



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**EVALUACIÓN DE VARIANTES DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL
rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 DEL GEN *ETS1* Y SU
ASOCIACIÓN CON SUSCEPTIBILIDAD PARA PRESENTAR
ARTRITIS REUMATOIDE**

PRESENTA:

Evelyn Aranda Cano

TESIS

Que para obtener el título de
Especialista en Medicina Interna

DIRECTORES DE TESIS:

Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos

Dra. Isela Montufar Robles

Facultad de Medicina

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. 2022





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

Título de la tesis:

**EVALUACIÓN DE VARIANTES DE UN SOLO NUCLEÓTIDO
rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 DEL GEN *ETS1* Y SU
ASOCIACIÓN CON LA SUSCEPTIBILIDAD PARA PRESENTAR
ARTRITIS REUMATOIDE**

Número de registro:

HJM 151/21-R


Dra. Evelyn Aranda Cano

TESISTA


Mtra. Rosa Eida Barbosa Cobos

DIRECTORA DE TESIS


Dra. Isela Montuñar Robles

DIRECTORA METODOLÓGICA DE TESIS


Dra. Erika Gómez Zamora

SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO


Dr. Erik Efraín Sosa Duran

JEFE DEL SERVICIO DE POSGRADO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

No soy un hombre que sabe. He sido un hombre que busca y lo soy aún.

Hermann Hesse

Dedico de manera especial a mi hermana **Nancy**, la mujer más importante en mi vida y mi mayor inspiración, a través de su ejemplo aprendí la responsabilidad, pasión y entrega a mi profesión.

Me faltaría una vida más para llegar a ser como tú. Te amo.

Para mamá por darme todas las herramientas necesarias para mi crecimiento.

Para Abue por mantenerme fuerte en alma y cuerpo, por enseñarme la importancia del esfuerzo total aun cuando las probabilidades estén en tu contra.

Para todos los pacientes del Hospital Juárez de México que me permitieron aprender a través de su malestar. Por enseñarme que el hecho más aterrador del universo no es que pueda ser hostil sino indiferente.

Gracias

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. MARCO TEÓRICO.....	7
1.1. Artritis Reumatoide.....	7
1.1.1 Definición.....	7
1.1.2 Epidemiología.....	7
1.1.3 Etiopatogenia.....	7
1.1.4 Manifestaciones clínicas.....	10
1.1.5 Diagnóstico.....	11
1.2 Gen <i>ETS-1</i>	13
1.2.1 Definición.....	13
1.2.2 Estructura.....	13
1.2.3 Expresión.....	14
1.2.4 Regulación de la expresión del gen <i>ETS-1</i>	15
1.2.5 Funciones de <i>ETS-1</i>	15
1.2.6 <i>ETS-1</i> y enfermedades autoinmunes.....	16
1.2.7 Artritis Reumatoide y <i>ETS-1</i>	17
2. JUSTIFICACIÓN.....	18
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	19
4. HIPÓTESIS.....	19
5. OBJETIVOS.....	19

6. METODOLOGÍA	20
6.1. Diseño de la investigación.....	20
6.2. Tipo de estudio.....	20
6.3. Ubicación temporal y espacial.....	20
6.4. Diseño de la población.....	20
6.5. Operacionalización de variables.....	21
6.6. Calculo de tamaño de la muestra.....	22
6.7. Descripción operativa.....	22
7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	25
8. RECURSOS.....	26
9. ASPECTOS ÉTICOS.....	26
10. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD.....	26
11. RESULTADOS.....	27
12. DISCUSIÓN.....	29
13. CONCLUSIÓN.....	33
14. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	34
15. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	35
16. ANEXOS.....	38

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Artritis Reumatoide

1.1.2 Definición

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad articular inflamatoria crónica de naturaleza autoinmune caracterizada por la presencia de autoanticuerpos frente a inmunoglobulina G [factor reumatoide (RF) y proteínas citrulinadas¹

1.1.3 Epidemiología

La mayoría de los estudios epidemiológicos sobre AR se han realizado en países occidentales y muestran una prevalencia en el rango de 0.5 a 1.0% en individuos de raza blanca. Sin embargo, la prevalencia de AR difiere entre las etnias¹.

En México, se estima que la AR tiene una prevalencia del 1.6% y afecta principalmente al grupo etario con mayor capacidad laboral y productiva, lo que se ve reflejado en altos índices de discapacidad laboral y pensión por invalidez, impactando de manera negativa en la economía. Es más prevalente en mujeres con una relación 6:1 respecto a los hombres.².

1.1.4 Etiopatogenia

Ha sido postulado que un trasfondo genético de alto riesgo, en combinación con marcas epigenéticas y exposiciones ambientales, conduce a una cascada de eventos que inducen sinovitis y la consiguiente artritis destructiva³

Los factores de riesgo de la enfermedad los constituyen factores genéticos y no genéticos, los primeros confieren un riesgo de 40% y los últimos de 60%¹

Factores no genéticos

Sexo femenino

Las mujeres tienen dos a tres veces más probabilidades de desarrollar AR que los hombres. Se vuelven más sintomáticas alrededor de la mediana edad o en el momento de la menopausia¹

Tabaquismo

El tabaquismo aumenta el riesgo de AR, se ha identificado una duplicación del riesgo de presentar esa artropatía inflamatoria con un historial de consumo de 20 paquetes año en comparación con los no fumadores. La asociación es más fuerte cuando se encuentran anticuerpos antipeptido cíclico citrulinado positivos.

La interacción del epítipo compartido y el tabaquismo puede aumentar el riesgo en 20 veces o más en comparación con los no fumadores. El aumento del riesgo puede estar asociado con modificaciones epigenéticas ya que se asocia con hipometilación del DNA¹.

Microbiota

La enfermedad periodontal se asocia con un mayor riesgo de desarrollar AR, se cree que la asociación está mediada por microbiota oral como *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

La diversidad de la microbiota intestinal disminuye en las personas con AR en comparación con la población en general. La infección por Epstein Barr se ha asociado con la AR y otras enfermedades autoinmunes¹

Ocupacionales

La exposición a sílice es un factor de riesgo para desarrollar AR. En mujeres de Malasia se identificó una asociación significativa entre la exposición a polvo de textil y artritis reumatoide ¹

Otros factores

Entre otros factores de riesgo para presentar AR se encuentran la obesidad y el nivel socioeconómico bajo. El consumo de alcohol moderado a largo plazo redujo el riesgo de desarrollarla ¹

Factores genéticos

Los factores genéticos, los cuales pueden ser HLA y no HLA tienen el mayor peso en el riesgo de presentación de la enfermedad. Los gemelos idénticos muestran una concordancia de enfermedad de 12 al 15%.

