



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

**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**“ Asociación del polimorfismo rs3857496 del gen *BACH2* y susceptibilidad para padecer  
síndrome de Sjögren primario en población mexicana “**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA  
( REUMATOLOGÍA)**

**PRESENTA:**

**DIANA KARINA PÉREZ CRUZ**

**TUTORES DE TESIS**

**DRA. ROSA ELDA BARBOSA COBOS  
DRA. ISELA MONTÚFAR ROBLES**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX, 2023**



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 LA TESIS

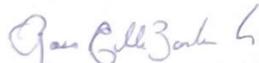
" Asociación del polimorfismo rs3857496 del gen *BACH2*  
y susceptibilidad para padecer síndrome de Sjögren  
primario en población mexicana "

Número de registro: HJM 124/22-R

  
DIANA KARINA PÉREZ CRUZ

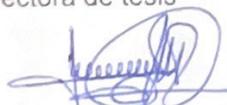
---

Tesista

  
DRA. ROSA ELDA BARBOSA COBOS

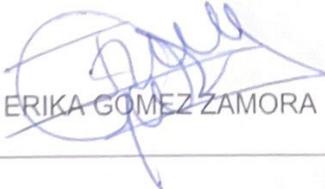
---

Directora de tesis

  
DRA. ISELA MONTÚFAR ROBLES

---

Directora de tesis

  
DRA. ERIKA GÓMEZ ZAMORA

---

Subdirectora de enseñanza

  
DR. ERIK EFRAIN SOSA DURAN

---

Jefe del servicio de posgrado



## DEDICATORIA

A mi mamá Marisela Cruz, por qué a pesar de la distancia entre nosotros siempre encuentra la manera de estar cerca de mi corazón, por su apoyo incondicional, por ser mi motor y la fuerza que me impulsa cada día a no desistir de mis objetivos.

A mi hermana por ser mi mejor amiga, mi confidente, por escucharme y siempre tener las palabras correctas para levantarme.

A Dios, por permitirme llegar a este momento, por darme las capacidades y posibilidades para continuar en lo que más disfruto.

A mis maestras, la Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos, Dra. Lucía Verónica Maya Piña, Dra. Anna Sofía Vargas Avilés, Dra. Cristina Hernández Díaz y Dra. Pamela Medina San Millán, por sus enseñanzas no solo en reumatología, si no a el trato con los pacientes, a cómo ser empática con ellos, a siempre buscar lo mejor para su calidad de vida .

A mis pacientes, por sus enseñanzas, por ser libros abiertos, por enseñarme que a pesar de las adversidades, la vida es hermosa y por ello vale la pena aferrarse.

Al Hospital Juárez de México, por ser mi casa estos dos años, por abrirme las puertas para poder aprender medicina y principalmente, a ser mejor ser humano.

A la reumatología por su complejidad, por su belleza, por permitirme que mi trabajo sea además, lo que más me apasiona en la vida.





## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos por ser mi maestra, por siempre buscar lo mejor para el servicio y para cada uno de nosotros, por enseñarnos a buscar la excelencia como médicos y seres humanos.

A mis asesoras de tesis la Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos y la Dra. Isela Montúfar por su compromiso para la investigación y por su apoyo constante para este trabajo. Gracias por sus conocimientos compartidos.

A la Dra. Cristina Hernández Díaz por enseñarme que los pacientes van más allá de una enfermedad, a ser empática y a tomar siempre en cuenta el estado mental de cada uno. Gracias por su preocupación diaria por qué aprendamos y por qué seamos mejores.

A la Dra. Lucía Verónica Maya Piña por enseñarme cada día que se puede ser mejor, a siempre transmitirnos sus innumerables conocimientos y a siempre buscar respuestas más allá de lo que vemos a simple vista.

A la Dra. Anna Sofía Vargas Avilés por sus enseñanzas, por sus habilidades y capacidad para resolver problemas con los recursos con los que contamos, por enseñarnos a hacer las cosas bien, a cómo tratar a los pacientes.

A la Dra. Pamela Medina San Millán por qué ahora cómo adscrita sigue demostrando cómo ser excelente médico y persona.

A la Dra. Cinthia Jahoska Samuria Flores por ser más que mi residente de mayor jerarquía por ser mi amiga y mi apoyo cuando más la necesité. Por enseñarme que aún ante las adversidades nunca debo perderme y siempre debo seguir mis objetivos.

A mis compañeras de grado, por compartir estos dos años juntas, los buenos momentos y los estresantes.

A mis compañeros, amigos y personas que de alguna manera han impactado en mi vida para conformar lo que soy hasta el día de hoy.





## ÍNDICE

1. Introducción	5
2. Justificación	11
3. Pregunta de investigación	12
4. Hipótesis	12
5. Objetivos	12
6. Metodología	12
7. Análisis e interpretación de resultados	18
8. Recursos	18
9. Aspectos éticos	18
10. Aspectos de bioseguridad	19
11. Resultados	19
12. Discusión	20
13. Conclusión	21
14. Recomendaciones	22
15. Bibliografía	22
16. Anexos	25





## 1. Antecedentes

### 1.1. Síndrome de Sjögren primario

#### 1.1.1. Definición

El síndrome de Sjögren primario (SSp) es la segunda enfermedad reumatológica más frecuente. Es una enfermedad crónica progresiva que afecta principalmente a glándulas exócrinas incluyendo, salivales y lagrimales. Las manifestaciones sistémicas son frecuentes e incluyen el síndrome constitucional y afección a nivel neurológico, pulmonar, gastrointestinal, musculoesquelético, vascular y hematológico.<sup>1</sup>

La patogenia sigue en estudio. Sin embargo se considera que es secundaria a la relación entre el sistema inmune y células epiteliales dianas. Diversos factores ambientales pueden actuar en genes de susceptibilidad y prolongar la activación de la inmunidad humoral y celular que llevan a daño tisular y finalmente a los síntomas clínicos.<sup>2</sup>

Se ha propuesto que familias que padecen enfermedades autoinmunes pueden tener variantes genéticas que actúan sobre vías comunes de autoinmunidad.<sup>1-3</sup> Respecto a genes de susceptibilidad específicos de SSp se han identificado polimorfismos de un solo nucleótido considerados como alelos de riesgo. Dentro de los mecanismos epigenéticos se encuentran la metilación del ADN, miRNA e lncRNA los cuáles contribuyen a la expresión de genes relacionados con vías de inflamación.<sup>2,3</sup>

