



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍAS Y DOCTORADOS EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS DE PTPN22, ZFAT Y MY09B EN
PACIENTES PEDIÁTRICAS CON SÍNDROME DE TURNER QUE ACUDEN
AL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO DR. EDUARDO LICEAGA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
ERÉNDIRA VILLANUEVA ORTEGA

TUTOR:
DRA. GLORIA EUGENIA QUEIPO GARCÍA
PROGRAMA DE MAESTRÍAS Y DOCTORADOS EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO DR EDUARDO LICEAGA

MÉXICO, D.F. ABRIL DE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE AUTORIZACIÓN

DIRECTORA DE PROTOCOLO

A handwritten signature in cursive script, reading "Gloria E. Queipo G", is written over a horizontal line.

Dra. Gloria Eugenia Queipo García
Tutora de maestría y doctorado Universidad Nacional Autónoma de México
Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga

INDICE

Resumen estructurado	4
Antecedentes	6
Planteamiento de problema	11
Pregunta de investigación	11
Justificación	11
Hipótesis	11
Objetivos	11
Metodología	12
Aspectos éticos y de bioseguridad	14
Resultados	16
Discusión	20
Conclusiones	22
Anexos	23
Referencias	30

RESUMEN ESTRUCTURADO

Planteamiento del problema

El síndrome de Turner es una de las cromosomopatías más frecuentes. Este síndrome se caracteriza entre otras cosas por la presencia de múltiples comorbilidades, dentro de estas, las enfermedades autoinmunes representan hasta un 55%, disminuyendo la calidad y expectativa de vida de estas pacientes, hasta la fecha aún no ha sido identificado un factor predictor de las mismas. Sabiendo que este tipo de patologías inicia su presentación a partir de la segunda década de la vida e incrementa progresivamente con la edad, y considerando que el seguimiento durante la edad adulta es inadecuado o nulo se requiere de estrategias que nos ayuden a mejorar el diagnóstico de ciertas comorbilidades, mejorar la visión pronóstica y el apego a seguimiento.

Pregunta de investigación:

¿Será mayor la frecuencia de variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes: PTPN22, ZFAT y MYO9B en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México comparado con población general?

Objetivo general:

- Determinar si las variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes: PTPN22, ZFAT y MYO9B son más frecuentes en las pacientes pediátricas con síndrome de Turner que en la población general.

Objetivo secundario:

- Identificar si existe una mayor prevalencia de variantes polimórficas de riesgo entre las distintas variantes cromosómicas de pacientes con síndrome de Turner.

Hipótesis

Las pacientes con síndrome de Turner presentarán una frecuencia al menos 2.5 veces mayor de variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes PTPN22, ZFAT y MYO9B que la población general.

Metodología

Estudio transversal comparativo

Análisis de resultados

X² para comparación de alelos y genotipos en ambos grupos

Razón de momios para evaluar fuerza de asociación

Resultados

Se reclutó a un total de 73 pacientes para el grupo de síndrome de Turner y 109 pacientes femeninos control menores a 18 años de edad, dentro de los cuales no hay diferencia en el promedio por edad ($p= 0.958$), siendo de 11.7 ± 4.2 para el grupo de pacientes con síndrome de Turner y de 12.3 ± 3.4 para las pacientes en el grupo de sanos. Para el polimorfismo de PTPN22 en la población con síndrome de Turner se encontró una frecuencia genotípica de 95.5% GG, 3% AG y 0% AA, sin diferencia al grupo control, $p= 0.23$, OR 0.395 e IC 95% 0.103 – 1.517. Para MYO9B, la frecuencia de genotipo de síndrome de Turner: 0% CC, 90.4% CT y 9.6% TT, altamente significativa $p=0.0001$, OR 20.625 e IC 95%= 8.519 – 49.937. En el caso de ZFAT la frecuencia alélica para síndrome de Turner fue T= 47.26% y A= 52.73%, $p 0.298$ y OR 1.25 [IC 95% 0.820 – 1.907].

Conclusiones

El polimorfismo de riesgo C1858T del gen PTPN22, así como la variante alélica T del polimorfismo de riesgo de ZFAT no se encontraron en mayor frecuencia en la población de estudio. En el caso de la variante genotípica de riesgo CT del polimorfismo rs2305767 para MYO9B se encontró fuertemente asociado en la población de estudio con síndrome de Turner con respecto a nuestra población sana, lo cual podría sugerir que pudiera ser un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedad celiaca o enfermedad inflamatoria en estas pacientes.

Palabras clave: Tiroiditis autoinmune, polimorfismos de autoinmunidad, enfermedad celiaca, síndrome de Turner

DESARROLLO DEL PROYECTO

ANTECEDENTES

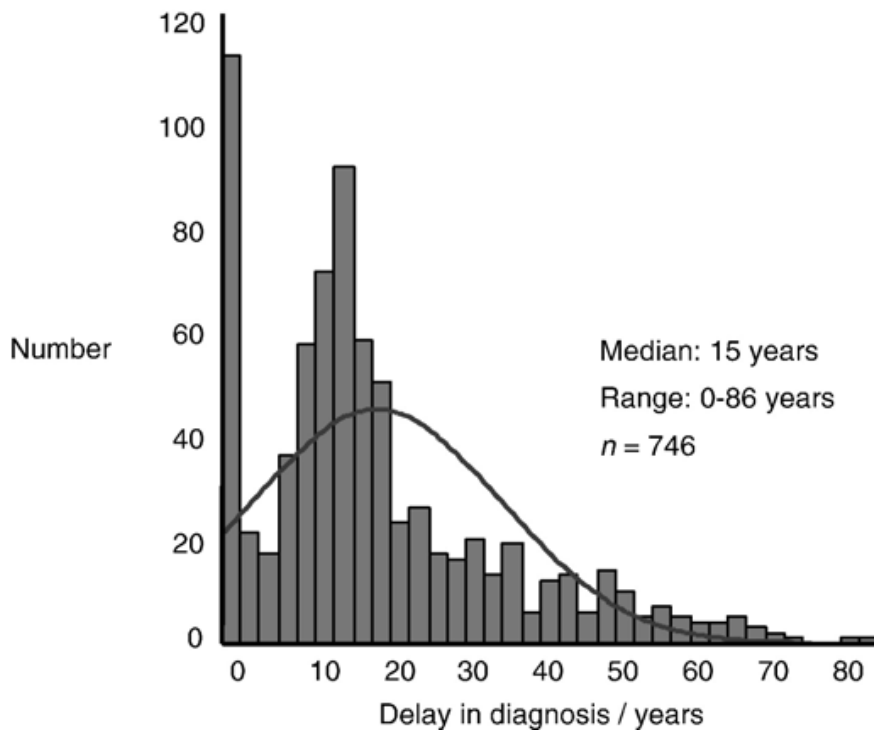
El síndrome de Turner es una de las enfermedades genéticas más frecuentes en mujeres.(2) Afecta a una de cada 1500 a 2500 recién nacidas vivas,(3) debido a una ausencia parcial o completa del cromosoma X en su línea germinal y somática. Aproximadamente un 50% de las pacientes afectadas tienen un cariotipo 45,X, un 20 a 30% corresponden a mosaicismos y el resto presentan alguna anomalía estructural del cromosoma X.(4)

La enfermedad se caracteriza por talla baja, anomalías esqueléticas, falta de desarrollo sexual en forma parcial o completa e infertilidad; así como anomalías cardíacas, endocrinas y renales, y en forma muy importante presentan un riesgo elevado para el desarrollo de enfermedades autoinmunes.(4)