Múltiples estudios confirman la asociación de la AR con algunos alelos del HLA-DR en la mayoría de las etnias. El HLA DRB1 0401 y 0404 se encuentran sobre todo en raza caucásica del norte de Europa y Estado Unidos de Norteamérica, mientras que el DR 0405 es más frecuente en japoneses, chinos, coreanos e indios⁴

El análisis de los alelos asociado con la AR en diferentes etnias puso en evidencia que compartían una secuencia de aminoácidos en la tercera región hipervariable de la cadena beta, que recibió el nombre de epítoto compartido.

Se han revelado diferencias genéticas entre la AR con anticuerpos antipeptido cíclico citrulinado positivos y negativos. Variantes de HLA DRB1, PTPN22, BLK, ANKRD55 e IL6ST se asocian con AR independientemente del estado serológico, mientras que AFF3, CD28 y TNFAIP3 se encuentran solo en seropositivos y PRL en conjunto con NFIA se encuentra solo en seronegativos⁵

La epigenética, incluida la metilación del DNA y la acetilación de histonas, cuentan con un papel importante en el desarrollo de la AR. La metilación del DNA proporciona un mecanismo a través del cual los factores ambientales pueden inducir cambios en la actividad celular¹

1.1.5 Manifestaciones clínicas

La AR es una enfermedad autoinmune sistémica con múltiples manifestaciones. La expresión principal de la enfermedad ocurre en los tejidos sinoviales y se caracteriza por inflamación poliarticular simétrica que puede dar lugar a una lesión progresiva de la articulación.

Artritis reumatoide preclínica

El periodo de autoinmunidad que precede a los signos y síntomas articulares iniciales de la enfermedad se caracteriza a menudo por presencia de inflamación subclínica, que se refleja con el aumento de las concentraciones séricas de proteína C reactiva y otras citocinas y quimiocinas proinflamatorias.

Las artralgiyas anuncian el final de la enfermedad preclínica y con frecuencia precede a la sinovitis detectada mediante exploración física.

Artritis reumatoide

El paciente habitual presenta afección en pequeñas articulaciones de las manos, muñecas y pies, el patrón articular es a menudo simétrico y este acompañado de rigidez matutina que puede durar varias horas. Presentan síntomas sistémicos como fatiga, febrícula. Aunque todas las articulaciones periféricas pueden estar afectadas, llama la atención la ausencia de afección en articulaciones interfalángicas distales y axiales. La exploración física generalmente revela tumefacción, hipersensibilidad, hipertermia y limitación en la amplitud del movimiento, puede encontrarse eritema palmar y nódulos subcutáneos en superficies extensoras.

Como enfermedad sistémica se asocia también a manifestaciones en otros órganos y sistemas⁶

1.1.6 Diagnóstico

El diagnóstico de la AR es un proceso altamente individualizado. Aunque no existen criterios de diagnóstico, en septiembre del 2010 se publican los nuevos criterios de clasificación para artritis reumatoide ACR/EULAR. Estos criterios tienen una sensibilidad entre el 79 y el 80%, con una especificidad entre el 90 y el 93%. Un paciente será clasificado con Artritis reumatoide si la suma total es igual o superior a 6 puntos.⁷

Afectación articular	
1 articulación grande afectada	0
2-10 articulaciones grandes afectadas	1
1-3 articulaciones pequeñas afectadas	2
4-10 articulaciones pequeñas afectadas	3
10 articulaciones pequeñas afectadas	5
Serología	
FR y ACPA negativos	0
FR y/o ACPA positivos débil (3 VN)	2
FR y/o ACPA positivos fuerte (3 VN)	3
Reactantes de fase aguda	
VSG y PCR normales	0
VSG y/o PCR elevadas	1
Duración	
Menor 6 semanas	0
Mayor 6 semanas	1
ACPA: anticuerpos contra péptidos citrulinados; FR: factor reumatoide; PCR: proteína C reactiva; VN: valor normal; VSG: velocidad de sedimentación globular.	

Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against

Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010 Sep;62(9):2569-81

1.2 Gen *ETS-1*

1.2.1 Definición

El factor de transcripción proto-oncogen 1 o ETS1, es un miembro de la familia de factores de transcripción que comparte un dominio de unión para el DNA. El nombre de ETS proviene de una secuencia que fue detectada en un virus de la eritroblastosis aviar.⁸

La actividad de unión al DNA de ETS1 está controlada por cinasas y factores de transcripción que controlan la expresión de genes críticos para varios procesos biológicos, incluida la proliferación, diferenciación, desarrollo, transformación y apoptosis celular.

1.2.2 Estructura

En los seres humanos, los genes *ETS1* y *ETS2* se encuentran ubicados en dos cromosomas distintos, *ETS1* se ubica en el cromosoma 11 y *ETS2* en el cromosoma 21. La proteína ETS1 se divide en seis dominios, A-F. El dominio E es el de unión al DNA, el dominio D y F son reguladores del dominio E. El A y B también son dominios reguladores, mientras que el dominio C es el dominio de activación de p54c-ETS1 y p42c-ETS1.

El dominio ETS está compuesto por 85 aminoácidos; comprende tres hélices α y cuatro hebras β que están dispuestas en el orden H1-S1-S2-H2-H3-S3-S4, reconocen específicamente secuencias de DNA que contienen GGAA / T.⁹

1.2.3 Expresión

Es producido por una gran cantidad de tejidos, por ejemplo, en el linfocito y hematopoyético se encuentra presente en células T y B en todas sus etapas de desarrollo, en células natural killer, así como células eritroides, aumentando su presencia durante su diferenciación. También se detecta en células endoteliales y células de musculo liso vascular, por medio de factores angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial (VEGF), el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), angiotensina II, endotelina I, factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y peróxido de hidrogeno, promueve la activación, migración y proliferación de estas células. Por lo tanto, la expresión de *ETS-1*, estimula la angiogénesis.

La expresión de *ETS-1* se encuentra en el estroma vascular de las lesiones cancerosas, relacionada con la densidad de vasos tumorales, así como en una variedad de tumores sólidos como: epiteliales, sarcomas y astrocitomas, así mismo, se ha relacionado con un mayor riesgo de metástasis hacia ganglios linfáticos en el caso de cáncer de células escamosas, pulmón y colorrectal.

Está presente en otros tejidos como células del ovario, estrelladas hepáticas, estromales y glandulares del endometrio durante el ciclo menstrual, en hueso pero no en células del cartílago.⁹

1.2.4 Regulación de la expresión del gen *ETS-1*

El promotor de *ETS-1* contiene elementos positivos y negativos. Entre ellos se ha reconocido a receptores de ácido retinoico y el factor HIF 1 inducido por hipoxia que activan la transcripción de *ETS-1*. La síntesis de *ETS-1* se encuentra inducida por factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y $TNF\alpha$, a través de las vías de activación Ras/Raf/MEK1/ERK1/2. En algunos tumores como cáncer de mama, melanoma y osteosarcoma, su expresión se encuentra regulada por MAP quinasa p38. Mientras que p53 y el ácido retinoico inhiben su expresión.