Respecto a la inmunidad celular, las células dendríticas plasmocitoides (CDp) son principales generadoras de interferón tipo I (IFN), este a su vez induce la activación de genes en glándulas salivales, monocitos y células B de pacientes con SSp. Además se ha sugerido que la respuesta TLR7 dominante, podría relacionarse con sialoadenitis.<sup>3</sup>

La hiperactividad de linfocitos B mediada por linfocitos T en respuesta a antígenos, lleva a producción de células B autorreactivas. Como consecuencia, se generan estructuras linfoides terciarias y centro germinal ectópico, así como linfomagénesis. Dichos agregados se ubican en órganos no linfoides como resultado de la inflamación crónica y se asocian a mal pronóstico. Otro hallazgo reciente a destacar es que la proporción entre linfocitos T cooperadores y reguladores está incrementada, lo que se traduce en desequilibrio entre vías proinflamatorias y vías reguladoras.<sup>3-5</sup>





### 1.1.2. Epidemiología

Existe variabilidad en la prevalencia e incidencia reportadas, esto debido a diferencias en los estudios realizados y criterios clínicos utilizados. La incidencia se encuentra entre 3 y 11 casos por cada 100,000 personas, mientras que la prevalencia está entre 0.01% y 0.72%. Es una de las enfermedades autoinmunes con mayor predisposición por las mujeres, con proporción mujer hombre de 10:1. Afecta a todos los grupos de edad, sin embargo la mayoría se diagnostica entre los 30- 50 años. Respecto al predominio por etnia o raza, únicamente un estudio encontró que su prevalencia es dos veces mayor en personas de origen no europeo.<sup>5</sup>

### 1.1.3. Manifestaciones clínicas

La xeroftalmia y xerostomía son los síntomas clásicos encontrados en la mayor parte de pacientes con SSp. Relacionado con la disminución en la producción de saliva, se presentan pérdida de piezas dentales y predisposición a presentar caries dentales, comúnmente en la región cervical dental. La sequedad puede afectar tracto respiratorio superior, orofaringe, piel y vagina.<sup>5,6</sup>

Hasta un tercio de pacientes refieren inflamación recurrente a nivel de glándulas parótidas. Los síntomas sistémicos se pueden presentar en un 50-60% de pacientes y el riesgo de desarrollar linfoma es de hasta 5%.<sup>4,6</sup>

Las manifestaciones sistémicas incluyen síntomas constitucionales y puede afectar básicamente cualquier órgano incluyendo; piel en forma de vasculitis, sistema nervioso en forma de neuropatía periférica y de afección en SNC (mielitis o meningitis aséptica). A nivel pulmonar se puede afectar hasta un 16% de pacientes manifestando enfermedad pulmonar intersticial. A nivel renal puede causar nefritis intersticial o glomerulonefritis membranoproliferativa. La artritis es menos erosiva y recidivante que en otras enfermedades reumatológicas. Puede ocasionar citopenias y otras manifestaciones como fenómeno de raynaud.<sup>3-6</sup>

### 1.1.4. Diagnóstico

Los criterios de clasificación de SSp más recientes del Colegio Americano de Reumatología y la Liga Europea contra el Reumatismo (ACR-EULAR) 2016 para el SSp fueron resultado de una colaboración internacional. Esta clasificación se aplica a individuos que cumplan con criterios de inclusión (tabla 1), no tengan criterios de exclusión (tabla 2) y cuenten con puntuación de  $\geq 4$  cuando se suman los cinco criterios de la tabla (tabla 3 ).<sup>7-9</sup> Estos nuevos criterios no discriminan entre síndrome primario o secundario y aplica para pacientes que presenten al menos un síntoma de xeroftalmia o xerostomía. De acuerdo a las siguientes preguntas:





Tabla 1. Criterios de inclusión
1) ¿Ha tenido problemas de ojo seco diariamente, persistente, por más de 3 meses?
2) ¿Ha presentado sensación recurrente de arena o polvo en los ojos?
3) ¿Utiliza sustitutos de lágrimas > 3 veces al día?
4) ¿Ha tenido la sensación de boca seca por > 3 meses?
5) ¿ Ingiere líquidos con frecuencia para ayudar a deglutir comida?

Tabla 2. Criterios de exclusión
1) Antecedente de tratamiento con radiación en 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



Tabla 3. Criterios para síndrome de Sjögren ACR/EULAR 2016

Ítem	Descripción	Puntaje
<b>Focus score <math>\geq 1</math></b>	n.º de infiltrados de células mononucleares con $\geq 50$ células inflamatorias por 4 mm <sup>2</sup> de glándula salival labial menor	3
<b>Presencia de anticuerpos anti-SSA*</b>	Únicamente se puntúan anticuerpos anti-Ro 60	3
<b>Puntuación de tinción ocular <math>\geq 5</math></b>	Realizado con lámpara de hendidura por oftalmólogo capacitado, tinciones con fluoresceína y verde de lisamina; puntuaciones entre 0-12, a puntuaciones más altas mayor gravedad	1
<b>Prueba de Schirmer de <math>\leq 5</math> mm por 5 min</b>	Mide producción lagrimal, se coloca papel de filtro en conjuntiva inferior y se mide zona humedecida en mm	1
<b>Flujo salival total no estimulado de <math>\leq 0.1</math> ml por min</b>	Mide producción de saliva basal. Recolección de saliva en vaso calibrado por tiempo de 5 minutos	1
<b>Puntaje total</b>		9

## 1.2. Genética

### 1.2.1. Generalidades

Se han estudiado diversos genes candidatos en SSp, encontrando como principales a los implicados en la vía de señalización del interferón o que participan en su regulación, destacando: STAT4, IRF5, IL12A y OAS1.<sup>10-12</sup>

Dentro de los genes asociados a la región del antígeno leucocitario humano (HLA), estos son responsables de la presentación del antígeno entre otras funciones importantes. Las moléculas del HLA clase 1 presentan antígeno citosólico y tienen expresión en todas las células. Las moléculas HLA clase 2 presentan proteínas extracelulares y se expresan en células presentadoras de antígeno. Estas últimas transmiten la mayor predisposición hereditaria a enfermedades autoinmunes, incluido el SSp. Existen asociaciones con anti-Ro y/o anti-La, en portadores de alelos DRB1\*03 y DQB1\*02.<sup>11,12</sup>