El diagnóstico de síndrome de Turner requiere la realización de un cariotipo estándar a 30 metafases. En un 50% de ellas el cariotipo corresponde a 45,X, un 20 – 30% pertenece a un mosaicismo y el restante se atribuye a anomalías estructurales. El fenotipo de estas pacientes es extraordinariamente amplio y no hay correspondencia genotipo - fenotipo.(4)

En general la epidemiología del síndrome de Turner es ampliamente desconocida. La prevalencia del síndrome de Turner está basada en estudios citogenéticos realizados hace más de 20 años, en los cuales se estimaba una prevalencia real al nacimiento de 50 pacientes con síndrome de Turner por cada 100,000 mujeres. Para 1996 en población danesa se hablaba de un retraso diagnóstico e incluso ausencia de diagnóstico hasta en 18 pacientes hipotéticas de cada 100,000 nacidas vivas. En una reevaluación de la prevalencia realizada en 2006 en la misma población alcanzó a ser de 40 pacientes diagnosticadas como síndrome de Turner por cada 100,000 nacidas vivas.(1)

En un estudio danés reciente se identificó que el promedio de edad al diagnóstico de síndrome de Turner es a los 13, 14 y 19 años de acuerdo a las fórmulas cromosómicas: 45,X, isocromosoma Xq y otras formas respectivamente.(5) Llama la atención la diferencia en la edad del diagnóstico de las primeras dos fórmulas cromosómicas respecto a otras formas, que pudiera explicarse por la presencia de datos poco típicos del síndrome o de aparición tardía en este último grupo; aunque también se ha encontrado que la talla final está igualmente reducida que en las pacientes con monosomía.(6)



Retraso en el diagnóstico de síndrome de Turner. El eje de las X indica la edad cronológica al diagnóstico, cada barra equivale a 2.5 años. Datos del Registro central danés de citogenética de 1910 al 2000.(1)

En cuanto a la morbilidad asociada a síndrome de Turner, ésta se encuentra aumentada en forma importante respecto al resto de la población. El riesgo relativo de un síndrome endocrino es de 4.9, dentro de los cuales corresponde a: hipotiroidismo en 5.8, tiroiditis 16.6, diabetes tipo 1 11.6, y diabetes tipo 2 de 4.4. En cuanto a cardiopatía isquémica y aterosclerosis corresponde el 2.1, hipertensión 2.9, enfermedad vascular cerebral 2.7. El riesgo de cirrosis hepática es de 5.7, osteoporosis 10.1, y fracturas 2.2.(2)

La mortalidad también se encuentra incrementada. En una cohorte británica, el riesgo relativo de muerte en pacientes con Turner, ascendió a 4.2 secundario a enfermedades neurológicas, digestivas, cardiovascular, respiratoria y genitourinaria.(2) En otro estudio que evaluó también mortalidad en este grupo de pacientes el riesgo de mortalidad fue de 2.86; y sus causas específicas fueron incremento en enfermedades coronarias, malformaciones congénitas, enfermedades endocrinas, metabólicas y nutricionales.(5)

Se ha documentado apoptosis masiva de los oocitos en la semana 15 a la 20 en fetos con síndrome de Turner (50 – 70% de células comparado con 3 – 7% en oocitos de fetos normales).

La disfunción tiroidea es una de las comorbilidades más frecuentemente asociadas a síndrome de Turner, y hasta en un 30% desarrollan hipotiroidismo.

Los estudios clínicos han permitido observar que la presencia de anticuerpos antitiroideos y el hipotiroidismo en general no se encuentra frecuentemente en pacientes menores de 8 años de edad,(7) y aunque no se ha podido asociar como tal, si se ha observado que existe una mayor frecuencia de enfermedades autoinmunes entre las pacientes con isocromosoma X.(8)

La enfermedad tiroidea autoinmune en general incrementa su incidencia a partir de la segunda década de la vida, con una prevalencia mayor en la tercera década de la vida.(9)

En general, las enfermedades autoinmunes son más frecuentes en mujeres; aunque la causa de este riesgo mayor no se conoce. Hasta el momento se ha propuesto como posibles etiologías factores hormonales, reproductivos, microquimerismo fetal, factores ambientales, alteración en el patrón de inactivación del cromosoma X y alteraciones de dosaje del cromosoma X.(10)

El alto riesgo de enfermedades autoinmunes en pacientes con síndrome de Turner se ha atribuido en gran parte a la haploinsuficiencia del cromosoma X. (10) Al igual que parece expresarse en mayor medida ante la presencia de citocinas proinflamatorias como interleucina 6, interleucina 8 y factor de necrosis tumoral alfa.(10)

Las enfermedades autoinmunes de mayor frecuencia en este grupo de pacientes son enfermedades tiroideas autoinmunes(11), aunque también se reportan en cifras de gran importancia las enfermedades inflamatorias intestinales(12), enfermedad celiaca(13), artritis reumatoide(14), diabetes mellitus(15), enfermedad de Addison, psoriasis, vitiligo y alopecia(16;17).

En un estudio realizado en población danesa, empleando el registro nacional de pacientes daneses y el sistema de registro civil danés, se estimó un riesgo relativo de 46 enfermedades autoinmunes diferentes en una cohorte de 798 mujeres danesas con síndrome de Turner en seguimiento durante 12,461 años/persona entre 1980 y 2004. La incidencia estandarizada de la primera hospitalización por enfermedades autoinmunes fue usada como medición de riesgo relativo. El riesgo para enfermedades autoinmunes entre mujeres con síndrome de Turner fue el doble respecto a mujeres de población danesa (SIR 2.1).

La razón por la cual las pacientes con síndrome de Turner tienen una mayor predisposición a enfermedades autoinmunes sigue siendo poco clara, al igual que continua siendo un enigma el por qué existe una mayor prevalencia de autoinmunidad en mujeres que en hombres. Un posible factor implicado se ha relacionado con la inactivación del cromosoma X, lo cual resulta en el mosaicismo de tejidos, expresándose un 50% del cromosoma X de origen materno y paterno. Su posible inactivación durante el período de formación tímica podría dar lugar al reconocimiento predominante de solo un set de autoantígenos del cromosoma X.(18)

Se cuenta entre las teorías que las familias que tienen una alta prevalencia de padecimientos autoinmunes pueden tener predisposición a eventos de no disyunción. Esta hipótesis está basada en la observación de que hay un incremento de enfermedades autoinmunes en otras patologías cromosómicas por no disyunción como síndrome de Down y síndrome de Klinefelter; cuando se ha estudiado a la familia de pacientes con síndrome de Turner y de síndrome de Down en busca de enfermedades autoinmunes, éstas se han encontrado en mayor frecuencia, sugiriendo que la gametogénesis anormal puede ser una consecuencia de la respuesta autoinmune alterada.(19;20)

En suma a la asociación bien establecida que tiene el sistema de antígeno leucocitario humano (HLA) y el antígeno 4 de linfocito T citotóxico, se han identificado distintos genes, entre ellos el PTPN22(21).

Gen	Polimorfismo	Expresión	Enfermedades asociadas
PTPN22 1p13.3 – 13.1	C1858T rs2476601	↓Fosfatasa linfoide específica → activación células T	DM1, LES, AR, enfermedad de Graves y tiroiditis de Hashimoto
ZFAT 8q24.22	Ex9b-SNP10 rs16905194	Regulador transcripcional crítico y antiapoptótico en linfocitos	Enfermedad de Graves y tiroiditis de Hashimoto
MYO9B 19 (intrón 28)	rs2305767	↓actividad GTPasa →regula Rho GTPasas →Regula miosina del citoesqueleto de actina	Enfermedad celiaca y enfermedad inflamatoria intestinal

El PTPN22 está localizado en el cromosoma 1 (1p13.3 – 13.1), y codifica una fosfatasa linfoide específica conocida como LYP, el cual es un importante regulador a la baja de la activación de células T, recientemente una variación alélica del PTPN22 (C1858T) se ha asociado con el desarrollo de autoinmunidad.