1.2.5 Funciones de *ETS-1*

ETS1 tiene un papel importante en el desarrollo de tejido linfoide, por ejemplo, induce la expresión del gen de la cadena pesada de inmunoglobulinas en células B, promueve la activación de linfocitos T y el desarrollo de células natural killer. Juega un importante papel en la regulación de JAK 3, una tirosin-cinasa presente en las células hematopoyéticas y es importante para la activación mediada por citocinas.

Tiene potencial oncogénico debido a que induce la expresión para ciertas proteasas, tales como las metaloproteasas de matriz MMP-1, MMP-3, MMP-9 y el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), que juegan un papel importante en la invasión tumoral.

Se encuentra bien documentado que se requiere *ETS-1* para que las células endoteliales promuevan un fenotipo angiogénico en los vasos sanguíneos, regula la producción de VEGF. *ETS-1* actúa de forma sinérgica con p53 para activar genes

pro- apoptóticos, induce la expresión de caspasa 1, hace que las células sean más susceptibles a la apoptosis a través de Fas. Interactúa con Pit 1, que es un factor de transcripción presente en la glándula pituitaria anterior y ayuda a promover la producción de prolactina.⁹

1.2.6 *ETS-1* y enfermedades autoinmunes

Polimorfismos del gen *ETS 1* también se han identificado como alelos de susceptibilidad en muchas enfermedades autoinmunes e inflamatorias como: artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, espondilitis anquilosante, dermatitis atópica y enfermedad celiaca.

Estudios previos han demostrado que ratones Knockout para el gen *ETS 1*, desarrollan una enfermedad similar a lupus, caracterizada por títulos altos de autoanticuerpos IgM e IgG, glomerulonefritis mediada por complejos inmunes y activación del complemento. Además de esto, el gen *ETS-1* está involucrado en alteraciones tales como regulación negativa de células Th-17 y diferenciación de células B, procesos implicados en la patogénesis de lupus eritematoso sistémico¹⁰

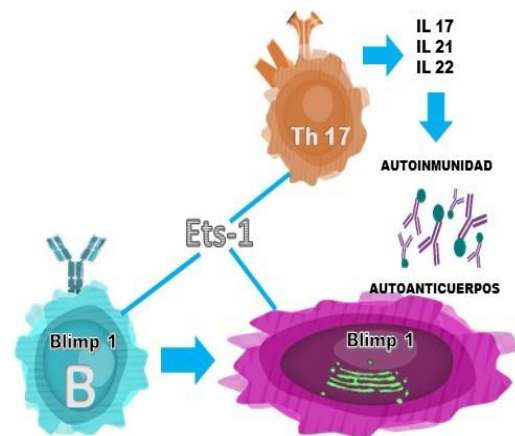


Figura 1. Rol de *ETS 1* en la regulación de Th 17, células B y autoinmunidad.

Modificado de: Pan HF, Leng RX, Tao JH, Li XP, Ye DQ. Ets-1: a new player in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus? *Lupus*. 2011 Mar;20(3):227-30.

Dos estudios de asociación amplia del genoma completo realizados en pacientes chinos con Lupus eritematoso sistémico, mostraron que polimorfismos en el gen ETS-1 se asocian con susceptibilidad a lupus eritematoso sistémico.

Por otro lado ETS-1 bloquea la función de Blimp-1, un factor de transcripción esencial de las células plasmáticas.

Sin embargo el papel inhibitor de EYS-1 quedó revelado en la diferenciación de células Th17, como es mostrado en la figura 1, lo cual sugiere que el gen Ets-1 tiene un papel muy importante en la susceptibilidad de lupus eritematosos sistémico. Con base en estudios in vitro e in vivo, se puede sugerir que ETS-1 tiene un potencial terapéutico sobre las enfermedades autoinmunes, específicamente sobre lupus eritematoso sistémico, lo cual podría contribuir al desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos. Sin embargo son necesario más estudios genéticos en diferentes poblaciones para explorar de manera integral el papel y el potencial terapéutico de este gen en pacientes con lupus¹¹.

1.2.7 Artritis Reumatoide y *ETS-1*

Es importante recordar que dentro de la membrana sinovial se lleva a cabo los cambios patogénicos de la enfermedad, primero existe una expansión y activación de las células sinoviales que son fuente importante de citocinas y proteasas. Las células sinoviales producen una variedad de citocinas proinflamatorias incluyendo IL 1, IL 6, y TNF α , los cuales han demostrado regularse a la alza por factores de transcripción, uno de ellos es el ETS1, el cual se ha encontrado sobre-expresado

en estudios *in vitro* como en inmunohistoquímica, además de que codifica metaloproteinasas en especial estromelina 1 (MMP3) que forman parte del daño a nivel del cartílago.¹²

Se ha demostrado que ETS1 participa en la diferenciación de osteoblastos y tejido óseo. Existen polimorfismos como el rs11221332, el cual juega un papel importante en la susceptibilidad de AR en caucásicos, así como el rs73013527 relacionado significativamente con la susceptibilidad y la actividad de la enfermedad de la AR en sujetos chinos. El análisis de polimorfismos genéticos sugirió una probable correlación del polimorfismo ETS1 rs73013527 a la concentración sérica de RANKL en pacientes con AR en población china.¹³

2. Justificación

Las variantes de un solo nucleótido del gen *ETS-1* se han identificado como alelos de susceptibilidad en diversas enfermedades autoinmunes e inflamatorias. En AR se han encontrado variantes de un solo nucleótido de *ETS-1* en grupos étnicos caucásicos y chinos que confieren cierta relación con susceptibilidad de la enfermedad, no se ha evaluado la frecuencia alélica y/o genotípica de estas variantes y tampoco se sabe si es un factor asociado con susceptibilidad en otras poblaciones. Por lo anterior, este estudio se considera un avance en la genómica de la artritis reumatoide en nuestra población.

3. Pregunta de investigación

¿Las variantes de un solo nucleótido (SNV) rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 localizadas del gen *ETS1* se asocian con la susceptibilidad para presentar AR?

4. Hipótesis

Las SNV rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 localizadas del gen *ETS1* se asocian con la susceptibilidad para presentar AR.

5. Objetivos

Objetivo primario

Identificar si la SNV rs1128334, rs12575600/ y rs73029013 localizados en el gen *ETS1* se encuentran asociados con la susceptibilidad para presentar artritis reumatoide.