Dentro de las asociaciones genéticas no HLA, los estudios se han enfocado en cuatro vías principales: vía IFN, vía NF-kB y señalización de células B y T.<sup>11,12</sup>

La asociación genética más importante fuera de la región HLA, se ubica en el locus *IRF5*. En estudios anteriores se documentó que los portadores del polimorfismo rs2004640 del gen *IRF5* conllevan mayor riesgo del desarrollo de SSp.<sup>13-15</sup>

Otra asociación encontrada fue con polimorfismos en el gen *STAT4*, el cual es fundamental en la señalización de la IL-2. *STAT 4* es reclutado y fosforilado para formar homodímeros, los cuales posterior a su transporte al núcleo, se unen al ADN y de esta forma modulan la transcripción genética. Dicha activación ocurre posterior a la unión del IFN 1 a su respectivo receptor (*IFNAR*). Estudios previos en pacientes con SSp, mostraron asociaciones entre polimorfismos rs758269 y rs7574865 con el desarrollo de la patología, siendo considerados, por lo tanto, factores de riesgo. Además se ha observado relación entre niveles de ARNm de *STAT4* y genes inducidos por IFN tipo I.<sup>14,15</sup>

Existen otros genes no-HLA que han tenido asociación con otras enfermedades autoinmunes, sin embargo han sido poco estudiados. Uno de estos es el gen *BACH2*.<sup>14-16</sup>

### 1.2.2 Gen *BACH2*

El gen *BACH2* (BTB domain and CNC homolog 2), es un factor de transcripción localizado en el cromosoma 6 en la región 15 (6p15), y codifica a la proteína BACH la cual se encuentra conformada por 741 aminoácidos.<sup>17-20</sup>

*BACH2* es un miembro conservado de la superfamilia de factores de transcripción con dominios de cremallera de leucina (bZIP). Es un regulador primordial para la diferenciación de células T y B.<sup>21,22</sup>

Los polimorfismos en el locus *BACH2* se han asociado a múltiples patologías incluyendo el asma<sup>23</sup> y enfermedades autoinmunes como diabetes tipo 1, la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celiaca<sup>24,25</sup>, el vitíligo<sup>26</sup> y la esclerosis múltiple.<sup>22,27</sup>

Se ha observado que la delección homocigota de *BACH2* en ratones produce autoinmunidad mortal entre los 3 y 9 meses de edad<sup>27,28</sup>. *BACH2* actúa como un factor de transcripción represor "guardián" que a su vez regula la homeostasis en otros factores de transcripción, que también participan en la diferenciación y maduración de células T y B.<sup>28</sup>





En las células B, el gen *BACH2* regula el equilibrio entre los genes *PAX5* y *Blimp1*, reprimiendo a este último y como consecuencia disminuyendo la diferenciación de las células plasmáticas permitiendo cambio de isotipo de los anticuerpos generados (por lo tanto la expresión de IgA, IgG e IgE).<sup>28,29</sup>

Los ratones que carecen de *BACH2* tienen células B con una recombinación de inmunoglobulinas alterada, que se diferencian rápidamente en células plasmáticas restringidas a IgM.<sup>28,29</sup>

En las células T, *BACH2* regula la expresión genes que regulan los linajes de las células T efectoras<sup>30</sup> y la muerte celular<sup>31</sup> limitando así la diferenciación en células efectoras<sup>21</sup> y promoviendo el desarrollo de células T reguladoras FoxP3+ (Treg). En múltiples estudios se ha observado que las células Treg evitan el desarrollo de enfermedades autoinmunes controlando la sobreactivación del sistema inmunitario.<sup>32</sup> Los ratones deficientes en *BACH2* muestran escasez de células Treg pero sobreexpresión de células T de memoria/efectoras, provocándoles autoinmunidad y muerte prematura.<sup>33</sup>

Con los hallazgos anteriores, se puede entender el papel de *BACH2* como supresor clave de la autoinmunidad evitando el acúmulo de células T cooperadoras foliculares (Tfh), en especial las productoras de IL-4 encontradas con estímulo antigénico persistente. La expansión aberrante de este linaje de células T da como resultado autoanticuerpos y con frecuencia se asocia con enfermedades reumatológicas como el lupus eritematoso sistémico.<sup>34,35</sup>

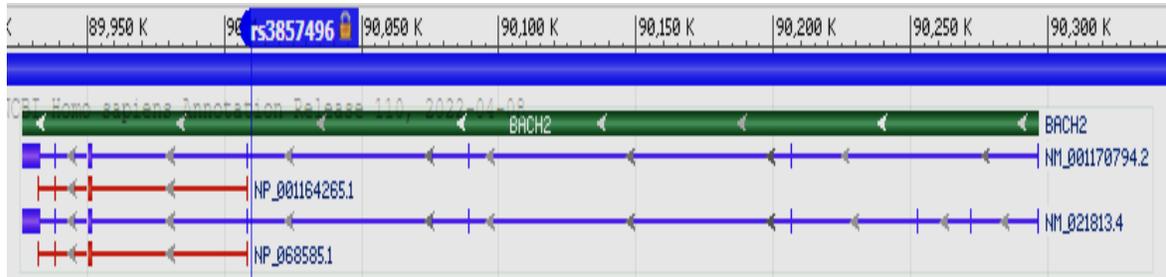
Otra manera en la que *BACH2* regula la expresión de células T foliculares, es a través de la represión directa de c-Maf, regulador clave de las células Tfh que induce la expresión de diversos genes relacionados con Tfh, incluidos *CXCR5*, *ICOS*, *PDCD-1* e IL-21. La baja expresión de *BACH2*, resulta en la formación de células T foliculares aberrantes vía regulación positiva de c-Maf.<sup>35-37</sup>

*BACH2* se ha identificado como un gen de susceptibilidad para varias enfermedades autoinmunes, pues los siguientes polimorfismos (todos ellos en la región intrónica) han sido asociados con diferentes tipos de enfermedades autoinmunes: rs12212193 en esclerosis múltiple, rs1847472 en enfermedad de Crohn, rs10806425 y rs10806425 en enfermedad celiaca y linfoma del sistema nervioso central, y esofagitis eosinofílica,<sup>38</sup> rs3757247 y rs11755527C/G en diabetes tipo 1.<sup>35,36</sup>

