



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**SECRETARÍA DE SALUD**  
**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN REUMATOLOGÍA**

**“EVALUACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS DEL GEN *BANK 1* Y  
SUSCEPTIBILIDAD DE PRESENTAR SÍNDROME DE SJÖGREN  
PRIMARIO EN PACIENTES MEXICANOS”**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN REUMATOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**DRA. IVONNE ARENAS SILVA**

**ASESORES DE TESIS:**

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

**D. EN C. JULIAN RAMÍREZ BELLO**

**Número de Registro de Protocolo**

**HJM 0552/18-R**

**CDMX JUNIO 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**

---

**D. EN C. JULIAN RAMÍREZ BELLO  
ASESOR 2**

## **DEDICATORIA:**

A mi padre por su infinita fe en mí.

A mis hermanos por ser mis cómplices de vida.

A mis dos ángeles de la guarda (Silvia e Iván) por el amor que nos tenemos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis profesores: Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio, Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos, Dra. Lizbeth Teresa Becerril Mendoza, Dra. Anna Sofía Vargas Avilés, Dra. Lucia Verónica Maya Piña y Dr. Ricardo Sabido Sauri por permitirme aprender el arte de ser reumatólogo y del trabajo en equipo.

A mis amigos: Meche, Ivonne, Kerly, Suxi, Daniel, Karen, Ale, Roberto y Vico por esos días cortos, noches largas y sueños cumplidos.

# ÍNDICE

I.	Antecedente	
	1. Introducción.....	1
	2. Epidemiología.....	1
	3. Manifestaciones clínicas.....	2
	1. Síndrome sicca.....	2
	2. Síntomas generales.....	2
	3. Manifestaciones sistémicas.....	2
	4. Diagnóstico.....	3
	5. Etiología.....	5
	6. Genética.....	6
	1. <i>BANK 1: localización genética, estructura, expresión y función proteínica</i> .....	8
	2. <i>BANK 1yActivación del linfocito B</i> .....	8
	3. Modelo del impacto de los SNP <i>BANK 1</i> en la señalización y el desarrollo de células B.....	9
	4. Polimorfismos de un nucleótido .....	10
II.	Justificación.....	11
III.	Pregunta de investigación.....	12
IV.	Hipótesis.....	12
V.	Objetivo .....	12
VI.	Metodología y material.....	12
	a. Diseño de investigación.....	12
	b. Tipo de estudio .....	13
	c. Ubicación temporal y espacial.....	13
	d. Definición de la población.....	13
	i. Criterios de inclusión.....	13
	ii. Criterios de exclusión.....	13
	iii. Criterios de eliminación.....	14
VII.	Definición de variables.....	14
VIII.	Cálculo del tamaño de la muestra.....	15
IX.	Descripción operativa.....	15
	a. Detección de pacientes.....	15
	b. Toma de muestras.....	15
	c. Extracción de ADN.....	15
	d. Genotipificación del gen <i>BANK 1</i> .....	16
X.	Análisis estadístico.....	17
XI.	Recursos.....	17
XII.	Resultados.....	17
XIII.	Discusión.....	21
XIV.	Conclusiones.....	23
XV.	Consideraciones éticas.....	23
XVI.	Bibliografía.....	25
XVII.	Anexo.....	28



## **I. Antecedentes**

### **1. Introducción**

El síndrome de Sjögren (SSj) es una enfermedad autoinmune sistémica común lentamente progresiva cuyo signo distintivo es la exocrinopatía.<sup>1</sup> Presenta Infiltración linfocítica de las glándulas exocrinas y pérdida significativa de la función secretora de glándulas salivales y lagrimales e incluso en nariz, tracto respiratorio superior, orofaringe, y posibles manifestaciones multiorgánicas.<sup>2</sup> Esta hipofunción glandular conduce al síndrome Sicca, el cual es una combinación de sequedad ocular, cavidad oral, faringe, laringe y vagina.<sup>3</sup>

El SSj se divide en primario y secundario. Se define como una enfermedad primaria cuando los signos y síntomas antes descritos se presentan en ausencia de otra enfermedad del tejido conectivo, denominándose síndrome de Sjögren primario (SSP). Cuando el síndrome se presenta asociado con otras enfermedades del tejido conectivo o procesos inflamatorios crónicos es definido como síndrome de Sjögren Secundario (SSS).<sup>4,5</sup>

### **2. Epidemiología**

Se estima que la prevalencia del SSj varía de 0.1% a 4.8%,<sup>6</sup> con una incidencia anual de 6.9 por 1000 pacientes y tasas que aumentan con la edad avanzada.<sup>7</sup>

Afecta predominantemente a las mujeres en una proporción de afección mujer:hombre de 9.15:1 y 10.72:1 de acuerdo a los datos de incidencia y prevalencia, respectivamente. La edad general de SSP en promedio es de 56.16 años.<sup>7</sup>



La heterogeneidad en los criterios de inclusión, el origen étnico, el tamaño de muestra y la distribución por sexo entre los estudios contribuyen a la variabilidad observada en los estudios de epidemiológicos de este padecimiento.<sup>7</sup>

### **3. Manifestaciones Clínicas**

La presentación clínica de esta EA es heterogénea, con diferentes grados de compromiso sistémico al momento del diagnóstico. La sequedad en la boca (xerostomía) y en ojos (xeroftalmia) se pueden presentar hasta el 80% de los casos.<sup>4</sup> Los síntomas se dividen en tres grupos: 1. Síndrome Sicca. 2. Síntomas generales. 3. Manifestaciones sistémicas.<sup>4</sup>

