t(9;11) (p21.3; q23.3); MLLT3-MLL</p> <p>o Anomalías citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas</p>	<p>o t(v; 11q23.3); KMT2A reorganizado</p> <p>o t(9; 22) (q34.1; q11.2); BCR-ABL1</p> <p>o inv(3) (q21.3q26.2) ó t(3; 3) (q21.3; q26.2); GATA2, MECOM (EVI1) -5 o del (5q); -7; -17 / abn(7p)</p> <p>o Cariotipo complejo (+3 alteraciones)</p> <p>o NPM1 nativo y FLT3-ITD alto</p> <p>o RUNX1 mutado</p> <p>o ASXL1 mutado</p> <p>o TP53 mutado</p>
---	---	---

INMUNOFENOTIPO

Marcar con una el cluster de diferenciación (CD) presente

Línea celular	Subtipo	Características fenotípicas
LLA-B	B-I (pro-B)	CD19, CyCD79, CD22* resto negativos
	B-II (común ALL; "CALLA")	CD10
	B-III (pre-B)	CD10 más Cylgμ
	B-IV (B madura)	CD10, Cylgμ más slgM
LLA-T	T-I (pro-T)	cCD3, CD7** resto negativos
	T-II (pre-T)	CD2, CD5, CD4 y/o CD8 [±]
	T-III (timocito cortical)	CD1a, CD3
	T-IV (T madura)	CD3
CMH/CPH		CD34, CD117, CD13, HLA-DR, TdT ⁺
LMA	Precursor	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR, CD45
	Granulocitos	CD65, CyMPO ⁺
	Monocitos	CD11b, CyCD11, CD14, CD36, CD64, lisozima, CD13, CD15, CD16, CD33, CD65 CyMPO
	Megacariocitos	CD42 (glucoproteína Ib), CD41 (glucoproteína lib/IIIa), CD61 (glucoproteína IIIa), CD36
	Eritroides	CD235a (glicoforina A), CD36, CD71
	Basófilo, mastocito y dendrítica plasmocitoide	CD123, CD203, CD22

INMUNOFENOTIPO COMPATIBLE

--

Anexo 8. Recolección de datos para factores de riesgo predictivo pronósticos

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Fecha de ingreso

Edad

Sexo

Fecha de registro

BIOMETRÍA HEMÁTICA	FECHA	TÉRMINO INDUCCIÓN A LA REMISIÓN	FECHA
HB			
HTO			
VCM			
HCM			
Leuc			
Neutr (# Absoluto)			
Linf			
Basof			
Eos			
Mono			
Blastos			
Plaquetas			

DETECCIÓN DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN EL FINAL DE LA INDUCCIÓN

Porcentaje de células malignas

Tipo de muestra

MO

SP

Porcentaje de EMR

Método diagnóstico

EMR ausente-----<0.01%

EMR presente-----≥1%

Anexo 9. Recolección de datos para la captura de SVCU

DATOS DE IDENTIFICACIÓN:

Nombre	Edad Fecha de nacimiento
Origen	Residencia
Escolaridad	Grupo y RH

AHF:

Madre	Padre
Hermanos	Hijos

APP:

Hábitos tóxicos	Transfusiones
Quirúrgicos	Hematológicos
Alérgicos	Infecciones previas
Crónico-degenerativos:	
Tratamientos	

AGO:

FUM	FPP	ETS
Vaginitis	G P C A	Intergenesia
Malformaciones	Diabetes gestacional	HAS
Infección	Isoinmunización	Otros
Atención prenatal	Nº Consultas	Medicación gestacional
E. vacunación		
TORCH		

PERIODO EXPULSIVO, ALUMBRAMIENTO, DATOS DEL RECIÉN**NACIDO:**

Ruptura de membranas--- SI NO	Hora de ruptura	
Meconio SI NO		
Parto	Cesarea	Complicaciones
Peso del RN		
Malformaciones		


LABORATORIOS DE LA MADRE:

BH		DIFERENCIAL	ABSOLUTO
Leu	CMHB		
Eri	PLAQ		
Hb	Neut		
Hto	Linf		
VPM	Mon		
VCM	Eos		
HCM	Basó		

OTROS HALLAZGOS RELEVANTES:

--

Anexo 10. Cartas de aceptación de instituciones participantes



HOSPITAL REGIONAL MORELIA
COORDINACIÓN DE PLANEACIÓN, ESTADÍSTICA Y CALIDAD
OFICIO No. 23154-2/DIR/CP/27/2021
Morelia, Michoacán a 31 de marzo del 2021