Respecto al rs3857496 este se sitúa en la posición 90,009,445 del cromosoma 6, reside en el intrón 3, creando la isoforma NM\_001170794.2, que codifica a la proteína NP\_001164265.1 de *BACH2*. Y en el intrón 5 de la isoforma larga



NM\_021813.4 que codifica la proteína NP\_068585.1, como podemos visualizar en la siguiente imagen: <sup>37</sup>



Como sabemos, los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son las variantes genéticas más frecuentemente encontradas en el genoma humano, localizándose en cualquier parte de la estructura de los genes y el genoma. Los polimorfismos que se encuentran principalmente en los intrones, cambian la traducción de los ARN mensajeros (ARNm), el corte y empalme, la eficiencia para potenciar o inhibir éstos, la estabilidad de los ARNm y la función de proteínas (sin alterar su composición) siendo denominados SNP ARN estructurales (srSNP) tal es el caso del rs3857496 ubicado en el intrón 3 del gen BACH2.<sup>37</sup>

Múltiples estudios han demostrado la importancia funcional de los srSNP en el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como arteriopatía coronaria, hipertensión arterial sistémica, síndrome metabólico etc. <sup>38,39</sup> Los srSNP tienen un papel clave en la modificación, creación o destrucción de secuencias consenso (*cis* o *trans*) importantes en la regulación del corte y empalme de una proteína, suceso que ha sido asociado al desarrollo de enfermedades complejas.<sup>40,41</sup>

Así por ejemplo, Diversos srSNP localizados en estas regiones han sido relacionados con proteínas no funcionales por inclusión o exclusión de exones, retención de intrones, o por la introducción de nuevos sitios de corte y empalme dentro de intrones o exones. <sup>40-43</sup>

Pocos estudios a nivel mundial sobre la variante rs3857496 del gen *BACH2* han sido reportados, aún más este polimorfismo no ha sido estudiado en SSp en nuestra población, por lo que su evaluación en pacientes con esta enfermedad, será de gran importancia para conocer la influencia que tiene este SNP sobre el desarrollo de esta enfermedad.

## 2. Justificación

El gen *BACH2* es un factor de transcripción que ha sido asociado a autoinmunidad. Actualmente no hay estudios que relacionen el polimorfismo rs3857496 presente en





este gen con el riesgo de desarrollar síndrome de Sjögren. Dado que *BACH2* se ha asociado a otras enfermedades autoinmunes, es de nuestro interés evaluar la existencia de asociación del polimorfismo rs3857496 con dicha enfermedad en población mexicana, pues ello nos permitirá mejorar el entendimiento sobre los mecanismos moleculares en el desarrollo del SSp, así como la implementación de nuevos marcadores que se asocien con el padecimiento.

### **3. Pregunta de Investigación**

¿La variante rs3857496 localizada en el gen *BACH2* confiere susceptibilidad para el desarrollo de SSp en pacientes mexicanos?

### **4. Hipótesis**

El polimorfismo rs3857496 localizado en el gen *BACH2* podría generar susceptibilidad para presentar SSp en pacientes mexicanos.

### **5. Objetivos**

#### **5.1 Objetivo primario**

Identificar si el polimorfismo rs3857496 localizado en el gen *BACH2*, está asociado con susceptibilidad para presentar SSp en pacientes mexicanos.

#### **5.2 Objetivos secundarios**

**5.2.1** Captar un grupo de pacientes diagnosticados con SSp y un grupo de sujetos control

**5.2.2** Determinar la frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo rs3857496 localizado en el gen *BACH2* en pacientes mexicanos con SSp y en individuos controles no relacionados.

**5.2.3** Determinar si el polimorfismo rs3857496 localizado en el gen *BACH2* está implicado en el desarrollo de la enfermedad.

### **6. Metodología**

#### **6.1. Diseño de la investigación**

Estudio de casos y controles

#### **6.2. Tipo de estudio**

Observacional, transversal, comparativo y prospectivo





### 6.3. Ubicación temporal y espacial

Servicio de Reumatología y laboratorio provisional de investigación del Hospital Juárez de México en el periodo de Noviembre 2022 a 1.º de Julio de 2023

### 6.4. Población

#### Casos

##### Criterios de inclusión

- Diagnóstico de SSp por los criterios de clasificación ACR/EULAR 2016
- Género femenino
- Edad  $\geq 18$  años
- Personas nacidas en México con padres y abuelos originarios de México
- Pacientes atendidas en consulta de servicio de reumatología del hospital Juárez de México
- Consentimiento informado firmado

##### Criterios de exclusión

- Enfermedad autoinmune concomitante

##### Criterios de eliminación

- Revocación del consentimiento

#### Controles

##### Criterios de inclusión

- Edad  $\geq 18$  años
- Género femenino
- Personas nacidas en México con padres y abuelos originarios de México
- Consentimiento informado firmado

##### Criterios de exclusión

- Otra enfermedad autoinmune concomitante
- Obesidad
- Enfermedades crónicas (cáncer, diabetes, hipertensión arterial sistémica)

##### Criterios de eliminación

- Revocación del consentimiento



### 6.5. Operacionalización de variables

<b>Independiente</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>
<b>Síndrome de Sjögren primario</b>	Cualitativa dicotómica nominal	Presencia de SSp	Enfermedad crónica multisistémica caracterizada por inflamación en glándulas lagrimales y salivales resultando en síndrome seco	Con criterios de clasificación EULAR/ACR 2016 de SSp
<b>Edad</b>	Cuantitativa continua	Edad en años	Tiempo que ha vivido una persona al momento del estudio	Años
<b>Género</b>	Cualitativa dicotómica nominal	Mujer	Aspectos socialmente atribuidos a un individuo, diferenciando lo masculino de lo femenino, en base a sus características biológicas.	Mujer
<b>Dependiente</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>
Polimorfismo	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Presencia de dos o más formas variantes de	Presencia o ausencia



			una secuencia específica de ADN entre diferentes personas o poblaciones	
Ojo seco	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	Cantidad o calidad de lágrima en ojos no adecuada	Puntuación de tinción ocular SICCA de $\geq 5$ Prueba de Schirmer de $\leq 5$ mm por 5 min
Focus score	Cuantitativa discreta	Células inflamatorias por 4 mm <sup>2</sup> de glándula salival menor	Puntaje determinado por el número de infiltrados de células mononucleares que contienen $\geq 50$ células inflamatorias por 4 mm <sup>2</sup> de glándula salival labial menor obtenidas en la biopsia	Número de infiltrados de células mononucleares que contienen al menos 50 células inflamatorias en un área glandular de 4 mm <sup>2</sup>

### 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 una prevalencia de SSp de 0,2% y un modelo genético, el tamaño de la muestra corresponde a 150 pacientes con SSp y 150 controles sanos (relación de 1:4).