Objetivos secundarios

Determinar la frecuencia de las variantes de un solo nucleótido (SNV) rs1128334, rs12575600/ y rs73029013 localizados en el gen *ETS1* en pacientes con artritis reumatoide e individuos controles no relacionados.

Identificar la asociación de las variantes de un solo nucleótido (SNV) rs1128334, rs12575600/ y rs73029013 localizados en el gen *ETS1* con la susceptibilidad para presentar artritis reumatoide.

6. Metodología

6.1 Diseño de la investigación

Estudio de casos y controles

6.2 Tipo de estudio

Observacional, transversal, comparativo y retrospectivo

6.3 Ubicación temporal y espacial

Fecha de inicio: agosto 2021

Fecha de término: mayo 2022

Servicio de Reumatología, Hospital Juárez de México.

Unidad de Investigación. Hospital Juárez de México.

6.4 Diseño de la población

Casos

Criterios de inclusión

- Diagnóstico de Artritis reumatoide de acuerdo a los criterios de clasificación
ACR/EULAR 2010
- Género femenino
- Edad mayor de 18 años
- Atendidos en el Hospital Juárez de México en el servicio de Reumatología
- Consentimiento informado firmado

Criterios de exclusión

- Otra enfermedad autoinmune

Criterios de eliminación

- Revocación del consentimiento

Controles

Criterios de inclusión

- Género femenino
- Nacidos en México, y que sus padres y abuelos hayan nacido en México
- Edad mayor de 18 años
- Consentimiento informado firmado

Criterios de exclusión

- Enfermedad autoinmune
- Otra enfermedad crónica

Criterios de eliminación

- Revocación del consentimiento

6.5 Operacionalización de variables

Independiente	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
Artritis Reumatoide	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia	Sin criterios de clasificación de AR	Sin criterios de clasificación AR
		Presencia	Con criterios de clasificación de AR	Con criterios de clasificación de AR
Dependiente	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
Genotipos <i>ETS-1</i> rs1128334 rs12575600 rs73029013	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Gen que codifica el factor de transcripción proto-oncogen 1 o <i>ETS-1</i>	Gen que codifica el factor de transcripción proto-oncogen 1 o <i>ETS-1</i>

6.6 Cálculo del tamaño de la muestra

Se realizó con el uso del programa QUANTO, con un error alfa de 0.05; error beta de 0.20; potencia de la muestra de 0.80; intervalo de confianza del 95%; un valor de p menor a 0.05, y tomando en cuenta la prevalencia de Artritis Reumatoide y un modelo genético recesivo, el tamaño de la muestra corresponde a 220 pacientes con Artritis Reumatoide y 440 controles sanos.

6.7 Descripción operativa

Detección de pacientes

Se incluyeron pacientes que cumplieron con los criterios de clasificación 2020 para Artritis Reumatoide, descritos por ACR / EULAR.

Se identificaron aquellos pacientes que cumplieron los criterios de inclusión en la clínica de AR de la consulta externa de reumatología de los días viernes. Se invitó a los pacientes detectados a participar en el protocolo de investigación, si decidieron aceptar, se procedió a obtener la firma del consentimiento informado y con la toma de muestra.

Toma de muestras

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

Extracción de ADN

1. Las muestras contenidas en tubos con EDTA se centrifugaron 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 agregaron 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 agregaron 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 rpm 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 (200 microlitros), se cuantificó el ADN espectrofotométricamente y se realizaron diluciones a 5 ng/microlitro. El DNA diluido se conservó en refrigeración hasta su utilización.

Genotipificación de *ETS-1*

Para determinar los genotipos de esta variante en ambos grupos (casos-contróles), se emplearon sondas TaqMan fluorescentes de genotipificación, las cuales se adquirieron con Applied Biosystems (parte de Thermo Scientific).

Cada vial de reactivo contiene un par de sondas, las cuales identificaron (dado que la sonda es 100% complementaria a la secuencia de DNA donde se encuentra el polimorfismo) un alelo de esta variante bialélica.

Los genotipos se obtuvieron mediante el equipo de tiempo real Bio-Rad CFX Opus, el cual incluyó un detector de fluorescencia.

El equipo mostró en un plot de discriminación alélica, los tres genotipos de esta variante, para ello se emplearon 10 nanogramos de DNA nuclear de cada caso-control y se procedió a realizar los ensayos de amplificación del DNA, el cual incluyó lo siguiente:

- a) 1 ciclo de inicio de 2 minutos a 50 grados centígrados, y 10 minutos a 95 °C.
- b) 40 ciclos de PCR subsecuentes, que incluyó 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C, así como una extensión final de 4°C por cinco minutos.
- c) La liberación de la fluorescencia fue escaneada por el programa del equipo CFX Opus de BIORAD.

7. Análisis e interpretación de los resultados

El análisis estadístico descriptivo se realizó con el software IBM SPSS versión 27 y el inferencial con FINETTI.

Las variables cuantitativas se describieron mediante medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de los datos, las cualitativas mediante frecuencia y porcentaje. Posteriormente se realizó un análisis de homogeneidad entre los grupos de AR y grupo control. Los genotipos se cuantificaron por conteo directo. La prueba estadística que se empleo fue Chi-cuadrado (χ^2).

El valor de OR, IC 95% y el valor de p se obtuvo con el programa FINETTI, el cual además evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg entre genotipos de los SNPs rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 de *ETS-1*

8. Recursos

Equipo médico del servicio de reumatología, auxiliares e investigadores de la división de investigación.

9. Aspectos éticos

El presente protocolo se realizó de acuerdo a lo dispuesto en la Ley General de Salud, en materia de investigación en salud y en materia 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. Se presentará el proyecto al Comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México para su aprobación.

10. Aspectos de bioseguridad

Este trabajo se realizó en el Hospital Juárez de México tomando en consideración lo siguiente:

1. Para todos los procedimientos que se llevaron a cabo en este protocolo, el personal de salud vistió equipo de protección personal (bata, guantes, careta, etc), además de esto, las mesas antes y después de cada procedimiento fueron desinfectadas con solución antiséptica.

2. Antes de la toma de muestra se informó al participante del procedimiento. La toma de muestra se realizó por personal de salud calificado y experto en el área.

Las agujas utilizadas en la toma de muestra fueron desechadas en contenedor rojo de plástico especial para material punzocortante. NOM-052-SEMARNAT-2005, la cual establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y listado de residuos peligrosos.

3. Una vez extraída la capa de leucocitos para extracción de DNA de tubos con anticoagulante, el tubo con la sangre restante se desechó en bolsa roja (desecho RPBI). Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental–Salud ambiental – Residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI)- Clasificación y especificaciones de manejo. Las muestras sanguíneas fueron trabajadas por personal de salud calificado y experto en el área.

