



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
División de Estudios de Posgrado  
**CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN REUMATOLOGÍA**  
**SECRETARÍA DE SALUD**  
**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**“ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS R61H Y A383T DEL GEN *BANK1* CON LA  
SUSCEPTIBILIDAD DE PRESENTAR LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN PACIENTES  
MEXICANOS”**

**T E S I S**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN REUMATOLOGÍA**

**PRESENTA:**  
**DANIEL DAVID GONZÁLEZ CASTILLO**

**TUTORES PRINCIPALES**  
**M. EN C. ROSA ELDA BARBOSA COBOS**  
**DR. EN C. JULIÁN RAMÍREZ BELLO**

**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**CIUDAD DE MEXICO, 21 OCTUBRE 2019**



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.

**AUTORIZACIÓN DE TESIS**

---

**DR. JAIME MELLADO ABREGO  
JEFE DE ENSEÑANZA**

---

**DR. GUSTAVO ESTEBAN LUGO ZAMUDIO  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO  
EN LA ESPECIALIDAD DE REUMATOLOGÍA**

---

**M. EN C. ROSA ELDA BARBOSA COBOS  
ASESOR 1**

---

**DR. EN C. JULIÁN RAMÍREZ BELLO  
ASESOR 2**

## **DEDICATORIA**

A mi esposa e hijos, por su tiempo, ayuda y comprensión.

A mi familia, por cimentar las bases de mi educación que me han permitido avanzar en la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis profesores: Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio y Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos, por haberme dado la oportunidad de cumplir un sueño, hacer la subespecialidad en Reumatología.

A mis maestras Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos y Dra. Anna Sofía Vargas Avilés por su confianza, por todas sus enseñanzas, y sembrar en mí un espíritu investigativo.

A Miriam Rendón Molina, un ser humano que nos conoce, que cree en cada uno de nosotros, que nos brinda su apoyo en momentos difíciles.

A Cony Rugerio, por brindarnos su tiempo y ayuda en la organización de nuestro curso de posgrado.

A Ángeles Sánchez, quien con su calidez hace que nuestros días de trabajo sean mejores.

Al Dr. Julián Ramírez Bello, por permitirme trabajar junto a su equipo y avanzar en el campo de la investigación.

A la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación por su visión y confianza en el talento humano nacional.

Gracias a todo el equipo del Hospital Juárez de México.

## ÍNDICE

I.	Antecedentes	
	1. Introducción.....	1
	2. Epidemiología.....	1
	3. Manifestaciones clínicas .....	2
	4. Diagnóstico y criterios de clasificación .....	2-3
	5. Patogénesis.....	4
	6. Genética y <i>BANK 1</i> .....	5-6
II.	Justificación.....	7
III.	Pregunta de investigación.....	7
IV.	Hipótesis.....	7
V.	Objetivos.....	8
	a. Objetivo primario.....	8
	b. Objetivo secundario.....	8
VI.	Metodología y material.....	9
	a. Tipo de investigación.....	9
	b. Diseño de investigación.....	9
	c. Ubicación temporal y espacial.....	9
	d. Definición de la población.....	9
	i. Criterios de inclusión.....	9
	ii. Criterios de exclusión.....	9
	iii. Criterios de eliminación.....	9
VII.	Definición de variables.....	10
VIII.	Cálculo del tamaño de la muestra.....	10
IX.	Descripción operativa.....	11
	a. Detección de pacientes.....	11
	b. Toma de muestras.....	11
	c. Extracción de ADN.....	11
	d. Genotipificación de <i>BANK1</i> .....	12
X.	Análisis estadístico.....	12
XI.	Recursos.....	12
XII.	Resultados.....	13-14
XIII.	Discusión.....	15-16
XIV.	Conclusiones.....	17
XV.	Recomendaciones.....	17
XVI.	Consideraciones éticas.....	18
XVII.	Bibliografía.....	19-20
XVIII.	Anexo.....	21-23

## I. Antecedentes

### 1. Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune (EA) caracterizada por la pérdida de tolerancia inmunológica central y periférica, producción de diversos anticuerpos dirigidos contra autoantígenos, sobreexpresión de diversas citocinas inflamatorias, quimiocinas y factores de crecimiento con disminución de citocinas anti-inflamatorias, etc., lo cual conlleva a una afectación multisistémica, causada por interacciones entre genes de susceptibilidad y factores ambientales que resultan en el desarrollo de la enfermedad.<sup>1</sup>

### 2. Epidemiología

Según la definición del Colegio Americano de Reumatólogos (ACR), las tasas de prevalencia e incidencia de LES estandarizadas por edad fueron 62.2 y 4.6/100,000/año, respectivamente. Las tasas fueron 9 veces más altas en mujeres que en hombres para la prevalencia (107.4 versus 12.5) y la incidencia (7.9 versus 1.0). En comparación con las mujeres blancas no hispanas (64.3/100,000/año), la prevalencia es más alta entre las mujeres negras no hispanas (210.9/100,000/año), hispanas (138.3/100,000/año) y las mujeres asiáticas no hispanas (91.2/100,000/año).<sup>2</sup>

Las tasas de incidencia fueron más altas entre las mujeres negras no hispanas (15.7/100,000/año) en comparación con las mujeres no hispanas asiáticas (6.6/100,000/año), hispanas (6.5/100,000) y las mujeres blancas no hispanas (6.5/100,000/año). El ajuste de captura-recaptura aumentó las tasas de prevalencia e incidencia (75.9/100,000/año y 6/100,000/año respectivamente). Las definiciones de LES alternativas sin ajuste de captura-recaptura revelaron tasas de prevalencia e incidencia estandarizadas por edad más altas (73.8/100,000/año y 6.2/100,000/año), según la definición de Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC).<sup>2</sup>

La incidencia estandarizada por edad en Reino Unido es de 8.3/100,000/año para mujeres y 1.4/100,000/año para los hombres, con tasas más altas en personas de ascendencia africana-caribeña, 31.4/100,000/año comparado con 6.7/100,000/año para aquellos de descendencia europea blanca.<sup>3</sup>

En Londres se ha descrito una prevalencia de LES mucho más alta en los residentes inmigrantes de África occidental (110 / 100,000) que en las mujeres europeas (35 / 100,000), aunque la prevalencia en mujeres de África occidental fue más baja que en mujeres afrocaribeñas que vivían en la misma área (177 / 100,000).<sup>4</sup>

En México, se ha reportado una prevalencia de 0.07%<sup>5</sup> y una incidencia estimada de 1.8 a 7.6 casos por 100,000 habitantes/año.<sup>6</sup>