## **6.7 Descripción operativa**

### **6.7.1 Detección de pacientes**

Se incluyeron pacientes que cumplieron con criterios de clasificación 2016 descritos por ACR / EULAR. Es decir, pacientes ya diagnosticados por el servicio de reumatología y que acuden a consulta periódicamente. Por otro lado también se incluyeron aquellos pacientes de reciente diagnóstico y que hayan sido confirmados por médicos reumatólogos del servicio de consulta externa de reumatología del Hospital Juárez de México.

Se invitaron a los pacientes detectados a tomar parte en el protocolo de investigación, y en caso de aceptar, se procedió a obtener firma del consentimiento informado y toma de muestra.

### **6.7.2 Toma de muestra**

Se procedió a tomar una muestra de sangre periférica de 5 ml, en tubos vacutainer que contiene EDTA como anticoagulante

### **6.7.3 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, 3 ml solución de sacarosas/tritón 2X
4. Se decantó el sobrenadante y se agregaron 3 ml de solución de sacarosas/tritón 1X, se centrifugó durante 5 minutos a 3500 r.p.m.
5. Se decantó el sobrenadante
6. Al botón obtenido se le agregaron 3 ml de solución amortiguadora de lisis de células, 25 µl de proteinasa K, y 25 µl de duodecil-sulfato de sodio al 20%
7. Se incubó la muestra con la mezcla de reactivos durante 1 hora a 60°C
8. Pasado este tiempo se agregaron 500 µl de cloruro de sodio
9. Se centrifugó a 3000 rpm/10 min la mezcla, posteriormente se decantó a un tubo limpio y se agregaron 2 ml de alcohol etílico grado biología molecular con movimientos suaves
10. Se obtuvo y se separó el ADN en un microtubo limpio
11. Se lavó el ADN con alcohol etílico al 70%
12. Finalmente, al ADN obtenido se le agregaron 200 µl de solución amortiguadora para conservarlo
13. Se cuantificó la concentración de ADN en un espectrofotómetro



### 6.7.4 Genotipificación

Para determinar los genotipos de esta variante en ambos grupos (casos-contróles), se emplearán sondas TaqMan fluorescentes de genotipificación de la casa comercial Applied Biosystems (ID: rs3857496; C\_\_8945204\_10; cat. 4351379 de ThermoFisher scientific ). Cada vial de reactivo contiene un par de sondas, cada una de ellas complementarias a la secuencia de ADN donde se encuentra el polimorfismo de interés, que se identificó mediante RT-PCR en el termociclador Opus CFX de Bio-Rad. La mezcla de reacción para cada muestra, se describe a continuación:

Reactivo	Concentración Final	Volumen de reactivo por reacción
Agua grado biología molecular	1 x	2.43 µl
TaqMan Universal PCR Master mix	150 nM	2.50 µl
Sonda	50 nM	0.07 µl
ADN molde	30 ng	3 µl
Volumen Total		8 µl

Cada mezcla de reacción con su respectivo ADN se colocó en un lugar específico de una placa de 96 pozos.

1. La placa se colocó en un equipo de PCR en tiempo real
2. Las condiciones de amplificación fueron: 50° C por 2 minutos (incubación inicial)
3. 95° por 8 minutos (activación)
4. 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 segundos
5. Alineamiento y extensión a 60° C por 1 minuto
6. Los resultados se visualizaron a través de un plot de discriminación alélica, donde se identificaron los tres genotipos de esta variante

### 6.7.5 Diagnóstico de ojo seco

Se enviaron pacientes con diagnóstico probable de síndrome de Sjögren a la consulta externa de oftalmología para realización de pruebas para diagnóstico de ojo seco tales como: Prueba de Schirmer y tinciones como fluoresceína y verde lisamina.

### 6.7.6 Determinación de focus score

Se enviaron pacientes con diagnóstico probable de SSp a realización de biopsia de glándula salival menor al servicio de cirugía maxilofacial para determinar mediante histopatología en el espécimen, el número de células mononucleares que contengan al menos 50 células inflamatorias en un área glandular de 4 mm<sup>2</sup>.





## 7. Análisis estadístico

La estadística descriptiva de las variables cuantitativas (medidas de tendencia central y dispersión) fue realizada con el software IBM SPSS versión 25. La estadística analítica fue realizada mediante la prueba de chi cuadrada, considerando significancia estadística con  $p < 0.05$  e intervalo de confianza del 95%, con el software Finetti. El equilibrio de Hardy-Weinberg para casos y controles se obtuvo mediante este mismo programa.

## 8. Recursos

Equipo médico del servicio de reumatología e investigadores de la Unidad de Investigación.

## 9. Aspectos éticos

Esta es una investigación con riesgo mínimo, ya que se tomó una sola toma de muestra de sangre periférica. (Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud).

Todos los procedimientos que se realizaron, están de acuerdo con las normas éticas en el reglamento de la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

El estudio se llevó a cabo con apego a las normas institucionales en materia de investigación científica y al título segundo, capítulo primero, artículos 16 y 17 fracción I, II, III del RLGSMIS.

La ley general de protección de datos personales en posesión de los sujetos obligados define como datos personales a cualquier información concerniente a una persona física identificada o identificable. También estipula que los datos personales sensibles son aquellos que se refieran a la esfera más íntima de su titular o cuya utilización indebida pueda dar origen a discriminación o conlleve riesgo grave para éste.

Por lo anterior la información captada de todos los pacientes se manejará de forma confidencial por parte del investigador principal usando un número de folio en cada paciente para evitar su identificación y registrará en una base de datos electrónica únicamente los datos necesarios para dar cumplimiento al objetivo de la presente investigación.