11. Resultados

En el grupo de casos se incluyeron 50 mujeres con diagnóstico de AR y en el grupo control 50 mujeres sanas. La media de edad de las pacientes fue de 54 años ($DS \pm 12.42$) y la de los controles fue de 52.7 ($DS \pm 7.9$), la media de años de evolución de la enfermedad fue de 12.86 años ($DS \pm 7.91$), con respecto a la puntuación de actividad fue de 4.20 ($DS \pm 0.97$) y 2.8 ($DS \pm 0.94$) para DAS28-VSG y DAS28-PCR respectivamente.

El resto de las variables evaluadas se describen en la tabla 1.

Las frecuencias alélicas y genotípicas de las SNV rs73029013A/G, rs1128334C/T, rs12575600C/G de los casos y controles, así como el análisis de asociación se describen en la tabla 2

Tabla 1. Características clínicas y tratamiento de 50 pacientes con AR.

Variable	Frecuencia	(%)
Tabaquismo	10	20
Comorbilidades		
Diabetes tipo 2	6	12
Hipertensión arterial sistémica	10	20
Infarto agudo de miocardio	0	0
Nódulos reumatoides	5	10
Factor reumatoide		
Positivo débil*	40	80
Positivo fuerte**	5	10
Anti CCP		
Positivo débil*	5	10
Positivo fuerte**	29	58
Tratamiento		
Hidroxicloroquina	10	20
Metotrexato	22	44
Sulfasalazina	19	38
Leflunomida	20	40
Glucocorticoides	14	28

*Positivo bajo: ≤ 3 veces el valor normal de laboratorio
**Positivo alto: > 3 veces el valor normal de laboratorio

Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes de ETS-1 y análisis de asociación en pacientes con AR y sujetos sanos.

SNVs	Modelo	Genotipo o alelo	AR n (%)	Controles n (%)	OR 95% IC	p*
ETS-1 rs73029013A/G	Codominante	AA	49 (98.0)	49 (98.0)	1.0 (0.06 - 16.44)	ns
		AG	1 (2.0)	1 (2.0)		
		GG	0 (0.0)	0 (0.0)		
	Alélico	A	99 (99.0)	99 (99.0)	1.0 (0.06 - 16.21)	ns
		G	1 (1.0)	1 (1.0)		
ETS-1 rs1128334C/T	Codominante	CC	46 (92.0)	42 (84.0)	0.45 (0.12 - 1.62)	ns
		CT	4 (8.0)	8 (16.0)		
		TT	0 (0.0)	0 (0.0)		
	Alélico	C	96 (96.0)	92 (92.0)	0.48 (0.14 - 1.64)	ns
		T	4 (4.0)	8 (8.0)		
ETS-1 rs12575600C/G	Codominante	CC	45 (90.0)	44 (88.0)	0.81 (0.23 - 2.86)	ns
		CG	5 (10.0)	6 (12.0)		
		GG	0 (0.0)	0 (0.0)		
	Alélico	C	95 (95.0)	94 (94.0)	0.82 (0.24 - 2.80)	ns
		G	5 (5.0)	6 (6.0)		

SNVs: Variante de un solo nucleótido; OR: odds ratio; IC: Intervalo de confianza
AR: artritis reumatoide; ns: no significancia estadística.

12. Discusión

Se estudiaron 50 pacientes con diagnóstico de AR en quienes la edad media de presentación fue de 54 años, en la literatura se reporta que afecta con mayor frecuencia a personas de mediana edad, con tasas de incidencia máxima entre 65 y 80 años¹⁴

El tabaquismo aumenta el riesgo de presentar AR, Sugiyama, D, *et al.* realizaron un metanálisis, donde incluyeron 16 estudios que valoraron el impacto del tabaquismo para desarrollar la enfermedad, reportaron que un índice tabáquico de 20 paquetes año aumenta el riesgo con un OR 2.31 (IC 95% 1.55 - 3.41)¹⁵.

El tabaquismo se relaciona con aumento de niveles de citocinas proinflamatorias y con mayor actividad de la enfermedad, en nuestro estudio el 20% de las pacientes eran fumadoras, con una media de índice tabáquico de 1.29 paquetes año.

Los pacientes con AR presentan un riesgo cardiovascular elevado, sin embargo, ninguna de nuestras pacientes contaba con antecedente de infarto agudo de miocardio, los factores de riesgo como la hipertensión arterial sistémica, dislipidemia y diabetes, pueden ser consecuencia indirecta de la enfermedad,¹⁶ en nuestra población el 20% de las pacientes son hipertensas, mientras que el 12 % presentaron diabetes tipo 2. VF Panoulas *et al.* realizó un estudio transversal de 400 pacientes con AR donde el 70.5% presentó hipertensión arterial sistémica, del cual el 39.4% permanecieron sin diagnóstico hasta su seguimiento,¹⁷ en otro estudio se menciona que varios mecanismos contribuyen al desarrollo de hipertensión arterial sistémica en AR como el uso de FARME (Fármaco antirreumático modificador de la enfermedad) la presencia de SNV específicas como *TGFB1* 869T/C¹⁶, así como la activación de vías que aumentan la resistencia periférica.¹⁸

El 90% de los casos en nuestro estudio presentó una determinación de factor reumatoide, donde el 80% se identificó con títulos débiles y 10% con títulos altos. Nishimura & *co/s*, reportaron mediante un metanálisis que la sensibilidad del factor reumatoide general fue del 69 % (IC 95 % 65-73 %)¹⁹

Los anti CCP, en comparación con el factor reumatoide son detectados en aproximadamente dos tercios de los pacientes con AR, con una excelente especificidad diagnóstica de hasta 90%²⁰ además de que precede por muchos años antes de la aparición de las manifestaciones clínicas de la AR, los títulos altos se

asocian a un fenotipo más erosivo y severo de la enfermedad. ²¹ En nuestra población el 68% presento títulos positivos de anti CCP donde el 58% reportaron títulos altos y el 10% títulos bajos.

A pesar de esta diferencia bien establecida entre los marcadores serológicos, en nuestro estudio se presentó un mayor porcentaje de pacientes con títulos positivos para factor reumatoide que de anticuerpos anti CCP, esto debido a que no todas nuestras pacientes contaban con determinación de estos últimos.