### **3. Manifestaciones Clínicas**

El LES tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas que pueden diferir dramáticamente de paciente a paciente. Del mismo modo que los signos y síntomas del LES varían ampliamente entre los pacientes, también lo hace la gravedad de la enfermedad.<sup>7</sup>

Las manifestaciones de presentación más comunes son los síntomas constitucionales (fiebre, fatiga y/o pérdida de peso), las manifestaciones cutáneas (por ejemplo, erupción malar) y la enfermedad articular.<sup>7</sup> El LES puede presentar una variedad de manifestaciones clínicas; mucocutáneas, osteomusculares, renales, pulmonares, cardíacas, neuropsiquiátricas, hematológicas, del aparato digestivo, inmunológicos, etc. La gran variabilidad en la expresión y la gravedad del LES constituye un desafío importante para un diagnóstico preciso.<sup>8</sup>

En varias publicaciones sobre pacientes caucásico con LES se ha establecido que la edad al momento del diagnóstico y el inicio de los síntomas es mayor en los hombres que en mujeres (37 vs. 32 años) y el retraso en el diagnóstico es más corto en los hombres. Los pacientes masculinos presentan más comorbilidades cardiovasculares, serositis, adenopatías, esplenomegalia, compromiso renal, convulsiones, trombosis y positividad del anticoagulante lupico en comparación con las mujeres. Sin embargo, el rash inflamatorio, la alopecia, artritis y el fenómeno de Raynaud son más comunes en las mujeres. Además, las manifestaciones cutáneas fueron menos frecuentes en los grupos de mayor edad, mientras que las manifestaciones hematológicas y renales son más comunes en adultos jóvenes. La aparición de síntomas musculoesqueléticos es similar entre los sexos y las manifestaciones renales son más comunes en hombres que en mujeres. Para ambos sexos, la afectación pulmonar fue la menos frecuente.<sup>9</sup>

### **4. Diagnóstico y criterios de clasificación**

El diagnóstico de LES en la práctica clínica diaria se basa en la conjunción de diversas manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio y/o resultados de biopsias. El grupo de trabajo SLICC estableció en 2012 los criterios clasificatorios para LES que superan los puntos débiles de los criterios antiguos y mejoran la capacidad de identificación precoz de los pacientes. De esta manera, para realizar el diagnóstico de esta EA se deben cumplir con por los menos 4 criterios, de los cuales uno de ellos debe ser clínico y otro inmunológico, o presentar nefritis lúpica por biopsia junto a positividad de anticuerpos antinucleares (ANA) o anticuerpos anti-ADN de doble cadena (anti-dsDNA). La sensibilidad de los criterios SLICC 2012 es mayor a la de los criterios del Colegio Americano de Reumatólogos (ACR), pero la especificidad es levemente inferior.<sup>10</sup>

<b>Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico (LES). Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC), 2012</b>
<b>Criterios clínicos</b>
Lupus cutáneo agudo (exantema malar lúpico, lupus bulloso, necrosis epidérmica tóxica, exantema maculopapular, fotosensibilidad), en ausencia de dermatomiositis o lupus cutáneo subagudo
Lupus cutáneo crónico (exantema discoide, lupus hipertrófico o verrugoso, paniculitis lúpica o lupus profundus, lupus mucoso, lupus tumidus, perniosis lúpica, superposición lupus discoide/liquen plano)
Úlceras orales (paladar o mucosa nasal), en ausencia de otras causas
Alopecia no cicatricial, en ausencia de otras causas
Sinovitis de 2 o más articulaciones con presencia de tumefacción o derrame, o dolor en 2 o más articulaciones con una rigidez matinal de más de 30 min.
Serositis (pleuritis o pericarditis de más de 1 día)
Renal (cociente proteínas orina/creatinina [o proteinuria en orina 24 h] $\geq$ 500 mg/día o cilindros celulares hemáticos en orina)
Neurológico (convulsiones, psicosis, mononeuritis múltiple, mielitis, neuropatía central o periférica, síndrome confusional agudo), en ausencia de otras causas.
Anemia hemolítica
Leucopenia ( $<$ 4.000/ $\mu$ l en una ocasión) o linfopenia ( $<$ 1.000/ $\mu$ l en una ocasión), en ausencia de otras causas
Trombocitopenia ( $<$ 100.000/ $\mu$ l en una ocasión), en ausencia de otras causas
<b>Criterios inmunológicos</b>
Anticuerpos antinucleares (ANA) por encima del valor de referencia del laboratorio
Anticuerpos anti-ADN de doble cadena (Anti-dsDNA) por encima del valor de referencia del laboratorio (o $>$ 2 veces por encima del valor de referencia si es determinado mediante ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas, ELISA)
Anticuerpos anti-Smith (Sm): presencia del anticuerpo frente al antígeno Sm

Positividad de anticuerpos antifosfolípidos: anticoagulante lúpico positivo, o prueba serológica para sífilis (VRDL) falsamente positivo, o anti-β2 glucoproteína 1 positivo, o anticuerpos anticardiolipina positivos a título medio o alto
Complemento bajo (C3, C4 o CH50)
Coombs directo positivo en ausencia de anemia hemolítica Los criterios son acumulativos y no necesitan estar presentes al mismo tiempo.
<b>Se clasifica a un paciente con LES si presenta al menos 4 de los criterios clínicos o inmunológicos, debiendo al menos estar presente uno clínico y otro inmunológico. También se clasifica con LES al paciente con biopsia renal compatible con nefritis lúpica que asocia unos ANA o anti-ADN positivos.</b>

## 5. Patogénesis

Se han descrito múltiples anormalidades inmunes que involucran tanto células del sistema inmunológico innato y adaptativo tales como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas clásicas, células dendríticas plasmacitoides, así como diversas subpoblaciones de células B y T. Aunque los mecanismos mediados por células están implicados en la patogenia del LES, la característica distintiva de la enfermedad es la formación de complejos inmunes que involucran ácidos nucleicos (tanto DNA como RNA) y autoanticuerpos. El daño tisular se origina a partir de los mecanismos resultantes de la unión directa de autoanticuerpos y de la activación del complemento mediado por complejos inmunes formados en la circulación o en los tejidos. Cada vez hay más evidencia de que el procesamiento de complejos inmunes y de células apoptóticas es subóptimo y que esto contribuye al desarrollo de esta EA. Un paciente con LES puede mostrar empeoramiento en momentos de estrés físico, una infección y la exposición a la luz ultravioleta, lo cual origina una mayor cantidad de células apoptóticas y complejos inmunes. Además de esto, se ha reportado que alteraciones genéticas o adquiridas en los componentes del complemento (C1q, C2 o C4) y diversos polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en los receptores Fc gamma son factores de riesgo importantes para su desarrollo. Por otro lado, no solo es importante la respuesta inmune adaptativa en el desarrollo de esta EA, sino que también la activación inmune innata y la producción de interferon de tipo 1 es fundamental para promover la formación de autoanticuerpos.<sup>11</sup>