## 10. Aspectos de bioseguridad

La toma de muestra se realizó en los cubículos para toma de muestra del laboratorio clínico del HJM. El personal que tomó las muestras sanguíneas está altamente capacitado para hacerlo. Para esto, el profesional de la salud portó bata, cubre bocas, y guantes. Las agujas vacutainer y jeringas se desecharon en contenedor rojo conforme a la NOM087.

Los procedimientos experimentales (extracción de ADN y RT-PCR) se llevaron a cabo en el laboratorio provisional asignado a la división de investigación, el personal operativo usó equipo de protección personal, como es; bata, guantes cubreboca. Todos los procedimientos fueron llevados a cabo bajo un gabinete de bioseguridad clase II.

Las mesas y superficies donde se llevó a cabo la extracción se desinfectaron antes y después de llevar a cabo el procedimiento. Asimismo, los residuos generados de la extracción de ADN y el material de desecho del RT-PCR se recolectaron y destruyeron como desechos de riesgo biológico (RPBI) de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 en contenedores rígidos o bolsas rojas.

## 11. Resultados:

Nuestro grupo de estudio incluyó 149 mujeres con criterios diagnósticos de SSp ACR/EULAR 2016, con una mediana de edad de 65 años (RIQ 55.5- 72.3) y 172 mujeres como controles sanos con una mediana de 50.6 años (RIQ 23-83).

Las características clínicas de las pacientes se observan en la tabla 1:

**Tabla 1.** Características clínicas de 109 mujeres con SSp

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Síntomas secos</b>		
Xeroftalmia	100	91.7%
Xerostomía	38	34.8%
<b>Pruebas de sequedad ocular</b>		
Prueba de Schirmer	90	82.5%
Prueba de tinción ocular	58	53.2%
<b>Pruebas de sequedad oral</b>		
Flujo salival no estimulado	94	86.2%
<b>Serología</b>		
Anti-SSA (Ro)+	95	87.1%
Anti-SSB (La)+	58	53.2%
<b>Biopsia de glándula salival menor</b>		
Si	83	76.1%



Se realizó un análisis de genotipos para el polimorfismo rs3857496 del gen *BACH2*, sin encontrarse asociación de la variante alélica (tabla 2).

**Tabla 2.** Frecuencias alélicas y genotípicas del SNV rs3857496 de *BACH2* y análisis de asociación en pacientes con SSp y sujetos control.

Gene SNV	Model	Genotype or allele	SSp n (%)	Controls n (%)	OR 95% CI	p
<i>BACH2</i> rs3857496T/C	Codominant	TT	51 (34.2)	72 (41.9)	1.27 (0.78 – 2.058)	0.21
		TC	70 (47.0)	78 (45.4)		
		CC	28 (18.8)	22 (12.8)		
	Allele	T	172 (58.0)	222 (65.0)	1.33 (0.97 – 1.83)	0.07
		C	126 (42.0)	122 (35.0)		

SNV: Variante de un solo nucleótido; OR: odds ratio; CI: Intervalo de confianza;  
SSp: Síndrome de Sjögren primario  $p < 0.05$ : estadísticamente significativo

## 12. Discusión

En este estudio se analizó la asociación entre el polimorfismo rs3857496 del gen *BACH2* y la susceptibilidad para desarrollar SSp en población mexicana. Este estudio no encontró asociación entre ambos.

Nuestra principal limitación es que no se llegó a la meta del número de controles calculado, se requiere alcanzarla para analizar si la variante de un solo nucleótido está asociada con la presencia de la enfermedad.

La fortaleza principal del estudio es que es el primero en evaluar la asociación entre el polimorfismo rs3857496 localizado en el gen *BACH2* en pacientes con SSp en población mexicana.

Múltiples estudios han demostrado asociación entre variantes genéticas, principalmente polimorfismos de nucleótido único, con susceptibilidad de padecer diversas enfermedades autoinmunes. Respecto al SSp las principales vías afectadas son la del IFN, NF- $\kappa$ B, señalización de células B y células T, las principales alteraciones genéticas se encuentran a nivel del HLA clase II. Dentro de los genes no HLA los polimorfismos ubicados en el locus IRF5, STAT 4 etc, han reportado asociación con el desarrollo de SSp.<sup>11</sup>

Heng Zhang et al. concluyeron en su investigación que la deficiencia del gen *BACH2* lleva a incremento en IL-4 y por lo tanto de células T helper y anomalía en centros germinales, demostrando su papel en la autoinmunidad.<sup>16</sup>





Wei Liu et al en su estudio de asociación de genoma completo, confirmaron que *BACH2* es un gen de susceptibilidad para enfermedad de Graves en población china, siendo rs2474619, la variante más asociada a la enfermedad.<sup>17</sup>

Lina Zhou et al, describieron el caso de un paciente con lupus eritematoso sistémico (LES) de inicio temprano, observándose expresión reducida de *BACH 2* y disminución en células B en padre con mutación heterocigota en *BACH 2* demostrando que puede ser una causa monogénica de LES.<sup>44</sup>

Pocos estudios a nivel mundial sobre la variante rs3857496 del gen *BACH2* han sido realizados para buscar asociación con enfermedades autoinmunes. Aún más, este polimorfismo no ha sido estudiado en SSp en ninguna parte del mundo, por lo que este estudio será el primero en buscar dicha asociación, en este caso, en población mexicana.

El estudio presente, nos permitirá ampliar el estudio de asociación del genoma en SSp y por ello identificar el vínculo existente entre variaciones genéticas con el desarrollo de la enfermedad propio de cada población e incluso variaciones en el fenotipo de la misma.

**Fondos:** Esta investigación recibió financiación por el Conacyt

**Declaración de la junta de revisión Institucional:** el estudio se realizó según las directrices del Hospital Juárez de México.

Declaración de consentimiento informado: todos los datos de los pacientes de este estudio están disponibles previa solicitud al autor correspondiente.

**Expresiones de gratitud:** A los pacientes participantes y profesionales de salud implicados en el estudio.

**Conflictos de interés:** los autores declaran no tener conflicto de interes

### 13. Conclusiones

El estudio de la SNP rs3857496 localizado en el gen *BACH2* para el alelo T, obtuvo una P no significativa por lo que no se encontró que se asocie con el incremento en la susceptibilidad para presentar SSp en población mexicana por el modelo codominante.