DRA. CORINTIA ALEJANDRA BAUTISTA VERDUZCO
INVESTIGADOR PRINCIPAL
PRESENTE

Por este conducto informo a usted que se autoriza al Dr. Sergio Cutiérrez Castellanos Investigador del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, quien funge como Investigador Responsable del protocolo de investigación con título: "La expresión de EIF3F y las isoformas STAT3 β y STAT3 δ se asocian con el factor pronóstico de pacientes con leucemia aguda" y que consiste en analizar la expresión génica de EIF3F, STAT3 β y STAT3 δ en sangre periférica y/o médula ósea de pacientes con diagnóstico de leucemia aguda del Hospital General Regional No. 1, Charo, Mich., el Hospital Infantil de Morelia "Eve Sámano de López Mateos", el Hospital General "Dr. Miguel Silva" y el Hospital de Alta Especialidad del ISSSTE. El objetivo principal es establecer una relación entre el patrón de expresión de estas moléculas en los pacientes con leucemia con su pronóstico y supervivencia general. El mismo será realizado bajo normalidad institucional y de las leyes mexicanas de protección de la información.

sin otro particular de momento, se envía un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DR. ARMANDO LEMUS GARCÍA
Encargado de Dirección

DR. JOSÉ ANTONIO SOTO GÓMEZ
Presidente del comité de Ética e Investigación

C.c.p. ALBA HERNÁNDEZ CUTIÉRREZ, JEFA DE ENSEÑANZA



SECRETARÍA DE SALUD

Dependencia: HOSPITAL DE LA MUJER
Sub-dependencia: Enseñanza Médica y Capacitación
Clase: No. de oficio: 09020211
Expediente:
Asunto:

"2021, Año de la Independencia"

ASUNTO: CARTA DE ACEPTACION
Morelia, Mich. a 6 de Abril de 2021.

DRA. CORINTIA ALEJANDRA BAUTISTA VERDUZCO
PRESENTE.

Por este conducto me permito informarle a usted que el Protocolo de Investigación "LA EXPRESIÓN DE EIF3F Y LAS ISOFORMAS STAT3 β Y STAT3 δ SE ASOCIAN CON EL FACTOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA". Ha sido aceptado para llevarse a cabo en este Hospital, ya que se han cubierto los requisitos correspondientes. Por lo cual se le autoriza revisar expedientes y estadísticas de este Hospital.

sin más por el momento reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
COORDINADOR DE INVESTIGACION

DR. JOSÉ MANUEL BENESTO MURILLO

"El contenido del presente documento es responsabilidad directa del titular del Área Administrativa que lo genera, en su caso a sus subordinados"

#MichoacánSeEscucha



SECRETARÍA DE SALUD DE MICHOACÁN

Dependencia: HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"

Sub-dependencia: COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN E INVEST.

Clase: No. de oficio: 5009/0221
Expediente:
Asunto:

APROBACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Atapameo, Michoacán, 14 de mayo del 2021.

C. DRA. CORINTIA ALEJANDRA BAUTISTA VERDUZCO
INVESTIGADORA PRINCIPAL
PRESENTE.

Por este conducto le informamos, que el Comité de Ética en Investigación con número de Registro Conbiótica-16-CEI-004-2016/2112 con fecha de expedición diciembre 13 del 2019 y el Comité de Investigación con número de Registro Conbiótica-17-CI-16053153 con fecha de expedición 11 de noviembre del 2017 del Hospital General "Dr. Miguel Silva", revisaron y **APROBARON** su proyecto de investigación número 559/01/21 titulado:

"LA EXPRESIÓN DE EIF3F Y LAS ISOFORMAS STAT3 β Y STAT3 δ SE ASOCIAN CON EL FACTOR PRONÓSTICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA"

No omitimos mencionarle que deberá presentar a estos comités los resultados parciales y finales, así como cualquier enmienda que se pretenda realizar en el transcurso de la investigación de acuerdo a la norma oficial mexicana que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos y a la Guía Nacional Para la Integración y funcionamiento de los comités de Ética en Investigación.

sin más por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DRA. CLAUDIA AGUSTINA RAMOS OLMO
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"

DR. JOSÉ FRANCISCO LÓPEZ BELTRÁN
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA"

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
C.E.P. de Investigación - Sub-dependencia de Enseñanza e Investigación - HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA" SECRETARÍA DE SALUD DE MICHOACÁN

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN
PRESIDENTE "DR. ANGEL SILVA" SECRETARÍA DE SALUD DE MICHOACÁN

Michoacán #EstadTt

"El contenido del presente documento es responsabilidad directa del titular del Área Administrativa"