Ha sido reportado que una hiperactivación de células T y/o B confieren riesgo para LES al aumentar cantidades de autoanticuerpos y citocinas proinflamatorias, y que la hipoactivación también promueva autorreactividad al permitir que las células B y T autorreactivas escapen de la apoptosis. Sin embargo, también hay evidencias que muestran que una disminución en la activación de células T helper predisponen al desarrollo de autoinmunidad y al desarrollo de EA.<sup>12</sup> Por otro lado, también ha sido reportado que los receptores células B (BCR) se ensamblan a partir de diversas combinaciones de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulinas (Ig) en la médula ósea; la gran

mayoría de los BCR y sus autoanticuerpos en personas con LES se ensamblan a partir de una variedad de genes que codifican Ig y combinaciones que no difieren del ensamblaje normal de anticuerpos protectores. La respuesta de autoanticuerpos en el LES tiene una clonalidad limitada e hipermutación somática, lo que indica que las células han sido estimuladas por antígenos. Existen varios defectos que permiten la supervivencia de subconjuntos de células B autorreactivas en LES. De manera importante también ha sido reportado que polimorfismos genéticos que predisponen al LES se encuentran en genes tales como *PTPN22*, *BANK1*, *BLK*, *ITGAM*, *HLA-II*, entre otros.<sup>4</sup>

## 6. Genética

Actualmente, se han reportado más de 50 genes asociados para LES con resultados consistentemente reproducibles. Dentro de estos genes se incluyen aquellos que codifican para proteínas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II (*HLA-II*), la cascada del complemento (*ITGAM*), la activación de células B (*FCGR2A*), componentes de la vía de señalización del interferón de tipo I (*IRF5*, *IRAK1*, *TREX1* y *TNFAIP3*), proteínas reguladoras de la traducción de señales en células B y T (*BLK*, *BANK1*, *PTPN22*, *PDCD1* y *CTLA4*) y otras proteínas implicadas en la regulación inmune, la inflamación, la quimioatracción, la maduración de las células dendríticas y la pérdida de tolerancia inmunológica. Cabe mencionar que los genes *HLA*, *STAT4*, *ETS1*, *ITGAM*, *IRF5*, *WDFY4*, *BANK1*, *FCGR2A* y *PTPN22* son algunos de los que han mostrado un mayor nivel de asociación; además, *STAT4*,<sup>13</sup> *miR-146a*,<sup>14</sup> *IL17A*,<sup>15</sup> *TNF- $\alpha$* ,<sup>16</sup> *ITGAM*, *IRF5*, *PTPN22*, han mostrado asociación con LES en población mexicana.<sup>17</sup>

Otro ejemplo de gen asociado con susceptibilidad para LES en caucásicos es *BANK1*, este locus se encuentra en la banda citogenética 4q24 y codifica para una proteína adaptadora de 785aa (isoforma de longitud completa), la cual tiene 13 tirosinas que son susceptibles de fosforilación, así como dos repeticiones de anquirina.<sup>18</sup> Los estudios de transcritos indican que hay dos isoformas generados mediante corte y empalme alternativo, una de longitud completa y una de longitud corta sin el exón 2. La proteína *BANK1* está compuesta por tres dominios conservados: dos repeticiones de anquirina, un dominio en espiral y un dominio Dof/*BANK1*/*BCAP* o *DBB* que es conservado entre la proteína Dof de *Drosophila*, la proteína *PIK3AP1* adaptadora de células B (*BCAP*) y *BANK1*. *BANK1* también incluye varias regiones ricas en prolina que pueden proporcionar sitios de acoplamiento para proteínas que contienen SH2 y SH3.<sup>19</sup> Esta proteína adaptadora de andamiaje expresada predominantemente en linfocitos B maduros e inmaduros con BCR funcionales, amplifica la señalización de estas células, regulando el acoplamiento directo entre las cinasas de la familia Src (proteínas cinasas citoplásmicas no receptoras), tirosina cinasa LYN, con el receptor de inositol trifosfato (IP3), lo cual conduce a la movilización de calcio intracelular desde las reservas del retículo endoplásmico.<sup>20</sup>

La estimulación del BCR facilita la asociación de *BANK1* con la fosfolipasa C gamma 2 (*PLC $\gamma$ 2*), lo que resulta en la activación de *PLC $\gamma$ 2*, la expresión de IP3 y diacilglicerol (DAG), y la posterior activación de la proteína cinasa C beta (*PRKCB*), esta última también implicada en la fisiopatología del LES. La interacción entre *BANK1* y *PLC $\gamma$ 2* es promovida por la tirosina cinasa específica del linfocito B (*BLK*).<sup>21</sup>

En enero de 2008, Kozyrev *et al.* identificaron una asociación entre LES y el gen *BANK1*, específicamente con una variante común, la rs10516487 G/A (R61H), también describieron otros dos SNP asociados con LES, e incluyó a los SNPs rs17266594 (localizado en un punto de ramificación) y rs3733197 (A383T).<sup>22</sup> Algunos estudios de asociación genética indican que dos polimorfismos en desequilibrio de ligamiento (LD) entre sí (los SNPs rs17266594 y rs10516487) del gen *BANK1* están asociados con susceptibilidad para LES. El SNP rs10516487 G/A ubicado en el exón 2 causa una sustitución del aminoácido arginina (R) por histidina (H) en la posición 61 de la proteína. El SNP rs10516487 G/A tiene un efecto dual al aumentar la expresión del gen y generar una variante de proteína más propensa a la autoasociación. Este doble efecto podría contribuir al desarrollo de LES y otras EA.<sup>23</sup> El alelo A que codifica para Histidina 61 crea el sitio de reconocimiento para la proteína que regula el corte y empalme SRp40, por lo que este alelo puede afectar la eficiencia y el corte y empalme. La unión de SRp40 en el exón podría desplazar a los otros factores y, por lo tanto, ejercer un efecto negativo en el ensamblaje del espliceosoma que conduciría a una represión del empalme del exón 2. De hecho, la co-transfección experimental del SRp40 suprime significativamente el corte y empalme de la isoforma de longitud completa producida a partir del alelo A.<sup>23</sup>