Respecto al modelo alélico, hay una tendencia de asociación de 0.07. En un futuro se puede aumentar el grupo control o realizar pruebas funcionales para conocer la influencia de la variante estudiada sobre el SSp.





## 14. Recomendaciones

Este estudio se realizó con una proporción de casos y controles de 1:4, se obtuvo una P no significativa por lo que se recomienda incrementar el tamaño de muestra acorde a promedio de susceptibilidad de SS<sub>p</sub> reportado en la literatura y el de controles, con una relación mínima de 1:2.

## 15. Bibliografía

1. Thorne I, Sutcliffe N. Sjögren's syndrome. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2017; 78(8):438-442
2. Bombardieri M, Argyropoulou O, Ferro F, Coleby R, Pontarini E, Governato G, et al. One year in review 2020: pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2020; 126(4):3-9
3. Brito Z, Baldini C, Bootsma H, Bowman SJ, Jonsson R, Mariette X et al. Sjögren syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2:16047
4. Ramos M, Brito ZP, Solans R, Camps MT, Casanovas A, Sopeña B et al. Systemic involvement in primary Sjögren's syndrome evaluated by the EULAR-SS disease activity index: analysis of 921 Spanish patients (GEAS-SS Registry). *Rheumatology (Oxford)*. 2014; 53(2):321-31
5. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, Dietrich T, Burmester GR, Dörner T. The Diagnosis and Treatment of Sjögren's Syndrome. *Dtsch Arztebl Int*. 2017; 114(20):354-361
6. Luciano N, Valentini V, Calabro A. One year in review 2015: Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2015; 33:259-71
7. 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. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69(1):35-45
8. Rasmussen A, Ice JA, Li H, Grundahl K, Kelly JA, Radfar L et al. Comparison of the American-European Consensus Group Sjögren's syndrome classification criteria to newly proposed American College of Rheumatology criteria in a large, carefully characterised sicca cohort. *Ann Rheum Dis* 2014; 73:31-38
9. Bowman SJ, Fox RI. Classification criteria for Sjögren's syndrome: nothing ever stands still. *Ann Rheum Dis*. 2014; 73(1):1-2





10. Reksten TR, Lessard CJ, Sivils KL. Genetics in Sjögren Syndrome. *Rheum Dis Clin North Am.* 2016; 42(3):435-47
11. Imgenberg-Kreuz J, Rasmussen A, Sivils K, Nordmark G. Genetics and epigenetics in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2021; 60(5):2085-2098
12. Harris V.M, Scofield R.H, Sivils K.L. Genetics in Sjögren's syndrome: where we are and where we go. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2019; 37 (118):S234-S239
13. Miceli C, Comets E, Loiseau P, Puechal X, Hachulla E, Mariette X. Association of an IRF5 gene functional polymorphism with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2007; 56(12):3989-94
14. Gestermann N, Mekinian A, Comets E, Loiseau P, Puechal X, Hachulla P et al. STAT4 is a confirmed genetic risk factor for Sjögren's syndrome and could be involved in type 1 interferon pathway signaling. *Genes and Immunity.* 2010; 11:432–438
15. Colafrancesco S, Ciccacci C, Priori R, Latini A, Giovanna G, Arienzo F, Giuseppe et al. STAT4, TRAF3IP2, IL10, and HCP5 Polymorphisms in Sjögren's Syndrome: Association with Disease Susceptibility and Clinical Aspects. *J Immunol Res.* 2019; 2019:2- 6
16. Zhang H, Hu Q, Zhang M, Yang F, Peng C, Zhang Z, et al. *BACH2* Deficiency Leads to Spontaneous Expansion of IL-4-Producing T Follicular Helper Cells and Autoimmunity. *Front Immunol.* 2019; 10:2050
17. Liu W, Wang HN, Gu ZH, Yang SY, Ye XP, Pan CM, et al. Identification of *BACH2* as a susceptibility gene for Graves' disease in the Chinese Han population based on a three-stage genome-wide association study. *Hum Genet.* 2014; 133(5):661-71
18. Kuwahara M, Ise W, Ochi M et al. Bach2-Batf interactions control Th2-type immune response by regulating the IL-4 amplification loop. *Nat Commun.* 2016; 7(1):1-11
19. Ice JA, Li H, Adrianto I, Lin PC, Kelly JA, Montgomery CG et al. Genetics of Sjögren's syndrome in the genome-wide association era. *J Autoimmun.* 2012; 39(1-2):57-63
20. Roychoudhuri R, Hirahara K, Mousavi K, Clever D, Klebanoff C, Bonelli M, et al. *BACH2* represses effector programs to stabilize T(reg)-mediated immune homeostasis. *Nature.* 2013; 498(7455):506-510





21. Igarashi K, Ochiai K, Itoh-Nakadai A, Muto A. Orchestration of plasma cell differentiation by Bach2 and its gene regulatory network. *Immunol Rev.* 2014; 261(1):116-25
22. Kottyan L, Trimarchi M, Lu X, Caldwell JM, Maddox A, Parameswaran S, et al. Replication and meta-analyses nominate numerous eosinophilic esophagitis risk genes. *J Allergy Clin Immunol.* 2021; 147(1):255-266
23. Ferreira M, Matheson M, Duffy D, Marks G, Hui J, Le Souëf P, et al. Identification of IL6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma. *Lancet.* 2011; 378(9795):1006-14
24. Franke A, McGovern D, Barrett J, Wang K, Radford-Smith G, Ahmad T, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010; 42(12):1118-25
25. Dubois P, Trynka G, Franke L, Hunt K, Romanos J, Curtotti A, et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet.* 2010; 42(4):295-302
26. Jin Y, Birlea S, Fain P, Ferrara T, Ben S, Riccardi S et al. Genome-wide association analyses identify 13 new susceptibility loci for generalized vitiligo. *Nat Genet.* 2012; 44(6):676-680
27. Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer C, Patsopoulos N, Moutsianas L, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature.* 2011; 476 (7359):214-219
28. Nakayama Y, Stabach P, Maher S, Mahajan M, Masiar P, Liao C, et al. A limited number of genes are involved in the differentiation of germinal center B cells. *J Cell Biochem.* 2006; 99(5):1308-25
29. Vahedi G, Kanno Y, Furumoto Y, Jiang K, Parker SC, Erdos MR et al. Super-enhancers delineate disease-associated regulatory nodes in T cells. *Nature.* 2015; 520(7548):558-562
30. Ochiai K, Katoh Y, Ikura T, Hoshikawa Y, Noda T, Karasuyama H, et al. Plasmacytic transcription factor Blimp-1 is repressed by Bach2 in B cells. *J Biol Chem.* 2006; 281(50):38226-34
31. Kuwahara M, Suzuki J, Tofukuji S, Yamada T, Kanoh M, Matsumoto A, et al. The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T-cell senescence and cytokine homeostasis. *Nat Commun.* 2014; 5:3555
32. Povoleri G, Scottà C, Nova E, John S, Lombardi G, Afzali B. Thymic versus induced regulatory T cells - who regulates the regulators?. *Front Immunol.* 2013; 4:169
33. Hoshino H, Kobayashi A, Yoshida M. Oxidative stress abolishes leptomycin B-sensitive nuclear export of transcription repressor Bach2 that counteracts