1. Síndrome Sicca: Es la combinación de xeroftalmia, xerostomía, faringe y laringe, los cuales son los síntomas clásicos de SSP. En las mujeres, también la sequedad vaginal también es una característica común de esta enfermedad. La xerostomía puede desencadenar problemas secundarios como candidiasis oral (33%), caries dental (65%) y enfermedad periodontal. La xeroftalmía puede resultar en fotosensibilidad, irritación crónica y destrucción del epitelio de la córnea e infecciones oculares. Además, el síndrome Sicca también incluye ronquera, tos no productiva, piel seca y en las mujeres, dispareunia.<sup>4</sup>
2. Síntomas Generales: El síntoma general más prevalente es la fatiga, ocurriendo hasta en un 70-80%. Un dolor crónico con frecuencia se presenta en el SSP como acompañante de fibromialgia y/o poliartralgia. La depresión y la ansiedad son también muy comunes en pacientes con SSP comparados con controles sanos.<sup>4</sup>
3. Manifestaciones Sistémicas: Aproximadamente el 71% de estos pacientes con SSP se presentan con manifestaciones extraglandulares. El linfoma tiene la más alta mortalidad, el subtipo más común de linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), es a menudo visto en las glándulas parótidas, la

cual es usualmente una neoplasia indolente de bajo grado; los factores de riesgo clínico para presentación de linfoma, incluyen crecimiento persistente, unilateral de glándula salival, linfadenopatías, esplenomegalia, vasculitis cutánea, crioglobulinemia y el desarrollo de glomerulonefritis. El compromiso articular en SSP consiste predominantemente en artropatía simétrica, intermitente, no erosiva; la artritis es menos común y ocurre en aproximadamente el 16% de estos pacientes comprometiendo articulaciones interfalángicas proximales (35%) y del carpo (30%). Aproximadamente entre el 10-20% desarrolla enfermedad pulmonar intersticial. El compromiso renal es común e incluye un amplio espectro de manifestaciones, de las cuales la nefritis intersticial es la más prevalente; la falla renal ocurre en aproximadamente en el 24% de los pacientes con SSP. El compromiso neurológico en pacientes con esta EA incluye el sistema nervioso central y el periférico. Esta enfermedad además, se asocia con hepatitis C (12%), enfermedad tiroidea autoinmune (10%), hepatitis activa crónica autoinmune y cirrosis biliar primaria (5%). Otras manifestaciones cutáneas implican eritema, vasculitis y dermatitis. El fenómeno de Raynaud está presente en el 10% al 15% de los pacientes, a menudo precediendo la aparición de los síntomas sicca.<sup>4</sup>

#### **4. Diagnóstico**

El diagnóstico del SSj representa un desafío relacionado con el hecho de que los síntomas principales (sequedad de boca y ojos, fatiga y dolor) son comunes en la población general y pueden estar asociados a otros síndromes de dolor.<sup>5,6</sup>

Por lo anterior desde 1970 se han establecido y establecido diversos criterios de clasificación. Actualmente el Colegio Americano de Reumatología (ACR, por sus siglas en inglés) y la Liga Europea Contra el Reumatismo (EULAR, por sus siglas

en inglés) publicaron los nuevos criterios de clasificación 2016. Los cuales Incluyen variables más objetivas que los previamente publicados por el *American-European Consensus Group* (AECG, por sus siglas en inglés) del 2012.<sup>2</sup> Estos criterios se aplican a cualquier individuo que cumpla con los criterios de inclusión (tabla 1), que no presenten criterios de exclusión (tabla 2), y que cumplan un puntaje  $\geq 4$  de los 5 puntos que se enumeran en la tabla 3.

**Tabla 1. Criterios de inclusión<sup>2</sup>**

Se aplica a pacientes que presenten al menos 1 síntoma de sequedad ocular, definida como una respuesta positiva cuando menos a una de las siguientes preguntas:

- 1) ¿Ha tenido problemas de ojo seco diariamente, persistente, por más de 3 meses?
- 2) ¿Ha tenido sensación recurrente de arena o polvo en los ojos?
- 3) ¿Utiliza sustitutos de lágrimas más de 3 veces al día?
- 4) ¿Ha tenido la sensación de boca seca por más de 3 meses?
- 5) ¿Frecuentemente ingiere líquidos para ayudar a deglutir alimentos?

**Tabla 2. Condiciones de exclusión para criterios de clasificación ACR/EULAR para síndrome de Sjögren.**

El diagnóstico previo de cualquiera de las siguientes condiciones excluiría el diagnóstico de SS y la participación en estudios de SS o ensayos terapéuticos debido a la superposición de características clínicas o interferencia con pruebas de criterios:

- 1) Antecedente de tratamiento con radiación a cabeza y cuello
- 2) Infección por hepatitis B activa (confirmada por reacción en cadena de polimerasa)
- 3) Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

- 4) Sarcoidosis
- 5) Amiloidosis
- 6) Enfermedad injerto contra huésped
- 7) Enfermedad relacionada con IgG4

<b>Tabla 3. Criterios de clasificación ACR/EULAR para SSj<sup>2</sup></b>	
<b>Circunstancia</b>	<b>Puntaje</b>
Glándula salival de labio con sialoadenitis linfocítica focal y puntaje de focos de Daniels de $\geq 1$ foco/mm <sup>2</sup>	3
Anti-SSA/Ro positive	3
Puntaje de Tinción ocular de Withcer $\geq 5$ (o puntaje van Bijsterveld $\geq 4$ ) en al menos 1 ojo	1
Prueba de Schirmer $\leq 5$ mm/5 minutos en al menos 1 ojo	1
Índice de flujo salival total sin estimulación $\leq 0.1$ ml/minuto	1

## 5. Etiología

En SSP no se conoce completamente y de manera clara su etiología, no obstante, diversos estudios muestran que esta EA multifactorial se desarrolla por la combinación de factores de riesgo genéticos y ambientales.<sup>19</sup> Desde el abordaje genético poco se sabe en esta EA, por ejemplo, estudios pioneros mostraron una mayor agregación familiar, una proporción de concordancia aumentada en gemelos monocigotos versus dicigotos, y del riesgo relativo aumentado en individuos que tienen un hermano afectado.<sup>19</sup> Desde el punto de vista de estudios de gen candidato y del genoma completo (GWAS) pocos han sido los reportes publicados. Entre los genes fuertemente asociados con SSP se encuentran el clásico HLA de clase II, y genes no HLA como STAT4, BLK, TNFAIP3, IL12A, y otros 4 más, otro grupo de genes han sido mostrados estar asociados, no obstante, estas asociaciones en

RELN, PTTG1, KLRG1, no alcanzan el nivel de p de los GWAS. Por lo que se nota la carencia de estudios genéticos en el mundo en esta EA.

## 6. Genética

La heterogenicidad de los pacientes con SSP se puede atribuir a la activación anormal de los diferentes mecanismos del sistema inmunitario y la inflamación. Se desconoce que causa la respuesta autoinmune, pero se ha sugerido un evento primario, como una infección seguida de una respuesta autoinmune secundaria. Sin embargo, esta enfermedad parecida a otras EA solo se desarrolla en individuos genéticamente susceptibles.

Diversas evidencias muestran la participación de diversos tipos celulares del sistema inmunológico en la patogénesis del SSP. Una de estos tipos son las células B auto-reactivas, las cuales juegan un papel fundamental en su patogénesis siendo propuestas como terapia dirigida contra las células B como una modalidad de tratamiento.<sup>8</sup>

En general, las células B auto-reactivas juegan un papel principal en la inmunopatogénesis de las EA. Estas células se activan mediante una reacción inmune, por ejemplo, un complejo inmune, el cual causa su diferenciación a células plasmáticas productoras de anticuerpo o autoanticuerpos en las en caso de las EA. La señalización intracelular en las células B alterada causa anomalías en su activación, varias proteínas como la proteína 1 de andamiaje de células B con repeticiones de anquirina (BANK1, del inglés B cell scaffold protein With ankyrin repeats 1) y la cinasa de tirosina de células B (BLK, del inglés B lymphoid tyrosine kinase) sufren alteraciones debido a polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), los cuales si son funcionales pueden afectar diversos procesos normales de BANK1 y BLK. Recientemente, ha sido publicado que variantes tipo SNPs no sinónimas en *BANK1*, es decir que variantes que cambian aminoácidos están fuertemente

asociadas con lupus eritematoso sistémico (LES) en europeos,<sup>14</sup> además, recientemente nuestro grupo de investigación mostró que este gen, específicamente la variante R61H (R = arginina, H=histidina) o rs10516487G/A de *BANK1* está asociada con LES en mexicanos (agregar esta referencia). Importantemente, nosotros también identificamos que esta variante es también un factor de riesgo para desarrollar artritis reumatoide (AR) (artículo bajo revisión), por lo que es importante evaluar esta variante, así como la A383T (A=alanina, T=Treonina) o rs3733197G/A de *BANK1* en otras EA, tales como SSP.<sup>20</sup>

Numerosos estudios han sugerido al SSP como un trastorno poligénico, el cual puede compartir factores genéticos con otras EA, como el LES, AR y esclerosis sistémica (ES)<sup>10</sup>. Recientemente, algunos polimorfismos en *BANK1* y *BLK* han sido confirmados como factores de susceptibilidad para múltiples EA.<sup>9</sup>

Algunos estudios en donde se evaluó la asociación de *BANK1* y SSP han reportado resultados contradictorios. En 2013, Sun *et al.* no identificaron una asociación entre 3 SNPs de *BANK 1* y SSP en una población China.<sup>11</sup> Por otro lado, Reksten, *et al.* en 2014 describieron variaciones genéticas que podrían ayudar a explicar la presencia de centros germinales linfoides en tejido no linfático presente en el 25 a 30% los pacientes con SSP, sin embargo, ellos no realizaron ningún estudio de asociación genética.<sup>12</sup> Finalmente, Lindén *et al.* en el 2017 refieren que los *loci* de rasgos cuantitativos de expresión (eQTL) representan una parte sustancial de los efectos genéticos causales de la enfermedad de acuerdo al género, favoreciendo su presencia en mujeres; el efecto más significativo se encontró en *BANK1*.<sup>13</sup>

## 1. *BANK 1: localización genética, estructura, expresión y función proteínica*

El gen *BANK1* se encuentra en el cromosoma 4 y codifica para la proteína BANK1, proteína andamiaje formada por 785aa (isoforma de longitud completa). Esta proteína es expresada principalmente en células B, y su función es mediar señales intracelulares las cuales culminan con la activación de factores de transcripción nucleares responsables de la función efectora de las células B (Figura 1), este evento lo realiza a través de dos vías: la primera implica la movilización de calcio de las cisternas intracelulares inducida por el receptor de células B (BCR, del inglés B-cell receptor) y la segunda promueve la fosforilación de la cinasa LYN de los receptores de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3R).<sup>2,13,14</sup>

## 2. *BANK1* y activación del linfocito B

El BCR es una inmunoglobulina de membrana y monomérica, la cual pertenece a la súper familia de inmunoglobulinas. La activación de células B a través del BCR causa la fosforilación de *BANK1*, la cual a su vez promueve su asociación con la cinasa LYN, modificando el canal de calcio vía el IP3R, facilitando la fosforilación y activación de este receptor por liberación de calcio del retículo endoplásmico, por lo que conduce a la activación de proteínas dependientes de calcio (calcineurina) activando factores de transcripción (Figura 1).<sup>14</sup>

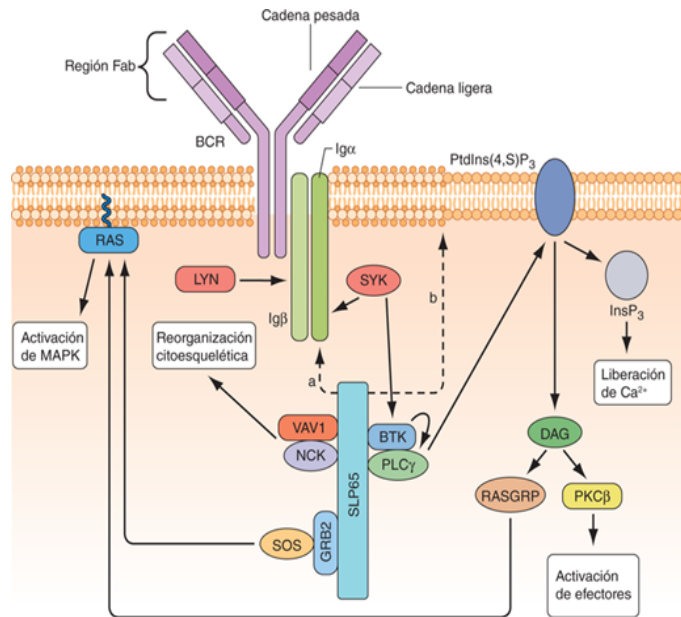


Figura 1. **Participación de BANK1 en la activación de células B.** Tomada de: Abbas A.K. 2018.

### 3. Modelo del impacto biológico de los SNPs de *BANK1* en la señalización y el desarrollo de células B

*BANK1* tiene un papel importante en la señalización y el desarrollo de las células B. Estudios sobre el efecto de las variantes de *BANK1* han mostrado que están asociadas con una disminución en la señalización de células B a través de las enzimas p-PLC $\gamma$  y p-Akt. Por otro lado, también se ha observado una mejora en los niveles de expresión de FOXO1 en AICDA y SELL, los cuales son genes diana de FOXO1. Causando un aumento en las células B de memoria que podrían iniciar la patogénesis de las EA. <sup>16</sup> (Figura 2).



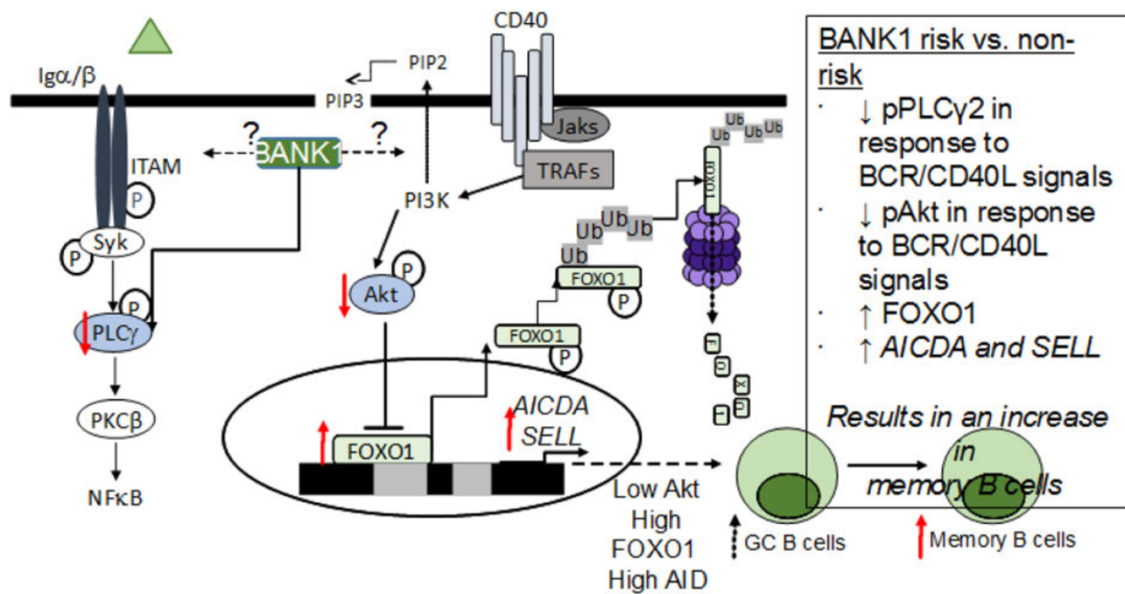


Figura 2. **Modelo del impacto biológico de los SNPs de BANK 1 en la señalización y el desarrollo de células B.** Tomada de: Dam et al. 2016.

#### 4. Polimorfismos de un nucleótido

El SNP no sinónimo rs10516487G/A de *BANK1* es uno de los tres polimorfismos funcionales que ha mostrado una asociación previa con LES. Esta variante se ubica en el exón 2 e influye en la eficiencia del corte y empalme al crear un sitio potenciador de empalme exónico para el factor SRp40. Además, este mismo SNP genera isoformas de BANK1 con propiedades de autoensamblaje diferencial y medible. La isoforma de proteína de longitud completa, que contiene la variante R61, forma complejos de armazón de proteína más grandes en el citoplasma de la célula en comparación con la variante protectora *BANK1-61H*. También se ha demostrado que, contrariamente a la isoforma de longitud completa, la isoforma  $\Delta 2$  corta de *BANK1* muestra una distribución citoplasmática homogénea, lo que subraya el papel potencial del dominio de la proteína codificada por el exón 2 en la función de andamiaje de BANK1.<sup>17</sup>

Otra variante funcional no sinónimas es el rs3733197G/A, le cual se encuentra en el exón 7. Este SNP causa una sustitución de alanina por treonina en la posición de aminoácido 383.<sup>17</sup> Respecto a esta variante se sabe poco a nivel funcional.

De esta manera, debido a que solo un estudio ha evaluado de manera directa el papel de *BANK1* en pacientes con SSPy en el cual no se identificó ninguna asociación, nosotros decidimos evaluar las variantes R61H y A383T de *BANK1* en una muestra de pacientes mexicanos con SSP. Este estudio es importante para contribuir si *BANK1* es importante en la susceptibilidad para esta EA, ya que la población China en donde previamente no se identificó ninguna asociación es diferente desde el punto de vista genético a la población mexicana. Además, este estudio ayudará a comprender si parte del factor genético se comparte entre EA, dado que nosotros previamente identificamos y publicamos a estas dos variantes fuertemente asociadas con LES,<sup>20</sup> al mismo tiempo identificamos una fuerte asociación entre estas dos misma variantes de este gen con AR (artículo bajo revisión).

## II. JUSTIFICACIÓN

Actualmente se ha demostrado una asociación del gen *BANK1* con susceptibilidad para LES en prácticamente todas las poblaciones estudiadas, sin embargo, su papel el SSP no ha sido reportado ampliamente; Por otro lado, sus polimorfismos se han asociado con la presencia centros germinales linfoides extraglandulares, lo cual podría aumentar el impacto en la morbimortalidad de estos pacientes por su relación con el desarrollo de manifestaciones sistémicas y linfomas de células B.

Debido a la repercusión en la morbimortalidad del SSP, la identificación de biomarcadores, como genes, es indispensable para la clasificación de fenotipos de

los pacientes con la patología, para la elección óptima del tratamiento, impactando en el pronóstico.

### **III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Las variantes genéticas tipo polimorfismos de un solo nucleótido 10516487C/T (R61H) y rs3733197G/A (A353T) localizadas en el gen *BANK1* están relacionadas con la susceptibilidad a presentar SSP en pacientes mexicanos?

### **IV. HIPÓTESIS**

La presencia de las variantes génicas rs10516487C/T (R61H) y rs3733197G/A (A353T) localizadas en el gen *BANK1* están asociadas de forma positiva con la susceptibilidad para presentar SSP en pacientes mexicanos.

### **V. OBJETIVO**

Determinar si los SNPs 10516487C/T (R61H) y rs3733197G/A (A353T) del gen *BANK1* son factor de susceptibilidad para presentar SSP en pacientes mexicanos.

### **VI. METODOLOGÍA**

#### **a. Diseño de la investigación.**

Estudio de casos y controles

#### **b. Tipo de estudio.**

Observacional, transversal, retrolectivo, comparativo

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

Servicio de Reumatología y Unidad de investigación en enfermedades metabólicas y endócrinas. Inicio: 01/07/2018. Término: 31/05/2019.

### **d. Definición de la Población**

#### **i. Criterios de inclusion**

1. Género femenino
2. Edad mayor a 18 años.
3. Pacientes nacidos en México, cuyos padres y abuelos hayan nacido en México.
4. Atendidos y diagnosticados en los servicios de reumatología del Hospital Juárez de México en el servicio de Reumatología
5. Diagnóstico de SSP de acuerdo a uno de los 3 criterios de clasificación de AECG 2002 – SICCA/ACR 2012 – ACR/EULAR 2016.
6. Consentimiento informado firmado

#### **II. Criterios de exclusión**

1. Co-existencia de otra enfermedad autoinmune
2. Otra enfermedad crónica

#### **III. Criterios de eliminación**

- a. Revocación del consentimiento

## VII. DEFINICIÓN DE VARIABLES

<b>Tabla 4. Definición de variables</b>				
<b>Independiente</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>
Síndrome de Sjögren	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia	Sin criterios de SS	Sin criterios de SS
		Presencia	Con criterios de clasificación de SS	Con criterios de clasificación de SS
<b>Dependiente</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>
Genotipos BANK 1 10516487C/T (R61H) rs3733197G/A (A353T)	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Gen que codifica a la proteína A20	Gen que codifica a la proteína A20

## 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: un error alfa de 0.05; error beta de 0.20; poder de la muestra de 0.80; intervalo de confianza del 95%; un valor de p menor a 0.05, la prevalencia de la enfermedad que es de 0.2% y un modelo genético, el número de muestra es de 87 pacientes con SSP y 487 controles sanos, en una relación de 1:4.

## **IX. DESCRIPCIÓN OPERATIVA**

### **a. Detección de pacientes**

Se detectaron a los pacientes de acuerdo a los criterios de selección, en la clínica de SSP de la consulta externa de reumatología de los días martes y jueves. Se invitaron a los pacientes detectados a participar en el protocolo de investigación, en caso de una aceptación se procedió a la firma del consentimiento informado.

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

Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, en tubos vacumtainer que contienen 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 colocará buffer y proteinasa K (30 microlitros) a la muestra, posteriormente; se incubará 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 agregó 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>15</sup>

#### **d. Genotipificación del gen BANK 1**

Los genotipos de los SNPs 10516487C/T (R61H) y rs3733197G/A (A353T) 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 es 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 contendrán lo siguiente: 2.5 microlitros de master mix 2X, 2.465 de agua y 0.035 microlitros de sonda).
- Las placas serán colocadas posteriormente en un equipo de PCR en tiempo real (de BioRad) durante 45 ciclos, cada ciclo de PCR consistió 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 hará la discriminación alélica para los SNPs 10516487C/T (R61H) y rs3733197G/A (A353T) del gen *BANK1*.

## **X. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico descriptivo se realizó con el software IBM SPSS versión 21 donde se determinarán variables cuantitativas y variables cualitativas. Las variables cuantitativas se determinarán por Media/Mediana y Desviación Estándar/RI; las variables cualitativas se determinarán por Frecuencias 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 de Chi cuadrada.

## **XI. RECURSOS**

Equipo médico del servicio de reumatología, servicio de oftalmología, auxiliares e investigadores de la Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas y Endócrinas.

## **XII. RESULTADOS**

### Tamaño de muestra

Se incluyeron 106 pacientes del sexo femenino (100%); la media de edad fue de 58.9 años (desviación estándar, DS, 12.11); en niveles de escolaridad sin educación básica 10 (2.4%), preescolar 6 (1.9%), primaria 18(17%), secundaria 29 (27.4%), bachillerato 24 (27%), licenciatura 20 (18.9%).

### Antecedentes heredofamiliares

De los antecedentes heredofamiliares se interrogó sobre familiares de primer y segundo grado de consanguinidad (padre, madre, abuelos y hermanos) portadores



de EA; el 23.6% (25 pacientes) contaban con algún familiar con SSP, AR y LES. La frecuencia de antecedentes familiares con SSj fue de 8 (7.5%), para AR fue de 24 (22.6%) y para LES fue de 3(2.8%).

#### Antecedentes personales patológicos

Dentro de los antecedentes personales patológicos, en lo que respecta al hábito tabáquico, 14 (13.2%) pacientes habían fumado en los últimos 20 años; con índice tabáquico promedio de 13.2 (DE 5.6). Con riesgo nulo para desarrollar enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) 104 (98.1%) pacientes, riesgo moderado 1 (0.9%), riesgo intenso 1 (0.9%) pacientes.

#### Comorbilidades

Otras comorbilidades: 6 (5.7%) pacientes tuvieron diabetes tipo 2, 23 (21.7%) presentaron hipertensión arterial, 19 (17.9%) con hipotiroidismo, 2 (1.9%) tuvieron hipertiroidismo, 33 (31.1 %) con dislipidemia y 8 (7.5) cursaron con infección activa.

#### Sintomatología

La sintomatología más común en el SSP se dividió en: síntomas presentados al inicio, durante el transcurso y en los últimos 3 meses de enfermedad. 11 (10.4 %) pacientes presentaron 2 o más episodios de fiebre al inicio de la enfermedad y 1 (0.9%) en el transcurso de la enfermedad, 8 (7.5%) en los últimos tres meses; 7 pacientes (6.6 %) presentaron diaforesis nocturna al inicio de la enfermedad, 25 (23.6%) en los últimos 3 meses y 18 (17%) en el transcurso de la enfermedad; 6 pacientes (5.7%) tuvieron pérdida de peso sin explicación al inicio de la enfermedad, 14 (13.2%) en los últimos 3 meses y 14 (13.2%) en el transcurso de la enfermedad; 16 pacientes (15.1%) presentaron fatiga al inicio de la enfermedad, 27 (25.5%) en los últimos 3 meses y 32 (30.2%) en el transcurso de la enfermedad; 26 (24.5%)

pacientes manifestaron dolor articular al inicio, 25 (23.6%) en los últimos 3 meses y 15 (14.2%) en el transcurso de la enfermedad; 15 (14.2%) pacientes presentaron artritis al inicio, 14 (13.2%) en los últimos 3 meses y 16 (15.1%) en el transcurso de la enfermedad; 8 (7.5%) pacientes presentaron fenómeno de Raynaud al inicio, 6 (5.7%) en los últimos 3 meses y 9 (8.5%) en el transcurso de la enfermedad; 12 (11.3%) pacientes presentaron tos no productiva al inicio, 12 (11.3%) en los últimos 3 meses y 14 (13.2%) en el transcurso de la enfermedad; 11 (10.4%) pacientes presentaron tos con expectoración al inicio, 16 (15.1%) en los últimos 3 meses y 11 (10.4%) en el transcurso de la enfermedad; 9 (8.5%) pacientes presentaron disnea al inicio, 18 (17%) en los últimos 3 meses y 20 (18.9%) en el transcurso de la enfermedad; 10 (9.4%) pacientes presentaron más de 3 episodios de infección de vías respiratorias superiores en un año al inicio, 13 (12.3%) en los últimos 3 meses y 12 (11.3%) en el transcurso de la enfermedad; 16 (15.1%) pacientes presentaron sequedad de mucosa nasal al inicio, 34 (32.1%) en los últimos 3 meses y 33 (31.1%) en el transcurso de la enfermedad; 28 (26.4%) pacientes presentaron sequedad vaginal al inicio, 22 (20.8%) en los últimos 3 meses y 33 (31.1%) en el transcurso de la enfermedad; 31 (29.2%) pacientes presentaron sequedad de piel al inicio, 30 (28.3%) en los últimos 3 meses y 42 (39.6%) en el transcurso de la enfermedad.

### Tratamiento

Para el tratamiento recibido, 96 (90.6 %) pacientes habían recibieron lubricante ocular, 26 (24.5%) lubricante oral, 23 (21.7%) lubricante vaginal y 64 (60.4%) lubricante en piel. En cuanto a tratamiento sintomático, 18 (17%) pacientes habían recibieron tratamiento para mucosas, 52 (49.1%) síntomas músculo-esqueléticos; 54 (50.9%) recibieron hidroxiclороquina (HCQ) en el transcurso de la enfermedad, 41 (38.7%) metotrexate (MTX), 1 (0.9%) ciclosporina (CYA), 2 (1.9%) glucocorticoides (GC) 36 (34%), 2 (1.9%) pacientes con Ciclofosfamida, 2 (1.9%) rituximab y 3 (2.8%) micofenolato de mofetil.

### Actividad de la enfermedad

Para valor actividad de la enfermedad se valoraron los dominios descritos en el ESSDAI reportándose por cada uno: dominio constitucional 17 (16%) de los pacientes, dominio linfático 30 (28.3%) de los pacientes, dominio glandular 27 (25.5%) de los pacientes, dominio articular 55 (51.9%) de los pacientes, dominio cutáneo 1 (0.9%) en un paciente, dominio pulmonar 1 (0.9%) en un paciente, dominio renal 1 (0.9%) en un solo paciente; no se evidenció actividad en el dominio muscular, SNC, SNP, hematológico y biológico.

**Tabla 5. Interpretación ESSDAI**

	Frecuencia	Porcentaje
Válido Sin actividad	101	95.3
Actividad	5	4.7
Total	106	100.0

### Frecuencias genotípicas-alélicas y estudios de asociación de las variantes R61H y A383T de *BANK1* en casos y controles.

El tamaño de muestra para los controles fue de 487. La edad promedio fue de 51 años ( $\pm 8.2$ ). Ninguno de ellos tuvo antecedentes heredofamiliares de EA, enfermedades inflamatorias que incluye obesidad, urticaria, diabetes tipo 2, asma, cáncer, etc. Además, se incluyeron 106 paciente con SSP del centro de México. Todo lo que va subrayado en esta sección sugiero eliminarlo debido a que esto debe ir en criterios de inclusión, exclusión y eliminación de los controles.

Las frecuencias genotípicas y alélicas de las dos variantes de *BANK1* evaluadas en este estudio se muestran en la tabla .... Los datos indican que la frecuencia del alelo común del SNP rs10516487G/A es mucho más frecuente en los casos (94.4%) versus controles (84.1%). Esta diferencia en porcentaje alcanza una p

estadísticamente significativa. De esta manera, el alelo G está asociado con susceptibilidad para desarrollar SSP (Tabla 6.). También el genotipo GG de este mismo SNP mostró una débil asociación con susceptibilidad para SSP (Ver tabla 6)

Tabla 6. Frecuencia genotípicas y alélicas de los SNPs rs10516487G/A y rs3733197G/A de *BANK1* en pacientes con SSP y controles, además del análisis de asociación.

**Tabla 6. Genotipificación de *BANK1* en pacientes con SSP mexicanos y controles**

	Genotipo o alelos	SSp, n=106 n (%)	Controles, n=487 n (%)	OR	95 % IC	Valor <i>p</i>
BANK1 rs10516487 R61H	GG	95 (88.078)	347 (71.3)	3.08	0.17-54.75	0.232
	GA	11 (11.21)	125 (25.7)	8.52	0.50-143.68	<b>0.043*</b>
	AA	0 (0.0)	15 (3.0)	--	--	--
	G	202 (94.4)	819 (84.1)	3.18	1.73-5.84	<b>9x10<sup>-5</sup>*</b>
	A	11 (5.6)	155 (15.9)			
BANK1 rs3733197 A383T	GG	66 (64.1)	307 (63.0)	7.78	1.03-58.88	<b>0.020*</b>
	GA	35 (34.9)	148 (30.4)	6.88	0.92-51.24	<b>0.029*</b>
	AA	1 (1.0)	32 (6.6)	--	--	--
	G	167 (100.0)	762 (99.1)	1.23	0.838-1.805	0.289
	A	0 (0.0)	212 (0.9)			

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

### XIII. DISCUSIÓN

En este trabajo se observó una edad promedio de afección concordante con los reportes a nivel internacional, con predominio en edad perimenopáusica,<sup>7</sup> En cuanto al nivel de educación con mayor prevalencia acumulada fue el nivel secundaria, aumenta la prevalencia posterior a los 8 años de educación lo cual puede encontrarse asociado a la falta de identificación de síntomas del paciente y la búsqueda de atención médica.

De acuerdo a los antecedentes heredofamiliares interrogados la EA con mayor frecuencia fue AR. Tanto SSP como LES presentaron una frecuencia similar.

Dentro de los antecedentes personales patológicos el 98.1% de los pacientes contaba con índice tabáquico con riesgo nulo para el desarrollo de EPOC; por lo que la prevalencia de afección pulmonar en nuestra población no se encuentra asociada por el antecedente de tabaquismo. La diabetes mellitus tipo 2 y dislipidemias son las comorbilidades más frecuentemente encontradas en nuestra población esto por la alta prevalencia en nuestro país de síndrome metabólico.

La medición de actividad de la enfermedad se realizó a través de la valoración de los 12 dominios del ESSDAI, con lo que pudimos concluir que el 5.7% de los pacientes revisados cursaron con actividad en los últimos 6 meses, predominando del dominio articular y glandular.

Respecto a las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs10516487G/A de *BANK1* estas presentaron diferencias en porcentajes y también mostraron diferencias estadísticamente significativas en casos y controles. Nuestros datos mostraron que usando los modelos alélicos y teniendo en cuenta el alelo común o los genotipos comunes, este polimorfismo se asoció con la susceptibilidad para SSP.. Por otro lado, los genotipos *BANK1* rs3733197 (A353T) GG (AA vs GG) y GA (AA vs AG) mostraron asociación con SSP (OR 7.78 y valor de  $p=0.02$ , así como un OR 6.88 y un valor de  $p= 0.029$ , respectivamente). Nuestros datos muestran resultados de asociación con susceptibilidad entre *BANK1* y SSP. De esta manera, este es el primer estudio que muestra una asociación entre este *locus* y susceptibilidad para SSP. Algunas limitantes de nuestro estudio es el bajo tamaño de muestra de los pacientes con esta EA (106 pacientes), la ausencia de marcadores informativos de ancestría y la evaluación de la correlación entre

variantes genéticas y por ejemplo xerostomia y xeroftalmia, entre otros rasgos clínica y serológicos del SSP. De esta manera, es necesario que otros investigadores alrededor del mundo evalúen variantes de *BANK1* incluyendo la R61H para determinar si es un factor de riesgo reproducible en las poblaciones diferentes a la China, en la cual previamente se reportó una no asociación con SSP.

11

#### **XIV. CONCLUSIONES**

Este es el primer estudio que muestra una asociación entre las variantes rs10516487 (R61H) y rs3733197 (A353T) del gen *BANK1* y la susceptibilidad de presentar SSP.

En el 2013 Sun et al.<sup>11</sup> reporta no encontrar asociación entre la susceptibilidad de presentar SSP y 3 SNP del gen *BANK 1* en una población China. Se tienen que realizar estudios más amplios para conocer si la diferencia de asociación es una característica de la población mexicana.