*BANK1* se expresa principalmente en células B CD19<sup>+</sup>, con muy baja expresión en otras poblaciones celulares.<sup>24</sup> Es importante mencionar que en humanos, algunos genotipos de diversos SNPs de la tirosin-cinasa específica del linfocito B (BLK) pueden afectar la interacción física con *BANK1*, por ejemplo, la variante rs10516487 G/A de *BANK1* interacciona con algunos genotipos de SNPs localizados en *BLK* y confieren susceptibilidad para esta EA en poblaciones europeas, asiáticas y afroamericanas.<sup>25</sup> Además se ha observado una asociación significativa del alelo G del SNP rs10516487 G/A de *BANK1*, del alelo A del SNP rs3733197 G/A y del alelo T del rs17266594 T/C con algunas EA y el LES. Un reciente meta-análisis reveló una asociación entre LES, esclerosis sistémica y el alelo G del SNP rs10516487 G/A de *BANK1*. Este meta-análisis mostró que los polimorfismos rs10516487, rs3733197 y rs17266594 de *BANK1* están asociados con la susceptibilidad para diversas EA.<sup>26</sup>

Respecto a la variante rs3733197 G/A, la cual es una variante no sinónima genera un cambio de aminoácido alanina por treonina en la posición 383 de *BANK1* (A383T) en el exón 7, por lo que se sugiere que estos cambios de aminoácidos conllevan a generar susceptibilidad (junto con otras variantes de otros genes) para LES.<sup>24</sup>

Por lo que el objetivo es evaluar el papel de estas dos variantes *R61H* y *A383T* de *BANK1* en una muestra de paciente mexicanos con LES.

## **II. Justificación**

Debido al gran impacto en la morbi-mortalidad del LES, la identificación de polimorfismos genéticos del *BANK 1* en pacientes mexicanos permitirá conocer la susceptibilidad de éstos para presentar esta EA, lo que podría constituir una herramienta para la identificación de individuos genéticamente susceptibles para desarrollar la enfermedad.

## **III. Pregunta de investigación**

¿Los polimorfismos de un solo nucleótido rs10516487 G/A (R61H), rs3733197 G/A (A383T) del gen *BANK1* están asociados con susceptibilidad para presentar LES en pacientes mexicanos?

## **IV. Hipótesis**

Los polimorfismos de un solo nucleótido rs10516487 y rs3733197 del gen *BANK1* son factores de susceptibilidad para presentar LES en pacientes mexicanos.

## **V. Objetivos**

### **a. Objetivos primario**

Determinar si los polimorfismos de un solo nucleótido, rs10516487 G/A (R61H) y rs3733197 G/A (A383T) del gen *BANK1* están asociados con la susceptibilidad de presentar lupus eritematoso sistémico en pacientes mexicanos.

### **b. Objetivo secundario**

Estimar la frecuencia del polimorfismo rs10516487 G/A (R61H) y rs3733197 G/A (A383T), del gen *BANK1* en pacientes mexicanos con lupus eritematoso sistémico.

Determinar si estas variantes están asociadas con susceptibilidad de presentar lupus eritematoso sistémico en pacientes mexicanos.

Determinar las principales características demográficas de interés en los pacientes con lupus eritematoso sistémico

## **VI. Metodología y Material**

### **a. Tipo de investigación**

Casos y controles

### **b. Diseño de investigación**

Observacional, transversal, comparativo y retrospectivo.

### **c. Ubicación temporal y espacial**

Servicio de Reumatología y Unidad de Investigación del Hospital Juárez de México.  
Inicio 01/09/2018. Termino 31/05/2018.

### **d. Definición de la población**

#### **i. Criterios inclusión:**

- Pacientes de género femenino  $\geq$  de 18 años.
- Pacientes nacidos en México, y que sus padres y abuelos maternos y paternos hayan nacido en México.
- Atendidos en el Servicio de Reumatología del Hospital Juárez de México.
- Diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico que cumplan con criterios de clasificación SLICC 2012.
- Consentimiento informado firmado

#### **ii. Criterios de exclusión:**

- Coexistencia de otra enfermedad autoinmune, excepto Síndrome de Sjögren

#### **iii. Criterios de eliminación**

- Revocación del consentimiento

## VII. Definición de variables

Independiente	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
Lupus Eritematoso Sistémico	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia	Sin criterios de LES	Sin criterios de LES
		Presencia	Con criterios de clasificación de LES	Con criterios de clasificación de LES
Dependiente	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
Polimorfismos <i>BANK1</i> rs10516487 G/A (R61H)	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Gen que codifica a la proteína de armazón de linfocitos B con repeticiones de anquirina	Gen que codifica a la proteína de armazón de linfocitos B con repeticiones de anquirina
rs3733197 G/A (A383T)	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Gen que codifica a la proteína de armazón de linfocitos B con repeticiones similares de anquirina	Gen que codifica a la proteína de armazón de linfocitos B con repeticiones similares de anquirina

## VIII. Cálculo del tamaño de la muestra

De acuerdo al programa QUANTO, el cual evalúa el tamaño de muestra tomando en cuenta la frecuencia de las variantes: error alfa de 0.05; error beta de 0.20; poder de la muestra de 0.90; intervalo de confianza del 95%; un valor de  $p$  menor a 0.05, la prevalencia de la enfermedad, 0.07%, en un modelo genético; el número de muestra es de 334 pacientes con diagnóstico de LES con igual número de controles sanos representativos de la población, pareados, individuos con antecesores mexicanos del mismo sexo y similares edades al grupo de casos.

## **IX. Descripción operativa**

### **a. Detección de pacientes**

Se detectaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de clasificación para LES, SLICC 2012 en la Consulta Externa de Reumatología de los días miércoles y viernes. Se les invitó a los pacientes detectados a participar en el protocolo de investigación, en el caso de los que aceptaron se procedió a la firma del consentimiento informado.

### **b. Toma de muestras**

Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, en tubos vacutainer que contenían EDTA como anticoagulante.