- activation of Maf recognition element. *J. Biol. Chem.* 2000; 275 (20):15370-1537
34. Tsukumo S, Unno M, Muto A. Bach2 maintains T cells in a naive state by suppressing effector memory-related genes. *PNAS.*2013; 110(26):10735-10740
  35. Kim E, Gasper D, Lee S, Plisch E, Svaren J, Suresh M. Bach2 regulates homeostasis of Foxp3+ regulatory T cells and protects against fatal lung disease in mice. *J. Immunol. Res.* 2014; 192 (3):985–995
  36. Sasikala M, Ravikanth V, Murali K. *BACH2* repression mediates Th17 cell induced inflammation and associates with clinical features of advanced disease in chronic pancreatitis. *United Eur. Gastroenterol.J.*2018; 6(2):272-282
  37. Sadee W. Measuring cis-acting regulatory variants genome-wide: new insights into expression genetics and disease susceptibility. *Genome Med.* 2009;1:116
  38. Tress ML, Martelli PL, Frankish A, et al. The implications of alternative splicing in the encode protein complement. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2007; 104:5495-500
  39. Baralle D, Baralle M. Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet.* 2005; 42:737-48
  40. Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet.* 2008; 40:1413-5
  41. Hansson O, Zhou Y, Renstrom E, Osmark P. Molecular function of TCF7L2: consequences of TCF7L2 splicing for molecular function and risk for type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.* 2010; 10:444-51
  42. Nakata K, Lipska BK, Hyde TM, et al. DISC1 splice variants are upregulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106:15873-8
  43. Lalonde E, Ha KC, Wang Z, et al. RNA sequencing reveals the role of splicing polymorphisms in regulating human gene expression. *Genome Res.*2011; 21:545-54
  44. Zhou L, Sun G, Chen R, Chen J, Fang S, Xu Q et al. An early-onset SLE patient with a novel paternal inherited BACH2 mutation. *J Clin Immunol.* 2023; 1-11

## 16. Anexos





**Lista de Cotejo de Validación de Tesis de Especialidades Médicas**

<b>Fecha</b>	13	julio	2023
	día	mes	año

INFORMACIÓN GENERAL (Para ser llenada por el área de Posgrado)						
<b>No. de Registro del área de protocolos</b>	Si	<input checked="" type="checkbox"/>	No	Número de Registro	HJM 124/22-R	
<b>Título del Proyecto</b> Asociación del polimorfismo rs3857496 del gen <i>BACH2</i> y susceptibilidad para padecer síndrome de Sjögren primario en población mexicana						
<b>Nombre Residente</b>	Diana Karina Pérez Cruz					
<b>Director de tesis</b>	Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos					
<b>Director de tesis metodológico</b>	Dra. Isela Montúfar Robles					
<b>Ciclo escolar que pertenece</b>	2023-2024	<b>Especialidad</b>	REUMATOLOGÍA			
INFORMACIÓN SOBRE PROTOCOLO/TESIS (Para ser validado por la División de Investigación/SURPROTEM)						
<b>VERIFICACIÓN DE ORIGINALIDAD</b>	<b>HERRAMIENTA</b>	<b>PLAGIUS</b>		<b>PORCENTAJE</b>	22%	
<b>COINCIDE TÍTULO DE PROYECTO CON TESIS</b>				SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>COINCIDEN OBJETIVOS PLANTEADOS CON LOS REALIZADOS</b>				SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>RESPONDE PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>				SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>RESULTADOS DE ACUERDO CON ANÁLISIS PLANTEADO</b>				SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>CONCLUSIONES RESPONDEN PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>				SI	<input checked="" type="checkbox"/>	NO
<b>PRETENDE PUBLICAR SUS RESULTADOS</b>				SI		NO <input checked="" type="checkbox"/>
VALIDACIÓN (Para ser llenada por el área de Posgrado)						
<b>Si</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Comentarios:</b>				
<b>No</b>		Tesis validada para continuar su trámite de titulación en Enseñanza.				

VoBo.  
  
SURPROTEM/DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Dirección de Investigación y Enseñanza  
Comité de Investigación

Ciudad de México, a 30 de marzo de 2023  
No. de Oficio: CI/071/2023  
Asunto: **Carta de Aceptación**

**DRA. DIANA KARINA PÉREZ CRUZ**  
Médico Residente

Presente

En relación al Trabajo Monográfico de Actualización titulado **ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO RS3857496 DEL GEN BACH2 Y SUSCEPTIBILIDAD PARA PADECER SÍNDROME DE SÖGREN PRIMARIO EN POBLACIÓN MEXICANA** con número de registro HJM 124/22-R, bajo la dirección de la DRA. ELDA BARBOSA COBOS, fue evaluado por el Subcomité para Protocolos de Tesis de Especialidades Médicas, quienes dictaminan:

**"ACEPTADO"**

A partir de esta fecha queda autorizado y podrá dar inicio al protocolo. La vigencia para la culminación del proyecto es de un año el 30 de marzo 2024.

Le informo también que los pacientes que ingresen al estudio, solamente serán responsables de los costos de los estudios necesarios y habituales para su padecimiento, por lo que cualquier gasto adicional que sea necesario para el desarrollo de su proyecto deberá contar con los recursos necesarios para cubrir los costos adicionales generados por el mismo.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

**Atentamente**



**Dr. Juan Manuel Bello López**  
Presidente del Comité de Investigación  
Hospital Juárez de México

JMBL/ NCSB /MALM