En un estudio realizado en población brasileña con síndrome de Turner vs grupo control, las frecuencias del genotipo del polimorfismo C1858T del PTPN22 con Turner fue CC 67.6%, CT 28.2% y TT 4.2% (P= 0.0043), mientras que en grupo control correspondieron a CC 82.8%, CT 16.1% y TT 1.1%. De acuerdo a los alelos, el C estuvo presente en 81.7% de pacientes con síndrome de Turner y 90.8% en controles, mientras que el T correspondió a 18.3 y 9.2% respectivamente (P= 0.001, OR= 2.22, 95% IC 1.39 – 3.54). La sustitución de un solo nucleótido en la posición 1858 causa una sustitución de arginina (CGG) por triptófano (TGG) en el codón 620. En este estudio las frecuencias del genotipo del polimorfismo C1858T del PTPN22 fueron estadísticamente diferentes en pacientes brasileñas con síndrome de Turner comparada con controles (P= 0.0043), lo cual sugiere que el riesgo de enfermedades autoinmunes en pacientes con síndrome de Turner pueda estar relacionada a dicho polimorfismo.

La asociación del polimorfismo C1858T del PTPN22 con múltiples enfermedades autoinmunes sugiere que la función alterada de estas proteínas afecta vías comunes en diferentes enfermedades autoinmunes.

El gen ZFAT se expresa en linfocitos B y T, ha demostrado ser un regulador transcripcional crítico y una molécula antiapoptótica en linfocitos. El polimorfismo Ex9b-SNP10 fue asociado con una menor expresión de transcripción antisentido de ZFAT (SAS-ZFAT) que es el alelo A. SAS-ZFAT suprime la expresión de la región 3' no traducida de ZFAT truncado (TR-ZFAT), la cual se encuentra expresado de forma muy importante en células B y monocitos. El alelo G de Ex9b-SNP10 también se ha asociado con el desarrollo de enfermedad tiroidea autoinmune entre la población japonesa.(22)

MYOB9, el gen de la miosina recientemente descrito en el cromosoma 19 (intrón 28), codifica para una molécula de miosina poco convencional que ayuda en la remodelación de actina en los enterocitos del epitelio intestinal. Es un gen motor con un único dominio de actina que es capaz de unirse a los filamentos de actina y por lo tanto es capaz de desplazarse a lo largo de la célula. Activa el dominio de GTPasa (Rho-GAP), el cual regula la actividad de las Rho GTPasas. Una función relevante de esta familia es regular las uniones estrechas y mantener la selectividad de las vías paracelulares del enterocito. Una enzima mucho más activa (RhoA) regula las uniones estrechas, incrementando la permeabilidad paracelular. RhoA parece ser un participante muy importante en la protección de la barrera intestinal. Al modificar la barrera intestinal, los péptidos de gluten tendrían acceso al área subepitelial donde se unen al HLA DQ2/DQ8 e iniciar la respuesta inflamatoria.(23)

En contraste con el seguimiento médico intensivo que se ofrece a la paciente con síndrome de Turner en la edad pediátrica, el seguimiento durante la fase de transición es inadecuado. Como se ha comentado, el síndrome de Turner está asociado con una baja expectativa de vida, por lo que el seguimiento a largo plazo está recomendado, sin embargo, de acuerdo a un estudio realizado en Francia a una cohorte 568 mujeres en una edad de 22.6 ± 2.6 años, en promedio 6 años después de terminar el tratamiento con hormona de crecimiento (cohorte StaTur), se pudo determinar que en su mayoría, las pacientes continuaban vigilancia médica con ginecólogos o médicos generales. Sólo el 3.5% de la pacientes habían tenido un protocolo de evaluación de comorbilidades adecuado en un plazo de 4 años. En el análisis multivariado se identificó que el tipo de médico que consultaba a la paciente estaba asociado a un adecuado seguimiento, dentro del cual se encontró que el médico endocrinólogo fue quien dio el mejor seguimiento a las pacientes con síndrome de Turner. Otras variables asociadas a un adecuado seguimiento fue el nivel socioeconómico paterno, nivel educativo, el número de comorbilidades asociadas al síndrome de Turner, el tipo de centro médico que dio seguimiento durante la infancia a las pacientes con síndrome de Turner.(24)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El síndrome de Turner es dentro de las cromosopatías, una de las más frecuentes, su prevalencia real tanto a nivel internacional y aún más en nuestro país es desconocida. Sus comorbilidades, dentro de las cuales las enfermedades autoinmunes representan hasta un 55%, disminuyen la calidad y expectativa de vida de estas pacientes, y a la fecha aún no ha sido identificado un factor predictor de las mismas. Sabiendo que este tipo de patologías inicia su presentación a partir de la segunda década de la vida e incrementa progresivamente con la edad, y considerando que el seguimiento durante la edad adulta es inadecuado o nulo, se requiere de estrategias que nos ayuden a mejorar el diagnóstico oportuno de comorbilidades y con ello el pronóstico y el apego a seguimiento.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Será mayor la frecuencia de variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes: PTPN22, ZFAT y MYO9B en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México comparado con población general?

JUSTIFICACIÓN

El llevar a cabo este estudio y conocer la frecuencia de polimorfismos asociados a patología autoinmune en las pacientes pediátricas mexicanas con síndrome de Turner, nos ayudaría a identificar si existe una mayor presencia de estos polimorfismos, que al encontrarse asociada pudiera explicar en parte el mayor riesgo que estas pacientes tienen para desarrollar determinadas patologías autoinmunes, y si es de esta manera, si existen subgrupos de pacientes con síndrome de Turner en los cuales la frecuencia sea aún mayor, y de esta forma poder plantear aproximaciones pronósticas e incluso futuras propuestas diagnósticas, que a su vez puedan ayudar a la sensibilización de pacientes y médicos acerca de la búsqueda intencionada de dicha patología, mejorando la vigilancia integral y protocolizada que deben mantener estas pacientes a lo largo de su vida, a fin de contribuir a una adecuada calidad de la misma.

HIPÓTESIS

Las pacientes con síndrome de Turner presentarán una frecuencia al menos 2.5 veces mayor de variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes PTPN22, ZFAT y MYO9B que la población general.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar si las variantes polimórficas de riesgo para enfermedades autoinmunes en los genes: PTPN22, ZFAT y MYO9B son más frecuentes en las pacientes pediátricas con síndrome de Turner que en la población general.

Objetivos secundarios:

Identificar si existe una mayor prevalencia de variantes polimórficas de riesgo entre las distintas variantes cromosómicas de pacientes con síndrome de Turner.

METODOLOGÍA

A) TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal comparativo

POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

Comparación de dos proporciones independientes

$$\frac{[Za(\sqrt{2P(1-P)} + Zb(\sqrt{P1(1-P1)} + P2(1-P2))]}{(P1 - P2)^2}$$

n=38.5

n= 47

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Grupo 1
 - Niñas con síndrome de Turner cuyo diagnóstico haya sido establecido y corroborado por citogenética que acuden a consulta de genética del Hospital General de México
 - Edad hasta 18 años
- Grupo 2
 - Pacientes femeninas escolares y adolescentes previamente sanas que acuden a consulta externa de pediatría en el Hospital General de México
 - Se realizará cariotipo y se incluirán únicamente las pacientes en las cuales se encuentre 46,XX

- Se establecerá que dichas pacientes pertenezcan a la tercera generación en una misma área geográfica (Distrito Federal).