### **c. Extracción de ADN**

1. Las muestras contenidas en tubos con EDTA fueron centrifugadas a 3000 r.p.m durante 10 minutos.
2. Se tomó la capa de leucocitos y se colocó en un tubo limpio de 15 ml para iniciar el procedimiento de extracción del ADN.
3. Se agregó a cada tubo de 15 ml, 6 ml de buffer de lavado
4. Nuevamente, se centrifugó la muestra obtenida de la mezcla, durante 5 minutos a 3500 r.p.m.
5. Se decantó el sobrenadante.
6. Se agregó 6 ml de buffer de lisis de células
7. Se decantó el sobrenadante y se colocó buffer y proteinasa K (30 microlitros) a la muestra, posteriormente; se incubó la muestra con la mezcla de reactivos durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Se agregó isopropanol (3 ml) a la mezcla de reacción, posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 r.p.m durante 5 minutos.
9. Posteriormente se decantó el sobrenadante y se agregaron 3 ml de alcohol etílico al 70%, nuevamente se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 5 minutos.
10. Se decantó el sobrenadante y se dejó secar el ADN a temperatura ambiente por 5 minutos.
11. Finalmente, se agregó buffer de elusión de ADN (600 microlitros), se cuantificó el ADN y se hicieron diluciones a 5 ng/microlitro
12. El remanente de las muestras se desechó de acuerdo a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.<sup>9</sup>

#### **d. Genotipificación de *BANK1***

Los genotipos de los SNPs 10516487 G/A (R61H) and rs3733197 G/A (A383T) del gen *BANK1* fueron evaluados mediante la técnica 5' exonucleasa "TaqMan". El vial contiene un par de sondas para identificar cada uno de los alelos de los SNPs (los cuales presentan dos alelos: bialélicos). Cada sonda en su extremo 5' contiene un fluoróforo, en una de ellas contiene a los fluoróforos VIC o FAM, que se excitan y emiten fluorescencia a diferente longitud de onda, la cual fue detectada por un software y traducida en colores en un plot de discriminación alélica.

- De cada paciente se emplearon 2 microlitros de reacción (cada microlitro contuvo 5 ng).
- Los 2 microlitros se colocaron en lugares específicos de una placa de 96 pozos.
- Posteriormente, a cada pozo se le agregaron 5 microlitros de reacción (cada 5 microlitros contuvo lo siguiente; 2.5 microlitros de master mix 2X, 2.465 de agua y 0.035 microlitros de sonda).
- Las placas fueron colocadas posteriormente en un equipo de PCR en tiempo real (de BioRad) durante 45 ciclos, cada ciclo de PCR consistirá en 15 segundos 95°C y 1 minuto a 60°C.
- Después de 2 horas, los resultados fueron visualizados en la pantalla del equipo.
- Finalmente, se hizo la discriminación alélica para los SNPs rs10516487 G/A (R61H) and rs3733197G/A (A383T) del gen *BANK1*

#### **X. Análisis estadístico**

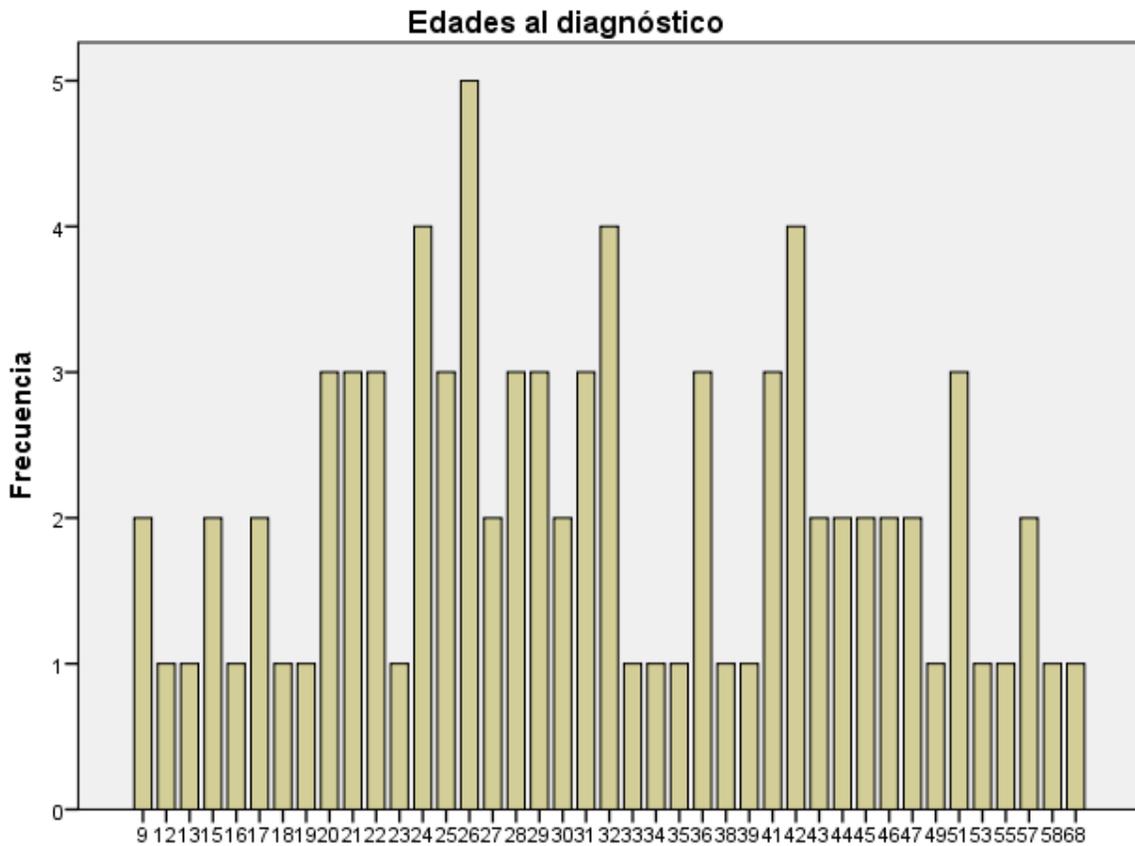
El análisis estadístico descriptivo se realizó con el software IBM SPSS versión 21 donde se determinaron las variables cuantitativas (edad, años de diagnóstico) y variables cualitativas (sexo, presencia o ausencia de polimorfismos). A las variables cuantitativas se determinaron la media/mediana y desviación estándar/RI; las variables cualitativas se les determinó las frecuencias alélicas y genotípicas y porcentajes con un intervalo de confianza del 95%; y el inferencial con el programa previo y con FINETTI donde se realizó la comparación de las variables cualitativas dicotómicas con la prueba Chi cuadrada.

#### **XI. Recursos**

Equipo médico del servicio de Reumatología e investigadores de la Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas y Endócrinas.