Es necesario ampliar este estudio para conocer la asociación de estas variantes genéticas con las características clínicas de la enfermedad en esta población; se ha descrito una mayor frecuencia de manifestaciones extraglandulares y presentación de linfomas de células B, con gran impacto en la morbimortalidad de la enfermedad. Lo cual marca la importancia de determinar este biomarcador para la clasificación de fenotipos de los pacientes y la elección óptima del tratamiento, de acuerdo al pronóstico.

#### **XV. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El protocolo se realizó 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

apegó a los principios de la asamblea médica mundial para la investigación en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki.

Esta investigación se categorizó con un riesgo mínimo debido a que se extrajo un volumen de sangre de 12ml por punción venosa en adultos hemodinámicamente estables en una ocasión. Este estudio requerirá consentimiento informado por escrito.

Proyecto aprobado por el comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México.

## **XVI. BIBLIOGRAFÍA**

1. Mariette X, Criswell L. Primary Sjögren's Syndrome. *N Engl J Med* 2018;378:931-9
2. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis* 2017;76:9-16
3. Brito-Zerón P, Theander E, Baldini C, Seror R, Retamozo S, Quartuccio L, et al. Early diagnosis of primary Sjögren's syndrome: EULAR-SS task force clinical recommendations. *Expert Rev Clin Immunol* 2016;12:137-56
4. Both T, Dalm V, Van Hagen PM, Van Daele PL. Reviewing primary Sjögren's syndrome: beyond the dryness. From pathophysiology to diagnosis and treatment. *Int J Med Sci* 2017;14:191-200
5. Tom S. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology. Volume 44. 10th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2017.
6. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *CMAJ* 2014;21:186-15
7. Qin B, Wang J, Yang Z, Yang M, Ma N, Huang F, Zhong R. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1983-9
8. Mariette X. Therapeutic potential for B-cell modulation in Sjögren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:1025-33
9. Scofield RH. Genetics of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:448-53
10. Segal BM, Nazmul-Hossain AN, Patel K, Hughes P, Moser KL, Rhodus NL. Genetics and genomics of sjögren's syndrome: research provides clues to pathogenesis and novel therapies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;111:673-80



11. Sun F, Xu J, Wu Z, Li P, Chen H, Su J, et al. Polymorphisms in the *FAM167A-BLK*, but not *BANK1*, are associated with primary Sjögren's syndrome in a Han Chinese population. *Clin Exp Rheumatol* 2013;31:704-710
12. Reksten TR, Johnsen SJ, Jonsson MV, Omdal R, Brun JG, Theander E, et al. Genetic associations to germinal centre formation in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1253–1258
13. Lindén M, Ramírez J, Sepúlveda J, James T, Gudny E, Brauner S, et al. Sex influences eQTL effects of SLE and Sjögren's syndrome-associated genetic Polymorphisms. *Biol Sex Differ* 2017;8:34-12
14. Castillejo-López C, Delgado-Vega A, Wojcik J. Genetic and Physical Interaction of the B-Cell SLE-Associated Genes *BANK1* and *BLK*. *Ann Rheum Dis* 2012;71:136–142
15. Bernal-Quirós M, Wu Y-Y, Alarcón-Riquelme ME, Castillejo-López. *BANK1* and *BLK* Act through Phospholipase C Gamma 2 in B-Cell Signaling. *PLoS ONE* 2013;8:e59842.
16. Dam E, Habib T, Chen J, Funk A, Glukhova V, Davis-Pickett M, et al. The bank1 SLE-risk variants are associated with alterations in peripheral B cell signaling and development in humans. *Clin Immunol* 2016;173:171–180
17. Kozyrev S, Bernal-Quirós M, Alarcón-Riquelme, M, Castillejo-López C. The Dual Effect of the Lupus-Associated Polymorphism rs10516487 on *BANK1* gene Expression and Protein Localization. *Genes Immun* 2012;13:129-38
18. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. *Diario Oficial de la Federación* febrero 2003
19. Imgenberg-Kreuz J, Rasmussen A, Sivils K, Nordmark G. Genetics and epigenetics in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;15:1-14

20. Ramírez-Bello J, Jiménez-Morales S, Montufar-Robles I, Fragoso J, Barbosa-Cobos RE, Saavedra M. *BLK* and *BANK1* polymorphisms and interactions are associated in Mexican patients with systemic lupus erythematosus. *Inflamm Res* 2019;68:705-713

## XVII. ANEXOS



Hospital Juárez de México  
Dirección de Investigación y Enseñanza  
Comité de Ética en Investigación



### COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

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

##### Título del protocolo:

"Evaluación de variantes genéticas de *BANK 1* y susceptibilidad de presentar síndrome de Sjögren primario en pacientes mexicanos"

El Investigador que informa: **Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos**, del Servicio de Reumatología del Hospital Juárez de México.

Teléfono: (55) 57477560 de 07:30 – 17:00

Persona a quien se informa: ....., de ..... de edad, con y domicilio en calle ....., núm. ....

Delegación o Municipio.....CP:.....

Muestra:

- Sangre x
- 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 **Síndrome de Sjögren Primario**

• 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 sangre o por otros problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo.

El estudio se realizará por entero en el Hospital Juárez de México, que constituye la comisión científica de Investigación, y que está ubicado en Av. Instituto Politécnico Nacional N° 5160, Col. Magdalena de las Salinas, Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07760, México D.F.

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, **Dra. Rosa Elda Barbosa Cobo**, pueda utilizar la muestra biológica para la investigación de la patología cuyo diagnóstico se pretende y en otras líneas de investigación relacionadas con aquella.

- 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**  
**No lo acepto.**

- Que el responsable de la investigación será **Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos** 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...201...

**Nombre y firma Investigador responsable**\_\_\_\_\_

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

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