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Grupo 2
 - Pacientes que tengan relación de parentesco con pacientes con síndrome de Turner
 - Pacientes con enfermedad autoinmune conocida

DEFINICIÓN DE VARIABLES A EVALUAR Y FORMA DE MEDIRLAS (TIPO)

Cariotipo.-

Patrón cromosómico de una especie expresado a través de un código, establecido por convenio, que describe las características de sus cromosomas. Se obtendrá muestra de sangre periférica en recipiente con EDTA y se extraerá DNA para su evaluación citogenética, con bandas GTG en linfocitos de sangre periférica en al menos 25 metafases. Variable nominal

Polimorfismo PTPN22.-

El PTPN22 está localizado en el cromosoma 1 (1p13.3 – 13.1), y codifica una fosfatasa linfoide específica conocida como LYP, el cual es un importante regulador a la baja de la activación de células T. Se ha asociado su variación C1858T con autoinmunidad.

Genotipificación con sonda Taqman rs2476601 mediante PCR en tiempo real de StepOne™ de Applied Biosystems. El genotipo AG se denominará la variante de riesgo de acuerdo a estudios previos. Variable nominal.

Polimorfismo MYOB9.-

El gen de la miosina codifica para una molécula de miosina que ayuda en la remodelación de actina en los enterocitos del epitelio intestinal. Es un gen motor con un único dominio de actina que es capaz de unirse a los filamentos de actina y por lo tanto es capaz de desplazarse a lo largo de la célula. Genotipificación con sonda Taqman rs2305767 mediante PCR en tiempo real de StepOne™ de Applied Biosystems. El genotipo CT se denominará la variante de riesgo de acuerdo a estudios previos. Variable nominal

Polimorfismo ZFAT.-

El gen ZFAT se expresa en linfocitos B y T y ha demostrado ser un regulador transcripcional crítico y como una molécula antiapoptótica en linfocitos.

Genotipificación con sonda Taqman rs16905194 mediante PCR en tiempo real de StepOne™ de Applied Biosystems. La variante alélica T se denominará la variante de riesgo de acuerdo a estudios previos. Variable nominal

PROCEDIMIENTO

Se invitó a las pacientes pediátricas con síndrome de Turner a participar en el estudio, se tomó muestra de sangre venosa de vena mediana; a partir de la cual se aisló DNA, con el cual se evaluaron los polimorfismos de PTPN22, ZFAT y MYO9B mediante sondas en PRC de tiempo real.

Se realizó el mismo procedimiento a pacientes femeninas en etapa escolar y adolescentes que acuden a la consulta externa de pediatría del Hospital General de México.

Para ambos grupos se llevó a cabo la genotipificación del rs2476601 para identificar el polimorfismo C1858T de riesgo del gen PTPN22; el rs16905194 para el polimorfismo del gen ZFAT; y del rs2305767, polimorfismo del gen MYO9B, para lo cual se empleó PCR en tiempo real con sondas TaqMan, empleando el StepOne™ de Applied Biosystems. Se utilizó las sondas Taqman previamente disponibles también de Applied Biosystems. En los ensayos se utilizó el Master Mix de Applied Biosystems, con 10ng de DNA por reacción. Las condiciones de la PCR se llevaron de acuerdo a lo recomendado por el fabricante: Desnaturalización inicial a 95°C (10 minutos), seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C (6 segundos), y al final la fase de alineación y extensión a 60°C (30 segundos).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó estadística descriptiva para determinar frecuencias y medidas de tendencia central. Mediante X² se comparó las variaciones alélicas y de genotipo en grupo de pacientes con síndrome de Turner y en el grupo de población general. Evaluación del tamaño del efecto mediante razón de momios. Se utilizó el programa estadístico SPSS v. 16.

ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

Estudio aceptado por el comité de ética e investigación del Hospital General de México Eduardo Liceaga con clave de registro DI/13/311/05/065 .

Se solicitó toma de muestra venosa mediante punción a pacientes con síndrome de Turner en edad pediátrica, que previamente hayan firmado consentimiento y asentimiento para participar en este estudio. La razón de utilizar pacientes en edad pediátrica es que se trata de una población cautiva y homogénea, ya que en la edad adulta hasta un 95% de ellas pierde seguimiento y las adultas bajo seguimiento en general son pacientes ya con comorbilidades diagnosticadas, lo cual representaría un sesgo de selección al intentar conocer la prevalencia de los polimorfismos antes citados, que suponemos serán mucho más prevalentes en las pacientes con síndrome de Turner

con comorbilidad autoinmune asociada. Los riesgos son mínimos, asociados a complicaciones por la flebotomía.

RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS

El conocimiento adquirido a partir de este estudio tiene la finalidad de generar nuevo conocimiento a fin de mejorar el protocolo de seguimiento integral de las pacientes con síndrome de Turner, principalmente en la identificación oportuna de enfermedades autoinmunes. Dentro de las expectativas del estudio se pretende presentar resultados en revistas de divulgación científica, congresos y tesis de maestría en ciencias.

RECURSOS DISPONIBLES

Recursos humanos: Médico genetista, químico fármaco biólogo y médico endocrinólogo pediatra.

Equipo de PCR en tiempo real

Apoyo económico CONACYT

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 73 pacientes con síndrome de Turner y 109 pacientes femeninos sanos como grupo de población general, ambos grupos en edad pediátrica.

En la Tabla 1 se puede observar la distribución por edad en ambos grupos de estudio sin que podamos observar diferencia estadística alguna entre ambos grupos, lo que nos indica que los grupos son homogéneos para el estudio.

Tabla 1 Características generales en pacientes con síndrome de Turner y población general

	SINDROME DE TURNER	POBLACIÓN GENERAL	p
N	73	109	
Edad (años)	11.7 ± 4.2	12.3 ± 3.4	0.958
Lactantes	9 (12%)	13 (11.92)	
Preescolares	2 (3%)	4 (3.6%)	
Escolares	24 (33%)	35 (32.11%)	
Adolescentes	38 (52%)	57 (52.29%)	
CARIOTIPO			
46,XX		109 (100%)	
45,X0	64 (87.67%)		
46,Xmar/45,X	4 (5.48%)		
45,X/46XY	1 (1.37%)		
46X(add)X/45X	1 (1.37%)		
45,X/46Xr(X)	1 (1.37%)		
45,X/46,XX	2 (2.74%)		

Se determinó de igual forma la distribución de los distintos tipos de cariotipo entre las pacientes con síndrome de Turner y su frecuencia, encontrando predominancia en 45,X0 hasta en un 87.67% del grupo, descrito en la Tabla 1.

Al determinar el polimorfismo C1858T del gen PTPN22, se encontró la frecuencia de genotipo para síndrome de Turner: GG 95.5% (70/73), AG 3% (3/73), AA 0% (0/73), en el caso de la población general en el mismo orden se reportó 88.9% (97/109), 10% (11/109), 0.9% (1/109), Tabla 2.

El análisis estadístico del genotipo de riesgo vs el que no lo es, no logró demostrar diferencia estadística. Dado que en el caso del total de pacientes con síndrome de Turner y genotipo AG el valor es menor al mínimo requerido para realizar X2, se realizó prueba exacta de Fisher con el que se obtuvo un valor de $p = 0.230$, descrito en Tabla 3.