## XII. Resultados

Se incluyeron 85 pacientes del sexo femenino (100%); la media de edad al diagnóstico fue de 32.44 años, la mediana de 30 años, la moda de 26 años (desviación estándar, DS, 12.63). La edad mínima de diagnóstico fue 9 años y la máxima 68 años (Figura 1). En cuanto a las edades al diagnóstico el 75% de los pacientes fueron diagnosticados entre los 20 y 50 años, el 12% antes de los 20 años y el 13 % después de los 50 años (Tabla 1). En relación al tiempo de evolución de la enfermedad obtuvimos una media de 8.48 años (DS 8.01). De la procedencia de nuestras pacientes el 35% nacieron en Ciudad de México, mientras que el 65% proceden de otros estados del país. Los controles tuvieron una edad promedio de 51 años ( $\pm 8$ ). Todas fueron también mujeres.



**Figura 1. Edades al diagnóstico de LES**

**Tabla 1. Edades al diagnóstico de Lupus eritematoso sistémico.**

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
<20 años	10	12
20-29 años	30	35
30-39 años	17	20
40-49 años	17	20
50 o más años	11	13
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>100</b>

Las frecuencias alélicas y genotípicas de SNPs de *BANK1*, de las 85 muestras de los pacientes con LES se describen en la tabla 2 y 3.

**Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP R61H de *BANK1* en pacientes mexicanos con LES y controles.**

SNP (rs10516487)		LES, n=85 n (%)	Controles, n=487 n (%)	OR	95 % IC	Valor p
<i>R61H</i> Genotipo	GG	77 (90.6)	347 (71.2)	6.91	0.41-116.79	0.07
	GA	8 (9.4)	125 (25.7)	2.1	0.12-38.18	0.33
	AA	0 (0.0)	15 (3.1)	referencia	referencia	referencia
Alelo	G	162 (95.3)	819 (84.1)	3.8	1.84-7.95	0.00011
	A	8 (4.7)	155 (15.9)	referencia	referencia	referencia

OR odds ratio, IC intervalo de confianza, \*p, estadísticamente significativo

**Tabla 3. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP A383T de *BANK1* en pacientes mexicanos con LES y controles.**

SNP (rs3733197)		LES, n=85 n (%)	Controles, n=487 n (%)	OR	95 % IC	Valor p
<i>A383T</i> Genotipo	GG	59 (69.4)	307 (63)		0.41-116.79	
	GA	23 (27.1)	148 (30.4)	1.35	0.88-2.07	0.16
	AA	3 (3.5)	32 (6.6)	referencia	referencia	referencia
Alelo	G	141 (82.9)	762 (78.2)	1.35	0.88-2.07	0.16
	A	29 (17.1)	212 (21.8)	referencia	referencia	referencia

OR odds ratio, IC intervalo de confianza, \*p, estadísticamente significativo

### XIII. Discusión

El LES puede presentarse a cualquier edad, sin embargo su incidencia máxima se produce durante los años de edad fértil; siendo la edad media de diagnóstico entre los 24 y 32 años<sup>27</sup>, datos coincidentes con lo identificado en nuestro estudio donde la edad media fue 32 años, afectándose también a pacientes pediátricos y adultos mayores, quienes constituyeron una menor proporción del total de pacientes. A pesar de no existir consenso con respecto a la edad de corte adecuada que defina lupus de inicio en la infancia, la mayoría de los estudios utilizan edades entre los 16 o 18 años. El lupus infantil (LESi) representa el 10-20% de todos los casos de LES.<sup>28</sup>

En nuestra unidad hospitalaria se atendieron pacientes procedentes de todo el territorio nacional, siendo la mayoría nacidos en estados localizados por fuera de Ciudad de México, lo que traduce que nuestro hospital es un centro de referencia nacional para el manejo de pacientes con enfermedades reumáticas.

En cuanto a los resultados de genotipificación, el alelo G del SNP R61H de *BANK1* fue más frecuente en los pacientes con diagnóstico de LES con diferencias estadísticamente significativas para esta variante, mientras que el alelo A fue más frecuente en el grupo control. En cuanto al polimorfismo A383T existió una tendencia similar sin evidenciar significancia estadística. En nuestros pacientes, el alelo G del polimorfismo R61H confiere susceptibilidad para presentar LES (OR: 3.8), sin encontrar asociación para los alelos del A383T.

Varios estudios de los SNPs como el rs10516487 en *BANK1*, han sido reportados como significativamente asociados con LES en poblaciones asiáticas, estadounidenses con ancestría europea y africana.<sup>25</sup> *BANK1* consta de 2 isoformas, una de longitud completa y otra corta ( $\Delta 2$ ), la cual carece del exón 2. El aumento de las cantidades de la isoforma de longitud completa en comparación con la isoforma  $\Delta 2$  se asocia con un mayor riesgo de desarrollo de EA sistémicas en humanos. La cantidad reducida de la isoforma  $\Delta 2$ , en comparación con la isoforma de longitud completa, se correlaciona con una variante de riesgo R61 s10516487 en humanos.<sup>29</sup>

Las tres isoformas BANK1, 2 de longitud completa con R61 y H61 y la isoforma  $\Delta 2$ , muestran diferentes patrones de localización citoplásmica y autoensamblaje. La expresión ectópica de las isoformas de longitud completa en las células HEK293 conduce a la formación de complejos de proteínas con un fenotipo punteado, mientras que la isoforma  $\Delta 2$  muestra una distribución homogénea de la proteína en el citoplasma. La isoforma  $\Delta 2$  humana podría servir como una isoforma negativa dominante al competir con la isoforma de longitud completa para los sustratos, distorsionando así la señalización de las células B. La relación de uno u otro puede ajustar la señalización. El ajuste fino adicional puede depender de la presencia de la isoforma de proteína de longitud completa R61 o 61H.<sup>23</sup> Se ha demostrado que la variante no común, rs10516487A (61H), confiere un fuerte efecto protector contra la enfermedad con un odds ratio (0,64 en caucásicos; 0,75 en AA).<sup>22</sup> Ha sido reportado que la isoforma BANK1-R61 forma estructuras de proteínas significativamente más grandes en comparación con BANK1-H61, lo que sugiere una mayor capacidad de autoensamblaje. Debido a que la variante de riesgo de BANK1 tiene mayor eficiencia de empalme conduce a la producción de más proteína y esta proteína muestra una mayor capacidad de autoensamblaje, el andamio intracelular creado es más grande y más rígido en las células que expresan el alelo de riesgo de lupus. Se considera que el alelo de riesgo pueda relacionarse con un autoensamblaje más fuerte y un andamio más rígido, la consecuencia final de esto sería una modulación menos flexible de la respuesta BCR. Este fallo en la modulación de la activación de las células B se ha observado en pacientes con LES después del compromiso con BCR.<sup>23</sup>

#### **XIV. Conclusiones**

El LES es una enfermedad prevalente en mujeres de edad reproductiva aunque puede diagnosticarse en niños y mayores de 50 años.