Lee, *et al* realizó la determinación de anti CCP y FR en 249 sueros de pacientes con con diferentes enfermedades autoinmunes con artritis como característica clínica y determinó que la presencia de cualquiera de los auto-anticuerpos (ya sea FR o anti-CCP) aumentó la sensibilidad para detectar la AR al 81.4 % ²⁰

Como manifestaciones extrarticulares el nódulo reumatoide se encontró únicamente en el 10% de la población. Se han informado que se manifiestan nódulos en algún momento durante el curso de la enfermedad en el 30 a 40 por ciento de los pacientes.²²

Con respecto al tratamiento se sugiere que todos los pacientes con AR comiencen una terapia con FARMES lo antes posible, el control estricto ayuda a minimizar rápidamente la inflamación y la progresión de la enfermedad; donde el objetivo terapéutico es la remisión o un estado de mínima actividad, sin comprometer la seguridad, lo anterior de acuerdo a las recomendaciones de EULAR que se presentaron en 2010 y se actualizaron en 2021²³.

En nuestra población el tratamiento más frecuentemente utilizado fue metotrexato en un 44% y leflunomida en un 40%.

En cuanto al análisis de los genotipos, nuestros resultados indican que no existe asociación entre las 3 variantes estudiadas (rs73029013, rs1128334, rs12575600 y) y la artritis reumatoide, al menos en nuestra población.

Para la primera variante analizada rs73029013 en la que se genera un cambio de adenina por guanina, se puede observar que las frecuencias alélicas y genotípicas son idénticas para los casos y los controles. El alelo G, considerado alelo de menor frecuencia es poco común en nuestra población y no es un factor de susceptibilidad que pudiera estar involucrado en el desarrollo de artritis reumatoide. Nuestros resultados son contrarios a lo reportado por Yang y cols, quienes encontraron que este polimorfismo si se asoció con la susceptibilidad a padecer AR así como a la actividad de la enfermedad¹³.

Para la segunda variante estudiada rs1128334 observamos que si bien hubo diferencias entre las frecuencias alélicas y genotípicas, no fueron suficientes para poder alcanzar una significancia estadística, es decir la variante no está asociada a AR en la población estudiada.

Finalmente, para la tercera y última variante evaluada rs12575600, los resultados de la genotipificación muestran que el alelo de menor frecuencia (G) es poco frecuente en nuestra población, sin embargo las frecuencias alélicas y genotípicas son muy similares entre casos y controles, además el genotipo GG no estuvo

presente tanto en casos como en controles. Esta variante tampoco es un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad.

Se requiere completar el tamaño de muestra para obtener el poder estadístico, para analizar la asociación propuesta. Debido a las vicisitudes secundarias a la pandemia por el virus SARS CoV-2, se limitó el número de pacientes evaluados.

13. Conclusión

Las variantes rs1128334 C > T, rs12575600 C > G y rs73029013 A > G del gen *ETS-1* no se identificaron como factor de riesgo para presentar artritis reumatoide en la población estudiada, se requiere completar el tamaño de muestra para análisis.

14. Cronograma de actividades

- Presentación del protocolo: septiembre 2021.
- Inicio del protocolo: agosto 2021.
- Terminación del estudio: mayo 2022.

Mes	Diseño y aprobación de protocolo HJM	Reclutamiento de pacientes	Análisis de resultados	Resultados con gráficas y tablas	Estructura de publicación
Septiembre 2021					
Octubre 2021					
Noviembre 2021					
Diciembre 2021					
Enero 2022					
Febrero 2022					
Marzo 2022					
Abril 2022					
Mayo 2022					

15. Referencias bibliográficas.

1. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, *et al* Rheumatoid arthritis. Nat Rev Dis Primers. 2018 Feb (4):18001.
2. Cardiel MH, Rojas-Serrano J. Community based study to estimate prevalence, burden of illness and help seeking behavior in rheumatic diseases in Mexico City. A COPCORD study. Clin Exp Rheumatol. 2002 Oct; 20(5):617-24.
3. Angelotti F, Parma A, Cafaro G, *et al*. One year in review 2017. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2017 May-Jun; 35(3):368-378.
4. Stastny P. Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 1978 Apr 20;298(16): 869-71.
5. Ollier W, Thomson W. Population genetics of rheumatoid arthritis. Rheum Dis Clin North Am. 1992 Nov;18(4):741-59.
6. Firestein GS. Kelley y Firestein, tratado de reumatología. Barcelona Elsevier D.L; 2018: 1167-1184.
7. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al*. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010 Sep;62(9):2569-81
8. Sementchenko VI, Watson DK. Ets target genes: past, present and future. Oncogene. 2000 Dec 18;19(55):6533-48.

9. Dittmer J. The biology of the Ets1 proto-oncogene. *Mol Cancer*. 2003 Aug 20; (2):29.
10. Garrett-Sinha LA, Kearly A, Satterthwaite AB. The Role of the Transcription Factor Ets1 in Lupus and Other Autoimmune Diseases. *Crit Rev Immunol*. 2016;36(6): 485-510.
11. He CF, Liu YS, Cheng YL, *et al* TNIP1, SLC15A4, ETS1, RasGRP3 and IKZF1 are associated with clinical features of systemic lupus erythematosus in a Chinese Han population. *Lupus*. 2010 Sep;19(10):1181-6.
12. Redlich K, Kiener HP, Schett G, *et al*. Overexpression of transcription factor Ets-1 in rheumatoid arthritis synovial membrane: regulation of expression and activation by interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum*. 2001 Feb;44(2):266-74.
13. Yang B, Luo L, Chen L, *et al*. ETS1 polymorphism rs73013527 in relation to serum RANKL levels among patients with RA. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Feb 5; (5) 100.
14. Eriksson JK, Neovius M, Ernestam S, *et al*. Incidence of rheumatoid arthritis in Sweden: a nationwide population-based assessment of incidence, its determinants, and treatment penetration. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;(65):870.
15. Sugiyama, D. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann. Rheum. Dis*. 2010 (69), 70–81

16. Panoulas VF, Douglas KMJ, Smith JP, *et al.* Transforming growth factor- β 1 869T/C, but not interleukin-6 -174G/C, polymorphism associates with hypertension in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2009 ; (48):113–8.
17. Panoulas VF, Douglas KMJ, Milionis HJ, *et al.* Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2007;(46):1477–82.
18. Wong M, Toh L, Wilson A, *et al.* Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum* 2003;(48):81–9.
19. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, *et al.* Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 2007 Jun 5;146(11):797-808.
20. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2003 Sep;62(9):870-4.
21. Nielen, M.M.; van Schaardenburg, D.; Reesink, H.W.; *et al.* Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: A study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004, (50), 380–386.
22. Turesson C, Jacobsson LT. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2004;33(2):65-72.
23. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, *et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis.* 2020 Jun;79(6):685-699.