Tabla 2. Frecuencia de genotipo de polimorfismo C1858T del gen PTPN22

	GENOTIPO PTPN22			VARIACIÓN ALÉLICA		TOTAL
	GG n(%)	AG n(%)	AA n(%)	G n(%)	A n(%)	
SX TURNER	70 (95.9)	3 (4.1)	0 (0)	143 (100)	0 (0)	73
POBLACIÓN GENERAL	97 (88.9)	11 (10)	1 (0.9)	205 (94.03)	13 (0.59)	109

Tabla 3. Evaluación de genotipo de riesgo AG para C1859T de PTPN22

	AG n(%)	AA + GG n(%)	TOTAL	χ^2	p	OR IC [95%]
SX TURNER	3 (21.42)	70 (41.66)	73	1.942 (1.192) ^a	0.275 0.230 ^b	0.395 [0.103 – 1.517]
POBLACIÓN GENERAL	11 (78.57)	98 (58.33)	109			
	14	168	182			

a – Corrección de Yates ya que χ^2 , requiere un valor mínimo de 5

b – Test exacto de Fisher

En los resultados obtenidos del análisis del polimorfismo del gen MYO9B, se observó una frecuencia del genotipo CC, CT y TT para Síndrome de Turner de 0% (0/73), 90.4% (66/73) y TT 9.6% (7/73), para el grupo de población general en el mismo orden 1.8% (2/109), 31.19% (34/109) y 66.97% (73/109), (Tabla 4). Estos resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos al evaluar el genotipo de riesgo CT con una p 0.0001, OR= 20.625 [IC 95%= 8.519 – 49.937]. (Tabla 5). En la ilustración 1 se muestra gráficamente la diferencia entre ambos grupos para el genotipo de riesgo en rojo.

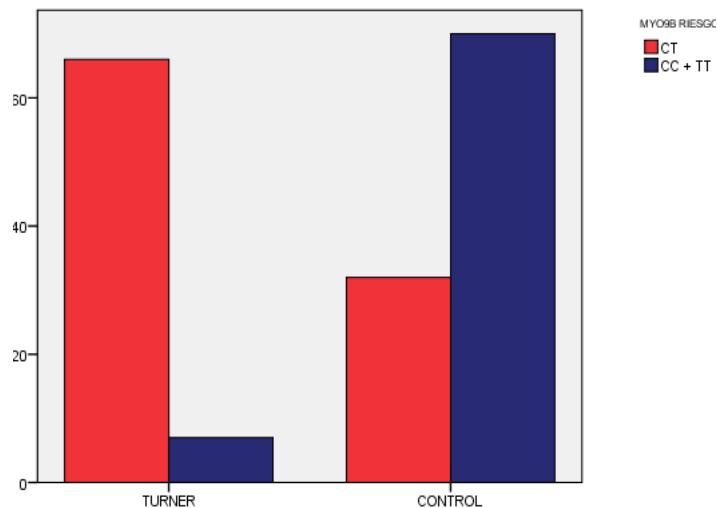
Tabla 4. Distribución de genotipo del rs2305767 del gen MYO9B

	GENOTIPO MYO9B			VARIACIÓN ALÉLICA		TOTAL
	CC n(%)	CT n(%)	TT n(%)	C n(%)	T n(%)	
SX TURNER	0 (0)	66 (90.4)	7 (9.6)	66 (45.2)	80 (54.79)	73
POBLACIÓN GENERAL	2 (1.8)	34 (31.19)	73 (66.97)	38 (17.43)	180 (82.56)	109

Tabla 5. Evaluación del genotipo de riesgo CT del rs2305767 para el gen MYO9B

	CT n(%)	CC + TT n(%)	TOTAL	X ²	p	OR IC [95%]
SX TURNER	66 (66)	7 (8.53)	73	60.189	0.0001	20.625 [8.519 – 49.937]
POBLACIÓN GENERAL	34 (34)	75 (91.46)	109			
	100	82	182			

Ilustración 1. Genotipo de riesgo CT del rs2305767 para el gen MYO9B en pacientes con síndrome de Turner y sujetos de población general



La determinación del polimorfismo del rs16905194 para el gen de ZFAT, no demostró diferencia entre ambos grupos tanto para frecuencia de genotipos o frecuencia alélica. El genotipo AA, AT y TT en el grupo con síndrome de Turner las frecuencias respectivamente fueron 35.77% (17/73), 58.9% (43/109) y 17.8% (13/73); mientras que para el grupo control y en el mismo orden: 35.77% (39/109), 44.95% (49/109) y 19.26% (21/109), en cuanto a la frecuencia alélica para T y A para síndrome de Turner fue de 47.26% y 52.73%, mientras para el grupo control fue de 41.74% y 58.25 respectivamente. Descripción en Tabla 6, p 0.298 y OR 1.25 [IC 95% 0.820 – 1.907].

Tabla 6. Distribución de genotipo y frecuencia alélica del polimorfismo del rs16905194 del gen ZFAT

	AA n(%)	AT n(%)	TT n(%)	TOTAL	T n(%)	A n(%)	χ^2	p	OR IC [95%]
SX TURNER	17 (35.77)	43 (58.9)	13 (17.8)	73	69(47.26)	77 (52.73)	1.08	0.298	1.2506 [0.820 – 1.907]
POBLACIÓN GENERAL	39 (35.77)	49 (44.95)	21 (19.26)	109	91(41.74)	127 (58.25)			

DISCUSIÓN

Como ya se expuso antes, la importancia del síndrome de Turner es que se trata de una de las enfermedades genéticas más frecuentes en mujeres.(2) Afectando a una de cada 1500 a 2500 recién nacidas vivas,(3) debido a una ausencia parcial o completa del cromosoma X en su línea germinal y somática. En cuanto a la morbilidad asociada a síndrome de Turner, se encuentra aumentada en forma importante. El riesgo relativo de hipotiroidismo corresponde a 5.8, tiroiditis 16.6, diabetes tipo 1 11.6, y diabetes tipo 2 de 4.4. Cardiopatía isquémica y aterosclerosis 2.1, hipertensión 2.9, enfermedad vascular cerebral 2.7. El riesgo de cirrosis hepática es de 5.7, osteoporosis 10.1, y fracturas 2.2.

Es bien conocido que las enfermedades autoinmunes son más frecuentes en mujeres; aunque la causa de este riesgo mayor no se conoce. Y esta frecuencia en síndrome de Turner se vuelve aún más importante hasta en un 50% de ellas; hasta el momento se ha propuesto como posibles etiologías factores hormonales, reproductivos, microquimerismo fetal, factores ambientales, alteración en el patrón de inactivación del cromosoma X y alteraciones de dosaje del cromosoma X.(10)

Las enfermedades autoinmunes de mayor frecuencia en este grupo de paciente son enfermedades tiroideas autoinmunes(11), aunque también se reportan en cifras de gran importancia las enfermedades inflamatorias intestinales(12), enfermedad celiaca(13), artritis reumatoide(14), diabetes mellitus(15), enfermedad de Addison, psoriasis, vitiligo y alopecia(16;17).