Los alelos G de los polimorfismos R61H y A383T fueron los más prevalentes en los pacientes con LES, mientras que los alelos A fueron más frecuentes en los casos control.

El polimorfismo rs10516487 G/A (R61H) del gen *BANK1* confiere susceptibilidad de presentar LES en pacientes mexicanos. A diferencia del polimorfismo rs3733197 G/A (A383T), el cual no demostró conferir susceptibilidad a nuestras pacientes.

#### **XV. Recomendaciones**

Los estudios genéticos podrían abrir nuevas puertas para el diagnóstico y manejo de las enfermedades reumáticas, entre estas el lupus eritematoso sistémico; conocer los polimorfismos genéticos de susceptibilidad en nuestra población permitirán generar y establecer correlaciones con las diferentes manifestaciones clínicas del LES, que podrían definir factores de riesgo y potenciales opciones de tratamiento de manera temprana y eficiente.

A pesar de la significancia estadística determinada en nuestro estudio con uno de los polimorfismos genéticos del *BANK1*, R61H, se debe incrementar el número de pacientes que permita obtener datos globales con un mayor peso poblacional, dejándose las bases para nuevos planteamientos investigativos que permitan mejorar las intervenciones y el pronóstico del lupus eritematoso sistémico.

## **XVI. Consideraciones éticas**

El protocolo se realizará de acuerdo a lo dispuesto en la ley general de salud, en materia de investigación en salud y en materia de del genoma humano que se publicó en el diario oficial de la federación del 16 de noviembre 2011. El estudio se apegará a los principios de la asamblea médica mundial para la investigación en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki.

Esta investigación se categorizará con un riesgo mínimo debido a que se extraerá un volumen de sangre de 5 ml por punción venosa en adultos hemodinámicamente estables en una ocasión. Este estudio contó con la firma del consentimiento informado de nuestros pacientes.

El proyecto fue aprobado por el comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México.

## **XVII. Bibliografía**

1. Goulielmos GN, Zervou MI, and Vazgiourakis VM. The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. *Gene*. 2018;52-72.
2. Izmirly P, Wan I, and Sahl S. The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus in New York County (Manhattan), New YorkThe Manhattan Lupus Surveillance Program. *Arthritis and Rheumatology*. 2017; 1-12.
3. Gordon C., Maame AA, and Gayed, M. The british Society for Rheumatology guideline for managemen of systemic lupus erythematosus in adults. *Rheumatology*. 2018; e1-e45
4. Wallace, D., & Hannahs Hahn, B. (2013). *Dubois" Lupus erythematosus and Related Syndromes*. Philadelphia: Elsevier.
5. Peláez-Ballestas I, Sanin LH, and Moreno-Montoya J. Epidemiology of the Rheumatic Diseases in Mexico. A Study of 5 Regions Based on the COPCORD Methodology. *The Journal of Rheumatology*. 2011; 1-8.
6. Nucamendi-Cervantes G. ¿Qué es el Lupus Eritematoso? *Boletín Epidemiológico*. 2013;1-4.
7. Firestein, G. S. (2017). *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier.
8. Hochberg, M. (2015). *Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier.
9. Di Battista M, Marcucci E, Elefante E, Tripoli A, Governato G, Zucchi D, et al. One year in review 2018: systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(5):763-777.
10. Sociedad Española de Reumatología. (2014). *Manual SER de enfermedades reumáticas*. Madrid: Elsevier.
11. Watts, R. A. (2013). *Oxford Textbook of Rheumatology*. Oxford: Oxford University Press.
12. López-Cano DJ, Cadena-Sandoval D, Beltrán-Ramírez O, Barbosa-Cobos RE, Sánchez-Muñoz F, Ramírez-Bello J, at al. The *PTPN22* R263Q polymorphism confers protection against systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, while *PTPN22* R620W confers susceptibility to Graves' disease in a Mexican population. *Inflamm Res*. 2017;66(9):775-781.
13. Beltrán Ramírez O, Mendoza Rincón JF, Barbosa Cobos RE, Alemán Ávila I and Ramírez Bello J. *STAT4* confers risk for rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Mexican patients. *Immunology Letters* 175.2016;40–43.
14. Alemán-Ávila I, Jiménez-Morales M, Beltrán-Ramírez O, Barbosa-Cobos RE, Jiménez-Morales S, Ramírez-Bello J, et al. Functional polymorphisms in *pre-miR146a* and *pre-miR499* are associated with systemic lupus erythematosus but not with rheumatoid arthritis or Graves' disease in Mexican patients. *Oncotarget*. 2017;8(54): 91876-91886.
15. Montúfar-Robles I, Barbosa-Cobos RE, Alemán-Ávila I and Ramírez-Bello J. *IL-17A* haplotype confers susceptibility to systemic lupus erythematosus but not to rheumatoid arthritis in Mexican patients. *Int J Rheum Dis*. 2018;1–7.
16. Ramírez-Bello J, Cadena-Sandoval D, Mendoza-Rincón JF, Barbosa-Cobos RE, Sánchez-Muñoz F, Amezcua-Guerra LM, at al. Tumor necrosis factor gene polymorphisms are

associated with systemic lupus erythematosus susceptibility or lupus nephritis in Mexican patients. *Immunol Res* 2018.

17. Velazquez R, Jimenez S, and Ramirez J. Lupus Eritematoso Sistémico: Genómica de la enfermedad. *Gaceta Médica de México*. 2012
18. Castillejo-López C, and Delgado-Vega A. Genetic and Physical Interaction of the B-Cell SLE-Associated Genes *BANK1* and *BLK*. *Ann Rheum Dis*. 2012;136-142.
19. Dam E, Habib T, and Chen J. The *BANK1* SLE-risk variants are associated with alterations in peripheral b cell signaling and development in humans. *Clin Immunol*. 2016;171-180.
20. Saeed M. Lupus pathobiology based on genomics. *Immunogenetics*. 2017;1-12.
21. Mohan C, and Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat. Rev. Nephrol*. 2015;1-13.
22. Grant S, Petri M, and Bradfield J. Association of the *BANK1* R61H variant with systemic lupus erythematosus in Americans of European and African ancestry. *The Application of Clinical Genetics*. 2009;1-5.
23. Kozyrev SV, Bernal-Quiros M, Alarcón-Riquelme ME and Castillejo-López C. The dual effect of the lupus-associated polymorphism rs10516487 on *BANK1* gene expression and protein localization. *Genes and Immunity*. 2012;13:129–138.
24. Kozyrev SV, Abelson A and Wojcik J. Functional variants in the B-cell gene *BANK1* are associated with systemic lupus erythematosus. *Nature genetics*. 2008;214-220.
25. Dang J, Li J, and Xin Q. Gene–gene interaction of *ATG5*, *ATG7*, *BLK* and *BANK1* in systemic lupus erythematosus. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2015;1-10.
26. Bae SC, and Lee Y. Association between *BANK1* polymorphisms and susceptibility to autoimmune diseases: A meta-analysis. *Cell Mol Biol*. 2017;29-35.
27. Pons-Estel GJ, Ugarte-Gil MF and Alarcón GS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol*. 2017;13(8):799-81.
28. Bundhun PK, Kumari A and Huang F. Differences in clinical features observed between childhood-onset versus adult-onset systemic lupus erythematosus. A systematic review and meta-analysis. *Medicine*. 2017;96:37(e8086)
29. Alkaissi H, Havarinasab S, Nielsen JB, Söderkvist P and Hultman P. *Bank1* and *NF-kappaB* as key regulators in anti-nucleolar antibody development. *PLoS One*. 2018;13(7):e0199979.

**XVIII. Anexos**

Consentimiento informado



**FORMATO ESTUDIOS GENÉTICOS Y/O ENZIMÁTICOS**

APLICABLE EN PROTOCOLOS DONDE SE TENGA DENTRO DE SUS OBJETIVOS ESTA INFORMACIÓN

NO SUBSTITUYE A LA CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO GENERAL NI A LA DE MENORES DE EDAD Y/O GRUPOS VULNERABLES Y DEBERÁ SER ANEXADA EN CASO DE QUE EL PROYECTO SEA UN ESTUDIO PROSPECTIVO CON RIESGO MÍNIMO O MAYOR AL MÍNIMO PODRÁ SER FORMATO ÚNICO CUANDO EL OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO ASÍ LO INDIQUE

**ES INDISPENSABLE QUE SEA LLENADO CON LENGUAJE CLARO NO MÉDICO Y SENCILLO, DEBE CONSIDERAR QUE SOLO SERÁ VALIDO CON SELLO DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN (CEI)**

**COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO GRADUAL PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS ENZIMÁTICOS Y/O GENÉTICOS**

**Título del protocolo:**

"Asociación de polimorfismos del gen *BANK 1* y susceptibilidad de presentar Lupus Eritematoso Sistémico en pacientes mexicanos".

El Investigador que informa, Rosa Elda Barbosa Cobos, del Servicio de Reumatología del Hospital Juárez de México, Teléfono 57477560 Ext. 7692 que labora entre las 8:00 am a 14:00 pm.

Persona a quien se informa: ....., de ..... de edad, con y domicilio calle ..... número.....Delegación o Municipio.....CP:.....

**Muestra:**

- Sangre**
- Biopsia de piel
- Otras (Cual).....

Declaro estar informado de la finalidad del estudio y, en este sentido, haber comprendido que puedo estar afectado o ser portador de un trastorno genético/metabólico hereditario y que el diagnóstico se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, que se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.



• Que los beneficios esperados de dicha investigación consistirán en un mayor conocimiento de la susceptibilidad de padecer lupus eritematoso sistémico en pacientes con polimorfismos del gen *BANK1*, la identificación de polimorfismos genéticos, podría constituir una herramienta diagnóstica en fase temprana, pronóstica al definir el genotipo del paciente y terapéutica al identificar mecanismos blanco.

• Que la finalidad de la investigación será la patología objeto de diagnóstico y otras relacionadas con esta última, y que se realizará previo informe favorable del Comité de Ética en Investigación.

La técnica puede fracasar por no conseguir la extracción de *ADN* o por otros problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo.

El estudio se llevará a cabo por el CENTRO \_\_\_\_ En caso de realizar alguna parte de la investigación en otro lugar anotar estos datos, si no aclarar que por entero se realizará en el Hospital Juárez de México) \_\_\_\_\_, que constituye la comisión científica de \_\_\_\_\_ y que está ubicado en \_\_\_\_\_.

A dicho centro se remitirá la muestra biológica y en el mismo se archivarán mis datos los cuales son totalmente confidenciales y a entero resguardo del investigador responsable.

Que las únicas personas que tendrán acceso a los resultados de los análisis serán los integrantes de los equipos del mencionado centro de investigación y los profesionales del servicio del hospital vinculados a la asistencia del paciente.

Se le advierte sobre la posibilidad de descubrimientos inesperados en el proceso de análisis de la muestra, no relacionados con la patología de diagnóstico, y respecto a los mismos manifiesta:

- 1 Querer conocerlos
- 2 No querer conocerlos
- 3 Delegar en el médico esa decisión

Se le advierte igualmente de la implicación que puede tener para sus familiares la información que se llegue a obtener y de la conveniencia de que, en ese supuesto, sea el propio paciente (o su representante en su caso) quien les transmita dicha información.

Por último, se le comunica el compromiso de este Servicio hospitalario de suministrarle consejo genético, una vez obtenidos y evaluados los resultados del análisis.

Adicionalmente, doy consentimiento para que a la finalización del estudio El Investigador \_\_\_\_\_ pueda utilizar la muestra biológica para la investigación de la patología cuyo diagnóstico se pretende y en otras líneas de investigación relacionadas con aquélla.

- 1 Sí
- 2 No



• Que, si lo acepta, podrá ser contactado con posterioridad con el fin de recabar nuevos datos u obtener otras muestras, para lo cual la forma en que prefiere ser contactado es:

**Lo acepto y deseo que se me contacte** (siguiente teléfono y/o dirección)  
**No lo acepto.**

• Que el responsable de la investigación será \_\_\_\_\_ se llevará un archivo con los datos personales, pudiendo ejercitar ante el mismo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición, en los términos previstos en la Ley de protección de datos de carácter personal.

• El sujeto tiene derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento, y a decidir también la destrucción o anonimización de la muestra.

• Que al final de la investigación o investigaciones autorizadas el destino de la muestra será su destrucción o anonimización.

• Que tiene derecho a conocer los datos genéticos que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas.

• Que la información que se obtenga puede tener implicaciones para los familiares del sujeto fuente de la muestra, de lo que resulta la conveniencia de que sea este último (o su representante, en su caso) quien la transmita.

México DF a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Nombre y firma Investigador responsable  

Nombre y firma del Paciente o persona responsable \_\_\_\_\_

Nombre, parentesco y firma del Testigo \_\_\_\_\_