16. Anexos

Anexo 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Protocolo/Tesis:

**Evaluación de las variantes de un solo nucleótido rs1128334/
rs12575600/ rs73029013 del gen *ETS1* y su asociación con la susceptibilidad
para presentar artritis reumatoide**

Investigador principal: Rosa Elda Barbosa Cobos

Teléfono de emergencia: 5543713002 (Celular del Investigador-disponible las 24 horas)

Dirección: Av. Instituto Politécnico Nacional 5160, Magdalena de las Salinas, Gustavo A. Madero, 07760 Ciudad de México, CDMX

Sede y servicio donde se realizará el estudio: Servicio de Reumatología. Hospital Juárez de México.

Nombre **del** **paciente:**

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica muy prevalente en nuestra población, donde la información en los genes es parte fundamental para padecer la enfermedad; en caso de no recibir tratamiento oportuno puede resultar incapacitante, la investigación de variantes en los genes nos ayuda a identificar a pacientes con la enfermedad para otorgar un tratamiento oportuno y limitar el daño ocasionado.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Se invita a participar en este estudio que tiene como objetivo investigar variantes del gen *ETS 1* y la predisposición de padecer artritis reumatoide.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que existen variantes en el gen *ETS1* en pacientes con artritis reumatoide en pacientes caucásicos y chinos, sin embargo, se desconoce si predispone a la enfermedad en nuestra población.

Con este estudio conocerá de manera clara si existen variantes en el gen ETS 1 la frecuencia y predisposición para padecer artritis reumatoide.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido respecto a variaciones genéticas de *ETS 1* como posibles biomarcadores genéticos y su relación para desarrollar artritis reumatoide.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, y se procederá a tomar una muestra de 12 mililitros de sangre por punción venosa, en una sola ocasión, previa verificación de adecuada frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tensión arterial, temperatura y saturación de oxígeno, implica un riesgo mínimo y se deberá firmar consentimiento informado.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud esta investigación es considerada como:

Sin Riesgo

Riesgo Mínimo

Riesgo Mayor al mínimo

Este estudio consta solo de una fase ya que es transversal.

Implica la toma de una muestra de sangre venosa periférica. Posterior a la toma de sangre se puede presentar dolor, se puede llegar a formar equimosis o moretón en el área de punción.

No existen efectos adversos por la toma de muestra de sangre periférica.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario derivado directamente de este estudio, se brindará atención en los siguientes términos:

No existen efectos adversos por la toma de muestra de sangre periférica.

6. PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES

a. Normatividad

El tratamiento de sus datos personales de identificación y datos personales sensibles, se realiza con fundamento en lo establecido en el artículo 1, 2 fracción V y VI, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados; 1 del Decreto por el que se crea el Hospital Juárez de México, como un Organismo Descentralizado de la Administración Pública Federal, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de enero de 2006; 1, 2 fracción I y 3 fracción I, II, III del Estatuto Orgánico del Hospital Juárez de México, publicado en el Diario Oficial de la Federación 17 de octubre de 2016.

b) Descripción de los Datos Personales que se solicitarán

(El investigador deberá describir detalladamente los datos personales que solicitará con motivo del estudio)

* Datos Personales de Identificación:

* Datos Personales sensibles:

c) Tratamiento

El tratamiento y resguardo de sus datos personales será llevado a cabo por las siguientes personas:

Nombre: _____ (El investigador deberá especificar los nombres de todas las personas que tendrán acceso a esos datos incluyendo personal administrativo) Los datos personales serán tratados estadísticamente sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación. (Si tiene duda, pregunte al Investigador Principal en qué consiste el proceso de disociación)

d) Transferencias

(se deberá marcar con una X, la opción correspondiente)

- Sus datos personales y/o resultados que arroje el estudio, NO serán transferidos a ninguna persona física o moral ()
- Sus datos personales y/o resultados del estudio podrán ser transferidos ()

Especificar a quién serán transferidos _____

e) Aviso de Privacidad simplificado:

El Investigador principal del Protocolo/Tesis de Investigación es el responsable del tratamiento de los datos personales y datos personales sensibles que usted proporcione con motivo de la participación en un Protocolo/Tesis de Investigación, mismos que serán tratados estadísticamente en materia de salud sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación, para proteger la identificación de los mismos, de conformidad con los artículos 1, 2, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, mismo que podrá consultar en el Portal Institucional:

<http://www.hospitaljuarez.salud.gob.mx>

7. ACLARACIONES

-Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

-No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

-No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. Juan Manuel Bello López, Presidente del Comité de Investigación o la Dra. Gabriela Ibáñez Cervantes Presidenta del Comité de Ética en Investigación, en el área de Investigación del Hospital Juárez de México.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

****Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

****Testigo 1 Fecha (parentesco)**

****Testigo 2 Fecha (parentesco)**

****Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador Fecha

Anexo 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO GRADUAL PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

Título del Protocolo/Tesis:

Evaluación de las variantes de un solo nucleótido rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 del gen *ETS1* y su asociación con la susceptibilidad para presentar artritis reumatoide

El Investigador que informa (Rosa Elda Barbosa Cobos) del Servicio Reumatología del Hospital Juárez de México.

Teléfono de emergencia: 5543713002 (Celular del Investigador-disponible las 24 horas)

Persona a quien se informa:, de de edad.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica muy prevalente en nuestra población, donde la información en los genes es parte fundamental para padecer la enfermedad; en caso de no recibir tratamiento oportuno puede resultar incapacitante, la investigación de variantes en los genes nos ayuda a identificar a pacientes con la enfermedad para otorgar un tratamiento oportuno y limitar el daño ocasionado.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Se invita a participar en este estudio que tiene como objetivo investigar variantes del gen *ETS 1* y la predisposición de padecer artritis reumatoide.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que existen variantes en el gen *ETS1* en pacientes con artritis reumatoide en pacientes caucásicos y chinos, sin embargo, se desconoce si predispone a la enfermedad en nuestra población.

Con este estudio conocerá de manera clara si existen variantes en el gen *ETS 1* la frecuencia y predisposición para padecer artritis reumatoide.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido respecto a variaciones genéticas de *ETS 1* como posibles biomarcadores genéticos y su relación para desarrollar artritis reumatoide.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, y se procederá a tomar una muestra de 12 mililitros de sangre por punción venosa, en una sola ocasión, previa verificación de adecuada frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, tensión arterial, temperatura y saturación de oxígeno, implica un riesgo mínimo y se deberá firmar consentimiento informado.

La técnica puede fracasar por no conseguir la extracción de 12 mililitros de sangre por punción venosa para estudio de ADN, ARN y ARNm o por otros problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo.

El estudio se llevará a cabo en el Hospital Juárez de México que está ubicado en Av. Instituto Politécnico Nacional 5160, Magdalena de las Salinas, Gustavo A. Madero 07760 Ciudad de México, CDMX donde se remitirá la muestra biológica y es responsabilidad del Investigador principal mantener la confidencialidad de sus datos personales bajo la normatividad vigente.