Pese a que en la actualidad existen consensos sobre el protocolo de atención médica que debe recibir la paciente con síndrome de Turner a lo largo de toda su vida (25;26), en la realidad esto no se lleva a cabo, más aún porque pareciera no existir la consciencia de que consiste en un seguimiento a largo plazo y de acuerdo a las diferentes etapas de la vida de la paciente, ya que es como se conoce hasta el momento, las distintas patologías adquiridas se irán presentando a lo largo de la vida, y en la mayoría de los casos no se puede determinar premeditadamente el tipo ni el tiempo en que se presentarán ciertas comorbilidades en pacientes determinadas. Las pacientes con síndrome de Turner que además de ser diagnosticadas en forma tardía durante la infancia, es justo en la edad pediátrica que son una población cautiva; cuando las pacientes dejan la consulta de pediatría endocrinológica se ha mostrado que únicamente 5% de estas continúan el manejo multidisciplinario, estos datos son semejantes a los publicado en poblaciones con características similares a la nuestra. Esto conlleva a falta de apego en el manejo endocrino, a incremento en la presentación de alteraciones metabólicas y autoinmunes que en muchas ocasiones no son diagnosticadas a tiempo y que por ende al tener mayor tiempo de evolución también incrementa la morbilidad y mortalidad asociadas, mermando la calidad de vida de este grupo de pacientes. Con el advenimiento de los estudios de susceptibilidad se puede conocer aquel grupo poblacional que tiene por lo menos 2-3 veces más riesgo de padecer la enfermedad. Uno de los principales problemas en el síndrome de Turner son las alteraciones autoinmunes, de ahí la decisión de estudiar aquellas variantes genéticas asociadas a alteraciones autoinmunes con mayor frecuencias en la mujeres. El planteamiento que se propuso en esta investigación fue el de identificar desde edad pediátrica aquellas pacientes con riesgo incrementado para desarrollar una enfermedad autoinmune en etapas posteriores de la vida, brindar un asesoramiento adecuado para que la paciente no perdiera su seguimiento y manejo multidisciplinario. Se eligieron aquellos

polimorfismos con asociación válida en otras poblaciones. Uno de las variantes elegidas por los resultados que se habían mostrado en la literatura fue el gen PTPN22 que se encuentra localizado en el cromosoma 1 (1p13.3 – 13.1) y que codifica para una fosfatasa linfocítica específica, la cual es un importante regulador a la baja de la activación del receptor de célula T. Recientemente se ha asociado una variación alélica (C1858T), que está asociada con el desarrollo de autoinmunidad (diabetes tipo 1, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, y enfermedad de Graves, entre otras) y que en 2010 se buscó intencionadamente en pacientes con síndrome de Turner de población brasileña, encontrando una asociación estadísticamente significativa con una OR de 2.22 e IC 95% [1.39 – 3.54], sin asociarlo a alguna patología autoinmune determinada. (27;28) Se realizó la búsqueda de dicho polimorfismo entre nuestra población general y la población de pacientes pediátricas con síndrome de Turner, sin que se pudiera demostrar que en nuestra población de estudio este polimorfismo pueda tener alguna asociación con el riesgo de autoinmunidad (OR= 0.395, IC 95% 0.103 – 1.517). (Tabla 5)

Por tratarse la enfermedad tiroidea autoinmune de una de las patologías autoinmunes más prevalentes en la población con síndrome de Turner se eligió estudiar los polimorfismos asociados a esta patología para lo cual evaluamos ZFAT cuyo polimorfismo se ha asociado de forma muy específica con esta patología. El gen ZFAT se expresa en linfocitos B y T, ha demostrado ser un regulador transcripcional crítico y una molécula antiapoptótica en linfocitos. El polimorfismo Ex9b-SNP10 fue asociado con una menor expresión de transcripción antisentido de ZFAT (SAS-ZFAT) que es el alelo A. SAS-ZFAT suprime la expresión de la región 3' no traducida de ZFAT truncado (TR-ZFAT), el cual se encuentra expresado de forma muy importante en células B y monocitos. El alelo G de Ex9b-SNP10 también se ha asociado con el desarrollo de enfermedad tiroidea autoinmune entre la población japonesa.(22)

En el caso de nuestra población tampoco se podría proponer como un gen candidato para ser asociado a la posible presentación de enfermedad tiroidea autoinmune, ya que en nuestro caso la frecuencia alélica para T y A en síndrome de Turner fue de 47.26% y 52.73%, mientras para el grupo control fue de 41.74% y 58.25 respectivamente, sin relevancia estadística, p 0.298 y OR 1.25 [IC 95% 0.820 – 1.907]. El hecho de que nuevamente obtengamos un resultado distinto al encontrado en otras poblaciones, nos habla de que la relación entre genotipo, grupo étnico y medio ambiente cobra una gran importancia en el análisis de poblaciones, y que ello lleva a pensar en la importancia del análisis de genes candidatos en poblaciones independientes que al encontrar una asociación den indicios para posteriormente realizar estudios de meta – análisis que permitan clarificar el impacto clínico que pueda o no tener una variante genética. Dados los resultados hasta el momento en el caso de la búsqueda de tiroiditis autoinmune en la población con síndrome de Turner, el seguimiento deberá seguir siendo el tamizaje con perfil tiroideo y determinación de anticuerpos antitiroideos de manera periódica a fin de determinar oportunamente su presentación.

La segunda patología autoinmune en frecuencia en la población con síndrome de Turner es la enfermedad celiaca, que de acuerdo a la bibliografía se puede observar con una frecuencia de 2 a 8 veces mayor que en la población general. En una población chilena y argentina constituida por pacientes pediátricos con diagnóstico confirmado de enfermedad celiaca se determinó con tres polimorfismos distintos del gen MYO9B que codifica para una molécula de miosina, encontrando en al menos dos de ellos una asociación positiva en los pacientes con la patología diagnosticada. (29)

MYO9B, el gen de la miosina recientemente descrito en el cromosoma 19 (intrón 28), codifica para una molécula de miosina poco convencional que ayuda en la remodelación de actina en los

enterocitos del epitelio intestinal. Es un gen motor con un único dominio de actina que es capaz de unirse a los filamentos de actina y por lo tanto es capaz de desplazarse a lo largo de la célula. Activa el dominio de GTPasa (Rho-GAP), el cual regula la actividad de las Rho GTPasas. Una función relevante de esta familia es regular las uniones estrechas y mantener la selectividad de las vías paracelulares del enterocito. Una enzima mucho más activa (RhoA) regula las uniones estrechas, incrementando la permeabilidad paracelular. RhoA parece ser un participante muy importante en la protección de la barrera intestinal. Al modificar la barrera intestinal, los péptidos de gluten tendrían acceso al área subepitelial donde se unen al HLA DQ2/DQ8 e iniciarán la respuesta inflamatoria.(23) Entre las variantes polimórficas de riesgo que en el estudio cobraron mayor importancia fue el rs2305767, razón por la cual la elegimos para evaluar a nuestra población, en la cual encontramos de acuerdo al análisis estadístico que el genotipo de riesgo CT tenía un OR de 20.625 [8.519 – 49.937], altamente significativo (p 0.0001). Estos resultados sugieren una asociación muy importante de este polimorfismo en la población con síndrome de Turner y podría llegar a explicarse como un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedad celiaca o enfermedad inflamatoria intestinal con el seguimiento en un estudio de cohorte en esta población y la determinación de anticuerpos específicos para enfermedad celiaca. En caso de resultar relevante podría proponerse a futuro como una variante alélica a determinar para evaluar susceptibilidad de manera temprana en el seguimiento de las pacientes con síndrome de Turner.

CONCLUSIONES

- El polimorfismo de riesgo C1858T del gen PTPN22 que se ha encontrado asociado a múltiples patologías autoinmunes, en el caso de la población mexicana de pacientes con síndrome de Turner que acuden al servicio de genética del Hospital General de México, no podría ser una variante polimórfica para evaluar susceptibilidad a enfermedades autoinmunes
- La variante alélica de riesgo T del polimorfismo de riesgo de ZFAT no resultó ser una variante genética que pueda asociarse a un mayor riesgo de tiroiditis autoinmune en nuestra población de estudio con síndrome de Turner.
- En el caso de la variante genotípica de riesgo CT del polimorfismo rs2305767 para MYO9B se encontró fuertemente asociado en la población de estudio con síndrome de Turner con respecto a nuestra población sana, lo cual podría sugerir que pudiera ser un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedad celiaca o enfermedad inflamatoria en estas pacientes, aunque ciertamente en este momento no podemos afirmarlo, ya que no contamos con determinación de anticuerpos específicos y ninguna de ellas tiene al momento como tal dicho diagnóstico
- A partir de este momento a fin de determinar la importancia del hallazgo en este estudio valdrá la pena iniciar un estudio de cohorte en esta población a fin de buscar intencionadamente mediante interrogatorio, exploración y medición de anticuerpos específicos con la intención de corroborar el diagnóstico y reevaluar estadísticamente la asociación que puedan tener con esta primera aproximación.

ANEXOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO Y ASENTIMIENTO INFORMADO

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted y su hija decidan participar en el estudio, por favor lea cuidadosamente el siguiente consentimiento. Haga todas las preguntas que requiera sobre los procedimientos, los costos, riesgos y beneficios.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Conocer las variantes de información genética en algún gen que pueda predisponer a su hija a presentar más frecuentemente enfermedades por un ataque de nuestras células de defensa a nuestros propios órganos o tejidos (como son la glándula tiroides, el páncreas, piel, articulaciones, entre otros).

Para este fin se está invitando a participar a pacientes como su hija, que cuenten con el diagnóstico de síndrome de Turner, y que tengan hasta 18 años de edad.

El estudio es completamente voluntario. Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin que esto signifique que pierda los beneficios de la atención.

PROCEDIMIENTOS

En este estudio se tomará muestra de sangre venosa mediante punción de vena mediana basilica, para a partir de ella extraer DNA. El tiempo que invertirán usted y su hija serán únicamente a efectos del estudio de investigación será el tiempo de extracción de la muestra que será menor a 5 minutos.

Una vez realizados los estudios correspondientes le serán comunicados los resultados del grupo y de su hija y la interpretación que le daremos a dichos resultados con fines de mejorar la calidad en el seguimiento clínico de su hija.

Los riesgos por participar en el estudio será dolor en el sitio de punción, sangrado, moretón y en casos menos frecuentes inflamación de la vena.

BENEFICIOS

Es probable que usted no reciba ningún beneficio personal por participar en este estudio. La identificación en enfermedades relacionadas con el ataque de células de defensa al propio cuerpo podría ser más temprana, aunque hasta la fecha no hay garantía de que esto suceda.

La información resultante de este estudio podría ayudar a mejorar el seguimiento e identificación oportuna de enfermedades autoinmunes en las pacientes con síndrome de Turner.

COSTOS

El estudio de búsqueda de polimorfismos en los genes PTPN22, CTLA-4, MYOB9 y ZFAT relacionados a autoinmunidad, no tendrá costo alguno para usted y su hija. No habrá costo alguno por las visitas que se requieran para el estudio.

ALTERNATIVAS

Si usted decide no participar en el estudio, se continuará con la vigilancia clínica habitual.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Se obtendrán sus datos tanto en forma directa como a través del expediente, los cuales incluirán información personal sobre usted y su hija, así como el estado de salud de su hija. Esta información será utilizada únicamente para este estudio de investigación.

Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones médicas, pero su identidad no será divulgada.

La información de salud será mantenida tan confidencial como sea posible bajo la ley.

Esta autorización servirá hasta el final del estudio, a menos que usted la cancele antes. Usted puede comunicar cualquier duda o inquietud al investigador principal:

Dra. Gloria Eugenia Queipo García

Dirección Teléfono

O al investigador responsable:

Dra. Eréndira Villanueva Ortega

Dirección Teléfono: 55 12949092

COMPENSACIÓN EN CASO DE DAÑO

En caso de lesión física como resultado del procedimiento realizado para este estudio de investigación, usted recibirá atención por el equipo de investigación.

FONDOS PARA ESTUDIO

Los costos del estudio tienen apoyo de CONACYT

No firme este consentimiento a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y recibir respuestas satisfactorias.

Frecuencia de polimorfismos de PTPN22, CTLA-4, ZFAT y MY09B asociados a enfermedades autoinmunes en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Su hija ha sido invitada a participar en el estudio de investigación, este estudio tiene el propósito de encontrar variaciones genéticas relacionadas con riesgo de presentar en un futuro enfermedades autoinmunes (son las enfermedades ocasionadas por el ataque de las células de defensa de nuestro organismo a diferentes órganos y tejidos como por ejemplo: páncreas, tiroides, intestino, entre otros). Estas enfermedades se presentan con mayor frecuencia en las mujeres con síndrome de Turner y se desconoce el momento de su presentación, por lo que es de gran importancia conocer si su hija tiene mayor riesgo de presentar estas complicaciones. Antes de que usted acepte que su hija participe en el estudio, por favor lea cuidadosamente el siguiente consentimiento. Haga todas las preguntas que requiera sobre los procedimientos, los costos, riesgos y beneficios.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Conocer las variantes de información genética que aumentan el riesgo de su hija de presentar enfermedades autoinmunes. Para este fin se está invitando a participar a mujeres con diagnóstico de síndrome de Turner como su hija. El estudio es completamente voluntario. Usted puede decidir que su hija no participe en el estudio, sin que esto signifique que pierda los beneficios de la atención médica que se le brinda.

PROCEDIMIENTOS

En este estudio se tomará muestra de sangre venosa mediante punción de una vena de su brazo, para a partir de ella extraer DNA (información genética). El tiempo que invertirá usted y su hija será el tiempo de extracción de la muestra de sangre, menor a 5 minutos.

Una vez realizados los estudios correspondientes le serán comunicados los resultados y la interpretación que le daremos a dichos resultados con fines de mejorar la calidad en el seguimiento clínico de su hija y de las pacientes con síndrome de Turner.

Los riesgos por participar en el estudio será dolor en el sitio de punción, sangrado, moretón y en casos menos frecuentes inflamación de la vena.

BENEFICIOS

La información resultante de este estudio podría ayudar a mejorar el seguimiento e identificación oportuna de enfermedades autoinmunes en las pacientes con síndrome de Turner.

Frecuencia de polimorfismos de PTPN22, CTLA-4, ZFAT y MY09B asociados a enfermedades autoinmunes en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México

COSTOS

No habrá costo alguno por las visitas que se requieran para el estudio.

ALTERNATIVAS

Si usted decide no participar en el estudio, se continuará con la vigilancia clínica habitual.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Se obtendrán sus datos tanto en forma directa como a través del expediente, los cuales incluirán información personal sobre usted y su hija, así como el estado de salud de su hija. A partir de este momento se le dará una clave para proteger la confidencialidad de su hija y de la muestra. La información personal de su hija será del conocimiento únicamente de los dos investigadores responsables Dra. Queipo y la Dra. Villanueva. El resto del personal que trabaje con la muestra desconocerá estos datos.

Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones médicas, siempre con la confidencialidad necesaria, cuidando de los datos personales de su hija.

La muestra de DNA de su hija será utilizada únicamente para identificar estas variantes de riesgo a enfermedades auto inmunes.

Esta autorización servirá hasta el final del estudio, a menos que usted la cancele antes. Usted puede comunicar cualquier duda o inquietud al investigador principal:

Dra. Gloria Eugenia Queipo García

Dirección Dr. Balmis no., 148, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc.

Teléfono 27892000 ext. 1278 y 1279

Con la presidenta de comité de ética:

Dra. Estela García Elvira

Dirección Dr. Balmis no., 148, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc.

Teléfono 27892000 ext. 1330

O al investigador responsable:

Dra. Eréndira Villanueva Ortega

Dirección Dr. Balmis no., 148, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc.

Teléfono 27892000 ext. 1278 y 1279 y **55 12949092 (las 24hs del día)**

Frecuencia de polimorfismos de PTPN22, CTLA-4, ZFAT y MY09B asociados a enfermedades autoinmunes en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México

COMPENSACIÓN EN CASO DE DAÑO

En caso de lesión física como resultado del procedimiento realizado para este estudio de investigación (dolor, inflamación o moretón), usted recibirá atención por el personal médico de la institución.

No firme este consentimiento a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y recibir respuestas satisfactorias.

CONSENTIMIENTO

He leído la información contenida en esta hoja de consentimiento, o se me ha leído en forma adecuada. Mis preguntas sobre el estudio y la participación que tendrá mi hija _____ de _____ de edad han sido satisfechas.

Autorizo el uso y divulgación de la información de salud de mi hija a las entidades mencionadas anteriormente con los propósitos previamente descritos.

Fecha _____

Nombre de la participante

Nombre y firma del padre o tutor

Nombre y firma de la madre o tutor

Nombre y firma de investigador principal

Nombre y firma de investigador responsable

Frecuencia de polimorfismos de PTPN22, CTLA-4, ZFAT y MY09B asociados a enfermedades autoinmunes en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México

Nombre y firma del Testigo 1

Dirección

Parentesco

Nombre y firma del Testigo 2

Dirección

Parentesco

CARTA DE ASENTIMIENTO

Frecuencia de polimorfismos de PTPN22, CTLA-4, ZFAT y MY09B asociados a enfermedades autoinmunes en niñas y adolescentes con síndrome de Turner que acuden al Hospital General de México

_____ de _____ años de edad, te estamos invitando a participar en un estudio que consiste en buscar variantes genéticas en tu sangre, las cuales pueden incrementar tu riesgo de presentar enfermedades autoinmunes (enfermedades ocasionadas por el ataque de las células de nuestro organismo a órganos y tejidos como tiroides, páncreas, intestino, entre otros). Del cual es investigador principal la Dra. Gloria Eugenia Queipo García e investigador responsable la Dra. Eréndira Villanueva Ortega en el servicio de Genética del Hospital General de México.

Tu participación en este estudio consistirá en hacerte preguntas sobre tu estado de salud, tomaremos datos de tu expediente y tomaremos una muestra de sangre de tu brazo. Con esa muestra de sangre analizaremos si tú cuentas con las variaciones genéticas que te ponen en riesgo a presentar enfermedades autoinmunes. Esa información servirá para mejorar tu salud y tu seguimiento médico.

Tu decisión es completamente voluntaria, no habrá ninguna consecuencia grave que dañe tu persona, no realizaras ningún gasto por participar en este estudio y en caso de que no aceptes participar, tampoco habrá problema.

Nombre y firma de la menor:

Nombre y firma de investigador principal

Nombre y firma de investigador responsable

REFERENCIAS

1. Gravholt CH. Epidemiology of Turner syndrome. *Lancet Oncol* 2008; 9(3):193-195.
2. Gravholt CH. Epidemiological, endocrine and metabolic features in Turner syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005; 49(1):145-156.
3. Lleo A, Moroni L, Caliarì L, Invernizzi P. Autoimmunity and Turner's syndrome. *Autoimmun Rev* 2012; 11(6-7):A538-A543.
4. Davenport ML. Approach to the patient with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(4):1487-1495.
5. Stochholm K, Juul S, Juel K, Naeraa RW, Gravholt CH. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10):3897-3902.
6. Rochiccioli P, David M, Malpuech G et al. Study of final height in Turner's syndrome: ethnic and genetic influences. *Acta Paediatr* 1994; 83(3):305-308.

7. Livadas S, Xekouki P, Fouka F et al. Prevalence of thyroid dysfunction in Turner's syndrome: a long-term follow-up study and brief literature review. *Thyroid* 2005; 15(9):1061-1066.
8. Elsheikh M, Wass JA, Conway GS. Autoimmune thyroid syndrome in women with Turner's syndrome--the association with karyotype. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 55(2):223-226.
9. Chiovato L, Larizza D, Bendinelli G et al. Autoimmune hypothyroidism and hyperthyroidism in patients with Turner's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1996; 134(5):568-575.
10. Jorgensen KT, Rostgaard K, Bache I et al. Autoimmune diseases in women with Turner's syndrome. *Arthritis Rheum* 2010; 62(3):658-666.
11. Elsheikh M, Dunger DB, Conway GS, Wass JA. Turner's syndrome in adulthood. *Endocr Rev* 2002; 23(1):120-140.
12. Sokol L, Stueben ET, Jaikishen JP, Lamarche MB. Turner syndrome associated with acquired von Willebrand disease, primary biliary cirrhosis, and inflammatory bowel disease. *Am J Hematol* 2002; 70(3):257-259.
13. Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P et al. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(12):5495-5498.
14. Zulian F, Schumacher HR, Calore A, Goldsmith DP, Athreya BH. Juvenile arthritis in Turner's syndrome: a multicenter study. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16(4):489-494.
15. Gonc EN, Ozon A, Alikasifoglu A, Kandemir N. Type 1 diabetes mellitus in a 3 1/2 year-old girl with Turner's syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002; 15(8):1203-1206.
16. Rosina P, Segalla G, Magnanini M, Chierigato C, Barba A. Turner's syndrome associated with psoriasis and alopecia areata. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17(1):50-52.
17. Lowenstein EJ, Kim KH, Glick SA. Turner's syndrome in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50(5):767-776.
18. Bakalov VK, Gutin L, Cheng CM et al. Autoimmune disorders in women with turner syndrome and women with karyotypically normal primary ovarian insufficiency. *J Autoimmun* 2012; 38(4):315-321.
19. Vallotton MB, Forbes AP. Autoimmunity in gonadal dysgenesis and Klinefelter's syndrome. *Lancet* 1967; 1(7491):648-651.
20. Cassidy SB, Niblack GD, Lorber CA, Mann JM, Engel E. HLA frequencies, diabetes mellitus and autoimmunity in Turner's patients and their relatives. *Ann Genet* 1978; 21(4):203-208.
21. Bottini N, Vang T, Cucca F, Mustelin T. Role of PTPN22 in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. *Semin Immunol* 2006; 18(4):207-213.
22. Inoue N, Watanabe M, Yamada H et al. Associations between autoimmune thyroid disease prognosis and functional polymorphisms of susceptibility genes, CTLA4, PTPN22, CD40,

- FCRL3, and ZFAT, previously revealed in genome-wide association studies. *J Clin Immunol* 2012; 32(6):1243-1252.
23. Loeff T, Araya M, Perez-Bravo F. Frequency of MYO9B polymorphisms in celiac patients and controls. *Rev Esp Enferm Dig* 2012; 104(11):566-571.
 24. Devernay M, Ecosse E, Coste J, Carel JC. Determinants of medical care for young women with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(9):3408-3413.
 25. Bondy CA. Care of girls and women with Turner syndrome: a guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(1):10-25.
 26. Rubin K. Transitioning the patient with Turner's syndrome from pediatric to adult care. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003; 16 Suppl 3:651-659.
 27. Bianco B, Verreschi IT, Oliveira KC et al. PTPN22 polymorphism is related to autoimmune disease risk in patients with Turner syndrome. *Scand J Immunol* 2010; 72(3):256-259.
 28. Vang T, Miletic AV, Bottini N, Mustelin T. Protein tyrosine phosphatase PTPN22 in human autoimmunity. *Autoimmunity* 2007; 40(6):453-461.
 29. Loeff T, Araya M, Perez-Bravo F. Frequency of MYO9B polymorphisms in celiac patients and controls. *Rev Esp Enferm Dig* 2012; 104(11):566-571.