Usted tiene derecho a conocer los datos genéticos que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas. La información que se obtenga puede tener implicaciones para sus familiares, cuando este fuera el caso, usted será quien les transmita dicha información.

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:

Quiero conocerlos No quiero conocerlos Delego en el médico esa decisión

Al término de la investigación, se contará con su muestra de (describir en que tipo de producto se realiza su estudio ADN, ARN, miARN, etc) desea que esa muestra:

Se destruya Se almacene para futuras investigaciones

En caso de desear que su muestra se almacene para futuras investigaciones, usted podrá ser contactado con posterioridad con el fin de obtener su consentimiento, cómo prefiere ser contactado:

Usted tiene derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento, y a decidir también la destrucción de su muestra.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud esta investigación es considerada como:

Sin Riesgo Riesgo Mínimo Riesgo Mayor al mínimo

Este estudio consta solo de una fase ya que es transversal.

Implica la toma de una muestra de sangre venosa periférica. Posterior a la toma de sangre se puede presentar dolor, se puede llegar a formar equimosis o moretón en el área de punción.

No existen efectos adversos por la toma de muestra de sangre periférica.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario derivado directamente de este estudio, se brindará atención en los siguientes términos:

No existen efectos adversos por la toma de muestra de sangre periférica.

6. PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES

b. Normatividad

El tratamiento de sus datos personales de identificación y datos personales sensibles, se realiza con fundamento en lo establecido en el artículo 1, 2 fracción V y VI, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados; 1 del Decreto por el que se crea el Hospital Juárez de México, como un Organismo Descentralizado de la Administración Pública Federal, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de enero de 2006; 1, 2 fracción I y 3 fracción I, II, III del Estatuto Orgánico del Hospital Juárez de México, publicado en el Diario Oficial de la Federación 17 de octubre de 2016.

b) Descripción de los Datos Personales que se solicitarán

(El investigador deberá describir detalladamente los datos personales que solicitará con motivo del estudio)

* Datos Personales de Identificación:

* Datos Personales sensibles:

c) Tratamiento

El tratamiento y resguardo de sus datos personales será llevado a cabo por las siguientes personas:

Nombre: _____ (El investigador deberá especificar los nombres de todas las personas que tendrán acceso a esos datos incluyendo personal administrativo)

Los datos personales serán tratados estadísticamente sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación. (Si tiene duda, pregunte al Investigador Principal en qué consiste el proceso de disociación)

d) Transferencias

(se deberá marcar con una X, la opción correspondiente)

- Sus datos personales y/o resultados que arroje el estudio, NO serán transferidos a ninguna persona física o moral ()
- Sus datos personales y/o resultados del estudio podrán ser transferidos ()
Especificar los datos que serán transferidos

Especificar a quien serán transferidos _____

(En el caso de protocolos de colaboración con otras Instituciones, Hospitales, Centro de Investigación, Universidades Nacionales o Internacionales)

e) Aviso de Privacidad simplificado:

El Investigador principal del Protocolo/Tesis de Investigación es el responsable del tratamiento de los datos personales y datos personales sensibles que usted proporcione con motivo de la participación en un protocolo de Investigación, mismos que serán tratados estadísticamente en materia de salud sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación, para proteger la identificación de los mismos, de conformidad con los artículos 1, 2, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, mismo que podrá consultar en el Portal Institucional:

<http://www.hospitaljuarez.salud.gob.mx>

7. ACLARACIONES

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. Juan Manuel Bello-López, Presidente del Comité de Investigación o la Dra. Gabriela Ibáñez Cervantes Presidenta del Comité de Ética en Investigación, en el área de Investigación del Hospital Juárez de México.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos

en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

****Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

****Testigo 1 Fecha (parentesco)**

****Testigo 2 Fecha (parentesco)**

****Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador Fecha

Anexo 3

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del Protocolo/Tesis: Evaluación de las variantes de un solo nucleótido rs1128334/ rs12575600/ rs73029013 del gen *ETS1* y su asociación con la susceptibilidad para presentar artritis reumatoide

Investigador principal: Rosa Elda Barbosa Cobos

Sede donde se realizará el estudio: Av. Instituto Politécnico Nacional 5160, Magdalena de las Salinas, Gustavo A. Madero, 07760 Ciudad de México, CDMX

Nombre _____ del _____ participante:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este Protocolo/Tesis de investigación por las siguientes razones: (Este apartado es opcional y puede dejarse en blanco si así lo desea el paciente)

Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.

Firma del participante o del padre o tutor Fecha

Testigo Fecha

Testigo Fecha

c.c.p El paciente. (Se deberá elaborar por duplicado quedando una copia en poder del paciente)



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL JUÁREZ
DE MÉXICO

**Dirección de Investigación y Enseñanza
SURPROTEM/POSGRADO**

Lista de Cotejo de Validación de Tesis de Especialidades Médicas

Fecha	13	julio	2022
	día	mes	año

INFORMACIÓN GENERAL (Para ser llenada por el área de Posgrado)					
No. de Registro del área de protocolos	Si	x	No	Número de Registro	HJM151/21-R
Título del Proyecto EVALUACIÓN DE VARIANTES DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DEL rs1128334/rs12575600/rs73029013 DEL GEN ETS1 Y SU ASOCIACIÓN CON SUSCEPTIBILIDAD PARA PRESENTAR ARTRITIS REUMATOIDE					
Nombre Residente	EVELYN ARANDA CANO				
Director de tesis	ROSA ELDA BARBOSA COBOS				
Director metodológico	ISELA MONTUFAR ROBLES				
Ciclo escolar que pertenece	2021-2022	ESPECIALIDAD		MEDICINA INTERNA	
INFORMACIÓN SOBRE PROTOCOLO/TESIS (Para ser validado por la División de Investigación/SURPROTEM)					
VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD	HERRAMIENTA	PLAGSCAN	PORCENTAJE	8%	
COINCIDE TÍTULO DE PROYECTO CON TESIS	SI	X	NO		
COINCIDEN OBJETIVOS PLANTEADOS CON LOS REALIZADOS	SI	X	NO		
RESPONDE PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	SI	X	NO		
RESULTADOS DE ACUERDO A ANÁLISIS PLANTEADO	SI	X	NO		
CONCLUSIONES RESPONDEN PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	SI	X	NO		
PRETENDE PUBLICAR SUS RESULTADOS	SI	X	NO		
VALIDACIÓN (Para ser llenada por el área de Posgrado)					
Si	X	Comentarios			
No					

V. B. SURPROTEM/DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN