



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

**“EVALUACIÓN DE LA VARIANTE rs704840 DEL GEN TNFSF4 Y SU
RELACIÓN CON ESCLERITIS EN PACIENTES DEL HOSPITAL JUAREZ DE
MÉXICO”**

NÚMERO DE REGISTRO: HJM 129/22-R

TESIS

QUE PARA OBTENER EL:
GRADO DE ESPECIALISTA
EN:
OFTALMOLOGÍA

PRESENTA:
DRA. ANNA IVETTE ESPINOZA RAMÍREZ

TUTOR-DIRECTOR DE TESIS
DRA. INGRID PATRICIA URRUTIA BRETON
DIRECTORA METODOLOGICA
DRA. EN C. ISELA MONTUFAR ROBLES

[CIUDAD DE UNIVERSITARIA, CDMX, 2024]





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.

ÍNDICE

1.- Introducción	3
2.- Planteamiento del problema	7
3.- Justificación.	8
4.- Pregunta de investigación.	9
5.- Hipótesis.....	10
6.- Objetivos.	11
6.1. Objetivo general.....	11
6.2 Objetivos específicos.....	11
7. Metodología	12
7.1. Diseño de la investigación:	12
7.2. Tipo de estudio.....	12
7.3. Ubicación temporal y espacial	12
7.4. Definición de la población	12
7.5. Definición de variables	13
7.6. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información.....	14
7.6.1. Cálculo del tamaño de la muestra	14
8.- Análisis estadístico	15
8.1 Detección de pacientes	15
8.2 Revisión de expedientes	15
8.3 Descripción operativa	15
8.4 Toma de muestras.....	16
8.5 Extracción de ADN.....	16
8.6 Genotipificación de <i>TNFSF4</i>	17
9.- Aspectos éticos	17
10.- Resultados	18
11.-discusión.....	21
12.- Aspectos de bioseguridad	22
13.-Conclusión	23
14.- Referencias bibliográficas.....	24
15.- Anexos	26

1.- INTRODUCCIÓN

La escleritis es la inflamación de la esclerótica de prevalencia relativamente rara, cuyo sexo predominante es femenino en un 61% de las veces, con una edad predominante de 52 años, Se caracteriza por edema e infiltración celular de todo el espesor de la esclerótica. Los datos clínicos relevantes son: Dolor ocular profundo, fotofobia, lagrimeo, movimientos oculares doloroso, inyección conjuntiva, adelgazamiento de la esclerótica en casos crónicos, con frecuencia hay una relación con una enfermedad autoinmune sistémica en aproximadamente el 50% de los pacientes, con frecuencia es una de las manifestaciones extraoculares de la artritis reumatoide. (1). La condición puede ser bilateral en un 52% y la mitad de estos casos ocurren en ambos ojos simultáneamente, La escleritis se presenta en todas las razas sin ninguna predilección. Los pacientes con escleritis tienen entre un 25 % a un 50 % de posibilidades de albergar una enfermedad sistémica responsable de la inflamación ocular. (2)

La clasificación anatómica de la escleritis se muestra en la tabla 1, donde se dividen en el involucro anatómico de la esclera, la presencia o ausencia de nódulos o si presenta adelgazamiento secundario a necrosis. Es relevante destacar una de las alteraciones histopatológicas encontradas en la escleritis en el corte histológico de los nódulos de la escleritis es la presencia de zonas de necrosis, infiltración de células mononucleares (linfocitos principalmente) con células gigantes escasas y congestión vascular (3). En la escleritis idiopática, se ha encontrado en biopsias caracterizada por inflamación crónica no específica con folículos y cantidades variables de fibrosis, aunque en realidad es infrecuente el uso de estas para realizar un diagnóstico. (4)

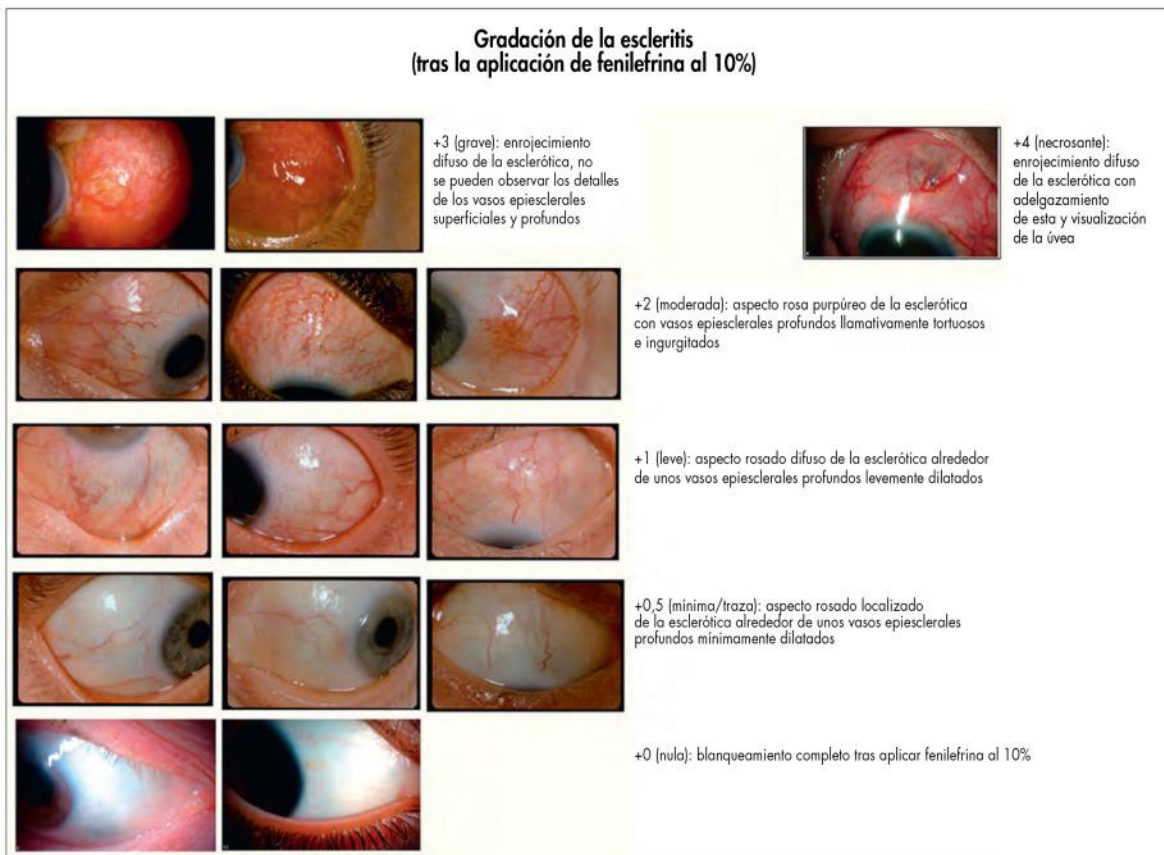
La clasificación puede ayudar a determinar la gravedad de la enfermedad y así seleccionar el tratamiento ideal para evitar el compromiso de estructuras.

Tipo	Subtipo
Escleritis anterior no necrotizante	Difusa
	Nodular
Escleritis necrotizante anterior con inflamación	Vaso-oclusiva
	Granulomatosa
Escleromalacia perforante	
Escleritis posterior	

TABLA 1. CLASIFICACIÓN ANATÓMICA DE ESCLERITIS. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El estudio con lámpara de hendidura muestra ingurgitación de los vasos conjuntivales suprayacentes. La episclerótica puede estar edematosa e inflamada. En ocasiones, la inflamación secundaria de la conjuntiva y la episclerótica dificulta la identificación de la inflamación de base en la esclerótica. (5). Los hallazgos clínicos que podemos encontrar en la biomicroscopia suelen ser de inicio insidioso, sin embargo, con frecuencia encontramos distorsión y tortuosidad de las redes vasculares superficiales y profundas con pérdida del patrón radial normal. La esclerótica a menudo adquiere un color violeta, azul o salmón. (7).

La fenilefrina tópica blanquea la conjuntiva suprayacente y, en mucha menor medida, la episclerótica, y puede facilitar una mejor delimitación de la profundidad de la inflamación (5). Un sistema de graduación sencillo para la escleritis, que se ha descrito en la literatura, permite estandarizar la evaluación de este cuadro: (6)



CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE ESCLERITIS (DESPUÉS DE APLICAR FENILEFRINA 10%). FUENTE: (SEN HN ET AL 2011)

Existen diferentes tipos de escleritis, cada una de ellas adquiere su terapia según el tipo, tal es el caso de la escleritis idiopática difusa o nodular que por medio de los antiinflamatorios no esteroideos no presenta algún tipo de complicación ocular; la escleritis nodular llega a responder con dosis de antiinflamatorios no esteroideos; finalmente los pacientes que presentan escleritis difusa o nodular que tienen como principal enfermedad sistémica responden a uso de inmunosupresores o esteroides. (7).

Las estrategias de tratamiento para la escleritis clásicamente incluyen AINE (antiinflamatorios no esteroideos) como primera línea. Es posible que más del 70% de los pacientes requieran esteroides, por vía oral y/o en pulsos intravenosos. El tratamiento tópico asociado puede incluir esteroides, AINE, ciclopléjicos, lágrimas artificiales y/o ciclosporina.

Se informa que los FARME (fármacos modificadores de la enfermedad) se utilizan en la mitad de los pacientes: metotrexato, sulfasalazina, ciclofosfamida, ciclosporina A o azatioprina. En una serie de casos con escleritis posterior, los pacientes tratados con micofenolato de mofetilo (MMF) mostraron un tiempo de recaída significativamente acelerado en comparación con otros pacientes. (8)

La particularidad de la inmunología ocular, la cual es diferente al resto del cuerpo: El ojo emplea mecanismos para suprimir activamente la respuesta del sistema inmunitario sistémico a un antígeno introducido en el ojo, conocido como desviación inmunitaria relacionada a la cámara anterior. En modelos animales, los antígenos inyectados en el humor acuoso sin ninguna señal de peligro acompañante son absorbidos por las células presentadoras de antígenos del iris y el cuerpo ciliar, que ingresan a la circulación venosa, sin pasar por el drenaje linfático tradicional. Estas células presentadoras de antígenos migran a través del torrente sanguíneo y pueden inducir la formación de células supresoras inmuno-moduladoras en el timo y el bazo, incluidas las células (células dendríticas) CD4+ o CD8+, las células B reguladoras de la zona marginal, las células T reguladoras, o las células T reguladoras asesinas naturales invariantes (iNKT), que dan como resultado desviación inmune específica de antígeno. Sin embargo, una consecuencia del privilegio inmunitario es que los mismos mecanismos que protegen al ojo de la activación inmunitaria pueden, paradójicamente, dejar al ojo vulnerable a enfermedades autoinmunitarias al impedir la inducción de tolerancia periférica. (9)

La etiología de la escleritis es desconocida, se ha propuesto el involucro de las células T en el desarrollo de la escleritis debido a que pocos genes han sido estudiados y asociados con esta enfermedad, uno de los genes importantes en la activación del linfocito T es el *TNFSF4*, el cual es la cuarta citosina de la súper familia de moléculas pertenecientes al factor de necrosis tumoral. El gen *TNFSF4*, también llamado OX40, se encuentra localizado en el cromosoma 1 del brazo largo en la

región 25 banda1. Esta citocina codifica a otras moléculas como el ligando OX40 (OX40L, CD252), que se expresa en células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas y los linfocitos T.

La unión OX40 Y OX40L está involucrada en varias funciones reguladoras asociadas con la activación y proliferación de los linfocitos, la proliferación y supervivencia de los linfocitos T la producción de citocinas y la producción de memoria. (10)

El OX40 se expresa principalmente en la molécula CD4+ y CD8+ de las células T; el compromiso del OX40 con su ligando proporciona una fuerte señal coestimuladora a las células T efectoras activadas y mejora las respuestas Th1 y Th2. La señalización mediada por OX40L estimulada por *TNFSF4* inhibe la generación y función de CD4 que produce interleucina-10 (IL-10), y células T reguladoras tipo 1, que juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la tolerancia periférica. (10)

Se ha demostrado que OX40–OX40L induce la activación y diferenciación de células B; por lo tanto, el aumento de los niveles de OX40L en la superficie celular puede aumentar la diferenciación y proliferación de células B, cuya consecuencia es que los autoanticuerpos y complejos inmunes resultantes causen patologías auto inmunes y complicaciones resultantes de las mismas. *TNFSF4* se expresa en la presentación de antígenos (APC), células T, células B, células asesinas naturales (NK), macrófagos, células dendríticas y células endoteliales vasculares. (11)

La relación de algunas variantes genéticas como rs1234315 T/C, rs2205960 G/T, y rs704840 T/G, de *TNFSF4* ha sido poco estudiadas en afecciones como escleritis, aunque se han visto una estrecha relación con enfermedades del sistema inmune como lupus eritematoso sistémico (LES), la enfermedad de Sjögren (SS), artritis reumatoide y esclerosis sistémica. (12)

Los polimorfismos del gen *TNFSF4* están asociados con la enfermedad de Behcet (BD) y enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada (VKH), aunque cada enfermedad está asociada con un locus separado. El alelo T y el genotipo TT de rs1234315 de *TNFSF4* aumentaron en BD, mientras que el alelo T y el genotipo TT de rs12039904 confieren riesgo de enfermedad VKH. *TNFSF4* se expresa principalmente en las células T CD4 +, donde desempeña un papel en la estimulación de la producción de IL-17 y la inhibición de la producción de IL-10. *TNFSF4* activa las células T CD4 + cuando se une a su receptor *TNFSF4* como una potente señal coestimuladora. (11)

A la fecha no existe ni un solo artículo que evalué polimorfismos del gen *TNFSF4* y escleritis idiopática y dada la importancia de este gen, para la activación del linfocito T a través del contacto de la célula presentadora de antígeno (CPA), nosotros quisimos evaluar el polimorfismo rs704840, para conocer si este es un factor de riesgo para la escleritis idiopática en población mexicana.

Cabe mencionar que el polimorfismo rs704840 es una variante intergénica, en la que existe un cambio de Timina por Guanina, las frecuencias encontradas de acuerdo al proyecto 1000genomas, para población mexicana son las siguientes: alelo T 61%, alelo G 39%, siendo el G un polimorfismo común. (13)

Nos ha interesado estudiar esta variante debido a que ha sido asociada con artritis reumatoide, en nuestra población (población mexicana) (14), también ha sido estudiada en síndrome de Sjögren primario y arteritis de Takayasu, en población mexicana (14), aunque no se encontró asociación con estas dos enfermedades, debido a lo anterior queremos conocer el grado de influencia que puede tener el polimorfismo rs704840 en pacientes con escleritis en nuestra población.

Se ha identificado como alelo de susceptibilidad para AR (Artritis reumatoide) en la población mexicana a la variante genética rs704840 del gen *TNFSF4*. Sin embargo, este polimorfismo no se ha evaluado en pacientes con escleritis idiopática; por tanto, la evaluación de esta variante podría demostrar el grado de participación que tiene sobre la susceptibilidad al desarrollo de escleritis. Además, ha sido asociada a AR en población mexicana (15), por lo tanto, si la escleritis se presenta en el 2% de los pacientes con AR, quisimos investigar si esta variante se asociaba solamente a escleritis idiopática, por lo que el presente trabajo pretende investigar la relación entre la variante rs704840 del gen *TNFSF4* y la escleritis en pacientes del Hospital Juárez de México.

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La escleritis es una respuesta inflamatoria de la capa superficial de ojo, dependiendo de diversas bibliografías, se considera que la mitad de los casos son idiopáticos, y la siguiente causa más frecuente se asocia a enfermedades autoinmunes, sin embargo, no se conocen realmente la fisiopatología exacta de escleritis, se acepta la teoría de que es una respuesta del sistema inmune descontrolada desencadenado por los capilares.

Los estudios histopatológicos sugieren que el depósito de complejos inmunes (hipersensibilidad tipo III) en los vasos es importante en este proceso, especialmente en la escleritis necrotizante y no necrotizante recurrente. Los componentes del complemento que ya están contenidos en la esclerótica se activan mediante depósitos inmunes a través de la vía clásica. Los fibroblastos esclerales probablemente participan presentando antígenos a las células T colaboradoras. En la esclerótica y la conjuntiva suprayacente se ha encontrado un aumento general de células inflamatorias, incluidas células T de todos los tipos, macrófagos y células B. Las células T son las células infiltrantes predominantes alrededor de las fibras esclerales. (2)

Es importante recalcar que no hay estudios genéticos sobre escleritis idiopática, lo que nos abre la puerta a que este estudio pueda resolver si hay una asociación con la variante rs704840 del Gen *TNFSF4*, ya que este gen y esta variante en específico tiene un importante papel en la activación y presentación de las células T y no solo la participación que se ha descrito en múltiples artículos en su participación en enfermedades autoinmunes como es artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico, donde se ha descrito que su presentación puede aumentar la prevalencia de los sujetos en su mayoría mujeres a padecer enfermedades autoinmunes.

3.- JUSTIFICACIÓN.

La escleritis, es una afección crónica, dolorosa, progresiva y que potencialmente puede conducir a la ceguera, afecta tanto a la epiesclerótica como a la esclerótica. Debido a ello, se suele relacionar con complicaciones oculares como uveítis anterior, queratitis periférica y glaucoma; y estas pueden causar disminución de la visión, así como su relación a enfermedades sistémicas del tejido conectivo o vasculitis e incluso algunas de ellas son potencialmente letales.

Debido a la importancia que tiene la variante rs704840 del gen *TNFSF4* en la activación del linfocito T (linfocito T-CPA) y a la ausencia de estudios de este polimorfismo con escleritis idiopática se hace relevante el estudio de esta variante en pacientes con dicha patología del Hospital Juárez de México, su evaluación sentara las bases para conocer el fondo genético, así como demostrar el grado de participación que tiene sobre la susceptibilidad al desarrollo de la escleritis idiopática, pues hasta la fecha esta enfermedad ha sido poco estudiada genéticamente.

Los resultados de este trabajo serán un avance en la genética de la escleritis idiopática, pudiendo ser una herramienta clave en la identificación de biomarcadores que indiquen una aparición temprana de la enfermedad, contribuyendo a evitar o disminuir las complicaciones oftalmológicas en los pacientes.

4.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la relación entre la variante rs704840 del gen *TNFS4* y la escleritis idiopática en pacientes del servicio de oftalmología del Hospital Juárez de México?

5.- HIPÓTESIS.

H1. La presencia de la variante rs704840 del gen *TNFS4* está fuertemente relacionada con presencia de escleritis en pacientes atendidos en el servicio de oftalmología.

H0. No hay relación entre la variante rs704840 del gen *TNFS4* y la escleritis en pacientes atendidos en el servicio de oftalmología.

6.- OBJETIVOS.

6.1. OBJETIVO GENERAL.

“Evaluar la asociación de la variante rs704840 del gen TNFSF4 con la susceptibilidad para presentar escleritis.”

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Captación de pacientes con diagnóstico de escleritis idiopática del servicio de oftalmología del HJM
2. Captación de sujetos control de población abierta del HJM
3. Describir las características demográficas de los pacientes incluidos.
4. Conocer las frecuencias de alelos y de genotipos del polimorfismo rs704840 de TNFSF4 en un grupo de pacientes mexicanos con escleritis y en un grupo de individuos sin escleritis utilizado como control.

7. METODOLOGÍA

7.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

Observacional, transversal, prospectivo.

7.2. TIPO DE ESTUDIO

Casos y controles.

7.3. UBICACIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL

Servicio de oftalmología del Hospital Juárez de México. Noviembre-2022 a Julio-2023.

7.4. DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN

Población de estudio

Se captaron 16 pacientes con diagnóstico de escleritis idiopática los cuales fueron diagnosticados por médicos oftalmólogos del servicio de oftalmología del Hospital Juárez de México, así mismo se captaron 30 sujetos sin escleritis usados como control. Tanto casos como controles, debieron cumplir con los siguientes criterios de inclusión.

Criterios de inclusión de casos:

- Sexo femenino
- Mayores de 18 años.
- Mestizos mexicanos.
- Con diagnóstico de escleritis idiopática
- Sin enfermedades autoinmunes
- Consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión:

- Sexo masculino
- Escleritis de causa infecciosa, traumática, alérgica o quirúrgica.

Criterios de eliminación:

- Revocación del consentimiento.
- Muestra inadecuada.

Criterios de inclusión para controles

- Sexo femenino
- Mayores de 18 años.
- Mestizos mexicanos.
- No presentar diagnóstico de escleritis idiopática y sin patología ocular
- Consentimiento informado firmado.

7.5. DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operativa
Dependiente				
Escleritis anterior	Cualitativa dicotómica nominal	Presente o ausente	Grupo heterogéneo de trastornos inflamatorios de la esclera, caracterizado por aparición insidiosa de enrojecimiento ocular, dolor y sensibilidad que ocurre por delante de la inserción de los músculos rectos extra-oculares.	Grupo heterogéneo de trastornos inflamatorios de la esclera, caracterizado por aparición insidiosa de enrojecimiento ocular, dolor y sensibilidad que ocurre por delante de la inserción de los músculos rectos extra-oculares.
Independiente				
Genotipos <i>TNFSF4</i> rs704840	Cualitativa dicotómica nominal	Presente o ausente	citocina de la súper familia de moléculas pertenecientes al factor de necrosis	citocina de la súper familia de moléculas pertenecientes al factor de necrosis

			tumoral, localizado en 1q25.1, se expresa en células presentadoras de antígeno os, como las células dendríticas y los linfocitos B	tumoral, localizado en 1q25.1, se expresa en células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas y los linfocitos B
Edad	Cuantitativa discontinua	años	Tiempo vivido desde el nacimiento	Registro de edad, por medio de la fecha de nacimiento
Sexo	Cualitativa Dicotómica	Hombre o mujer	Características biológicas y fisiológicas que definen a un hombre y a una mujer	Registro del sexo por medio de hombre o mujer

7.6. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.

7.6.1. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

De acuerdo con el programa WinEpi, que evalúa el tamaño de la muestra tomando en cuenta la prevalencia de la enfermedad, asumiendo distribución binomial con un tamaño de la población desconocido, para calcular una proporción estimada de 0.5 y una amplitud del intervalo de confianza igual al doble del error aceptado (10%) con un nivel de confianza del 95%. El tamaño de la muestra se calculó de la siguiente forma:

$$n = \frac{Z_B^2 * p * q}{(d^2)}$$

$$n = \frac{1.96^2 * 0.5 * 0.5}{(0.10^2)}$$

$$n = \frac{0.9604}{0.01}$$

$$n = 96.04 \approx 96$$

n = 96 pacientes

8.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

8.1 DETECCIÓN DE PACIENTES

- Se empleó el programa SNPStats, para el equilibrio de Hardy-Weinberg. Un valor de p , mayor a 0.05 nos permitió realizar la búsqueda de asociación entre la variable y la enfermedad.

Se empleó el programa SNPStats (<https://www.snpstats.net/start.htm>) para la búsqueda de la asociación del polimorfismo rs704840 del gen TNFSF4 con escleritis. Un valor de $p \leq 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

- La determinación de la asociación del polimorfismo con otros parámetros de la enfermedad como manifestaciones clínicas, como uveítis, tiempo de evolución, lagrimeo, dolor, entre otros, se llevó a cabo mediante el programa SPSS. Un valor de $p \leq 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Aplicación de cuestionario

Se identificaron variables demográficas: edad, sexo, origen; antecedentes personales patológicos: tabaquismo y co-morbilidades como diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, infarto de miocardio, hipotiroidismo, cáncer; características clínicas: tiempo de evolución y tiempo de diagnóstico de la enfermedad, estado nutricional, antecedentes oftalmológicos de importancia, cirugías previas, uso de lentes aéreos, uso de tópicos.

8.2 REVISIÓN DE EXPEDIENTES

Se realizó la revisión de expedientes clínicos en búsqueda de la nota de valoración periódica ocular del servicio de oftalmología y reporte de escleritis anterior.

8.3 DESCRIPCIÓN OPERATIVA

Los pacientes fueron reclutados del servicio de oftalmología del Hospital Juárez de México, tales pacientes tuvieron diagnóstico de escleritis idiopática, dicho diagnóstico fue establecido por un médico oftalmólogo de dicho servicio, si los pacientes que cubrieron los criterios de inclusión mencionados anteriormente, se les invitaron a participar en el estudio, su aceptación fue ratificada en el consentimiento informado. (disponibles en anexos)

Una vez que firmaron, se tomó una muestra de sangre periférica de la cual se realizó una extracción de ADN (la técnica viene descrita en el apartado de extracción de ADN)

Después de la extracción de ADN, se realizó, un RT-PCR (tiempo real) la mezcla de reacción para la realización del tiempo real se describe en la sección de genotipificación del gen TNFSF4, los resultados fueron analizados por un programa estadístico programa SNPStats, con el fin encontrar si existía o no una asociación entre la variante genética y la enfermedad. Dichos resultados fueron reportados en una tabla en Excel.

8.4 TOMA DE MUESTRAS

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

8.5 EXTRACCIÓN DE ADN

1. Las muestras contenidas en tubos con EDTA (ácido etilendiaminotetracético) fueron centrifugadas a 3000 r.p.m durante 10 minutos.
2. Se tomó la capa de leucocitos y se colocó en un tubo limpio de 15 ml para iniciar el procedimiento de extracción del ADN.
3. Se agregó a cada tubo de 15 ml, 3 ml de buffer de lavado.
4. Nuevamente, se centrifugó la muestra obtenida de la mezcla, durante 5 minutos a 3500 r.p.m.
5. Se decantó el sobrenadante.
6. Se agregó 3 ml de buffer de lisis de células.
7. Se decantó el sobrenadante y agregó proteinasa K (30 microlitros) a la muestra, posteriormente; se incubó la muestra con la mezcla de reactivos durante 1 hora/ 60°C.
8. Se agregó NaCl (500 microlitros) a cada muestra, posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 r.p.m durante 5 minutos.
9. Al sobrenadante se le agregó 3 ml de alcohol etílico absoluto y se recuperó la hebra de DNA.
10. El ADN se deshidrató a temperatura ambiente por 5 minutos.
11. Finalmente, se agregó buffer de elusión (200 microlitros), se cuantificó el ADN y se hicieron diluciones a 5 ng/microlitro.

8.6 GENOTIPIFICACIÓN DE *TNFSF4*

Los genotipos de los SNPs la variante rs704840 del gen *TNFS4* fueron evaluados mediante la técnica 5' exonucleasa "TaqMan". El vial contiene un par de sondas para identificar cada uno de los alelos de los SNPs. Cada sonda en su extremo 5' contiene un fluoróforo (VIC o FAM), que se excitan y emiten fluorescencia a diferente longitud de onda, la cual es detectada por un software y traducida en colores en un plot de discriminación alélica.

- De cada paciente se empleó 5 microlitros de reacción (cada microlitro contiene 5 ng).
- Los 5 microlitros se colocaron en lugares específicos de una placa de 96 pozos.
- Posteriormente, cada pozo se le agregaron 5 microlitros de reacción (cada 5 microlitros contienen: 2.5 microlitros de master mix 2X, 2.465 de agua y 0.035 microlitros de sonda).
- Las placas fueron colocadas posteriormente en un equipo de PCR en tiempo real (Opus CFX de BioRad) durante 45 ciclos, cada ciclo de PCR consistió en 15 segundos 95°C y 1 minuto a 60°C.
- Después de 2 horas, los resultados se visualizaron en la pantalla del equipo.
- Finalmente, se realizó la discriminación alélica para los SNP la variante rs704840 del gen *TNFS4*.

9.- ASPECTOS ÉTICOS

El presente protocolo, se elaboró con base en la declaración universal sobre bioética y derechos humanos aprobada por la conferencia de la UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura) en 2005, las Directivas de las Buenas Prácticas Clínicas de la Conferencia Internacional de Armonización basados en la declaración de Helsinki de 1975 enmendada en 1989 y códigos y normas Internacionales vigentes de las buenas prácticas de la investigación clínica; y con séptima enmienda en 2013. y en el marco establecido según el Reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Artículo No.17.

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 riesgo mínimo, considerando que posterior a la

toma de sangre se puede presentar (dolor leve o se puede llegar a formar una equimosis en el área de punción, el cual puede ser tratado con antiinflamatorios no esteroideos y uso de compresas frías en el área de punción.

Así como las directrices del Comité de Investigación Local, el Comité de Ética y Coordinación de educación e Investigación Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Todos los datos personales obtenidos están protegidos por la Ley general de protección de datos, así como el manejo de datos sensibles como son datos genéticos, datos biométricos tratados únicamente para identificar un ser humano, datos relativos a la salud, serán solamente manejados por participantes autorizados de este protocolo privilegiando la protección de los intereses del titular y la expectativa razonable de privacidad. Es relevante mencionar que cada muestra sanguínea tomada, para la genotipificación se registra con un código único para cada paciente.

10.- RESULTADOS

En este estudio se evaluaron 16 pacientes con escleritis idiopática y 30 sujetos sin escleritis utilizados como grupo control, cabe mencionar que de acuerdo al cálculo del tamaño de muestra de nuestro estudio y conforme a la fórmula para el cálculo de la “n” en estudios descriptivos y tomando en cuenta una población finita el tamaño de muestra de nuestro estudio arrojó una “n” de 96 pacientes con escleritis idiopática, sin embargo, la prevalencia de esta enfermedad es de aproximada 0.1% y dado que el reclutamiento de pacientes inició en enero del 2023, concluyendo a principios de agosto el servicio de oftalmología solo atendió a 16 pacientes con escleritis idiopática que cumplían con los criterios de inclusión, descritos en la sección de materiales y métodos de nuestro trabajo, por tanto se lograron captar a 16 pacientes con escleritis idiopática.

El rango de edad para el grupo de pacientes con escleritis idiopática se muestra en la gráfica1.

Al realizar el análisis estadísticos tanto los casos como los controles, estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg, para el grupo de los controles el valor de p fue de 0.71 y para el grupo de escleritis el valor de p fue de 0.051. En este trabajo se captaron 16 pacientes con diagnóstico de escleritis idiopática, diagnosticados por médicos oftalmólogos del servicio de oftalmología del Hospital Juárez de México, así como 30 sujetos sin escleritis usados como control, conforme a la metodología antes mencionada se extrajo el DNA a partir de los leucocitos de sangre periférica y una vez obtenido dicho DNA, se llevó a una concentración final de 5 ng/microlitro para realizar la determinación de los genotipos de cada muestra.

Los resultados encontrados son resumidos en la tabla 2, en esta tabla apreciamos que el genotipo TT (wild type) estuvo presente en el 62.5 % de los pacientes con escleritis, y en el 36.7% de los controles, mientras que el genotipo TG el cual tiene un alelo con la variante solo se encontró en el 18.8% de los casos y en el 43.3% de los controles, lo cual nos indica que a pesar de que es una variante común, no lo es tanto en los casos con escleritis. Por otro lado, el genotipo homocigoto para la variante GG, es decir la presencia del doble polimorfismo se encontró en el 18.8% de los pacientes con escleritis idiopática y en el 20% de los controles.

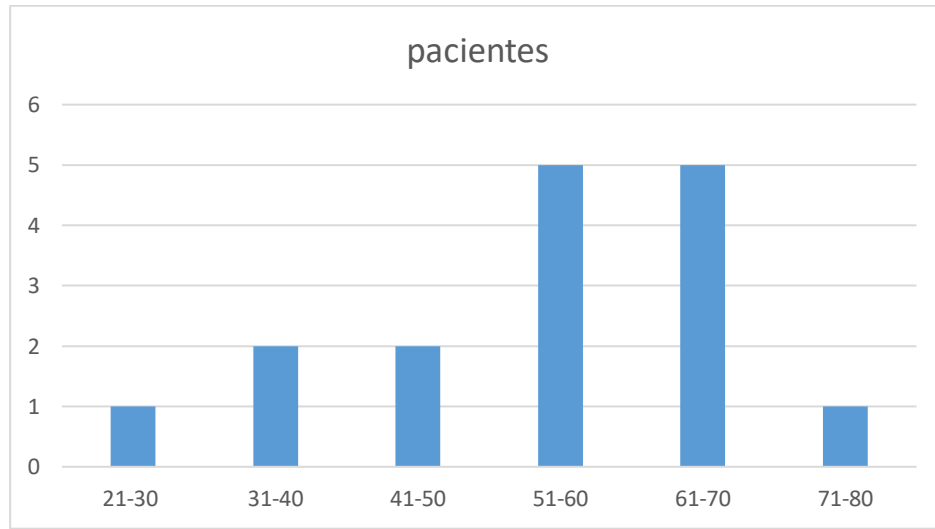
Analizando por alelos el mismo gen es decir en el modelo alélico, y tomando en cuenta al alelo T como normal o wild type y al alelo G como la variante estudiada, se encontró que el 72% de los casos y el 58% de los controles presentan el genotipo wild type (T), y que el alelo G estuvo presente en el 28% de los casos y el 42% de los controles.

El análisis de asociación mediante el programa SNPStats nos mostró que no hay asociación entre la variante rs704840 del gen *TNFSF4* y escleritis idiopática en la población estudiada (población mestiza mexicana). Sin embargo, nuestros resultados deben ser tomados con cautela ya que nuestro tamaño de muestra es pequeño, esta búsqueda de asociación podría determinarse en un futuro con un tamaño de muestra más grande, pues se ha reportado en la literatura que en los estudios con un tamaño de

muestra pequeño, se puede perder la asociación aun cuando el gen pueda tener influencia sobre la enfermedad.

Los valores de p para el modelo codominante (TT vs TG) fueron de 0.18 y para el modelos alélico (T vs G) fue de 0.20, demostrando que el alelo G (el polimorfismo evaluado) no es un factor de riesgo para presentar escleritis idiopática en la población estudiada.

Sin embargo, lo ideal sería poder extender el estudio para poder tener una mayor población donde el valor del p pueda ser nuevamente valorado y comprobar la existencia o ausencia de asociación de esta variante rs704840 con la presencia de escleritis idiopática.



Gráfica 1 distribución por edad de los pacientes con escleritis idiopática

Tabla 2. Frecuencias genotípicas, alélicas y análisis de asociación del SNV rs704840 T/G del gen TNFSF4 entre pacientes con escleritis y sujetos control

Gen SNV	Modelo	Genotipo o alelo	Escleritis n (%)	Controles n (%)	OR 95% CI	p
<i>TNFSF4</i> rs704840 T/G	Codominante	TT	10 (62.5)	11 (36.7)	0.25 (0.06 – 1.16)	0.18
		TG	3 (18.8)	13 (43.3)		
		GG	3 (18.8)	6 (20.0)		
	Alélico	T	23 (72.0)	35 (58.0)	0.54 (0.21 – 1.38)	0.20
		G	9 (28.0)	25 (42.0)		

SNV: Variante de un solo nucleótido; OR: odds ratio; CI: Intervalo de confianza; $p < 0.05$: statistically significant.

11.-DISCUSIÓN

Múltiples genes se han asociado a enfermedades autoinmunes como TNFAIP3, TNFSF4, TNFSF15, así como genes que solo se ha asociado directamente con la escleritis CTLA4 y PTPN22 principalmente en estudios en población china. En un estudio donde se valoraba la identificación de los polimorfismos de los genes CTLA-4 y PTN22 para escleritis en población china se concluyó que los genes del antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA4) y del receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo 22 (PTPN22) podrían dar susceptibilidad para padecer escleritis en población china. En los resultados se valoró el gen CTLA4, específicamente los polimorfismos rs733618, rs5742909, rs231775, rs3087243 y un haplotipo integrado por nueve alelos del gen PTPN22 (orden de SNP: rs3789604, rs150426536, rs1746853, rs1217403, rs1217406, rs3789609, rs1217414, rs3789612, rs2488457) los cuales se vieron asociados significativamente con escleritis y se reveló la implicación de la variante rs3087243 del gen CTLA4 como factor de riesgo predisponente para esta patología ($P_c = 0,04$, $OR = 1,546$). Por otro lado el haplotipo TCAA formado por gen CTLA4 (rs733618 T/C, rs5742909 T/C, rs231775 A/G, rs3087243 G/A) se cree que posiblemente sea un marcador genético protector para la escleritis. ($P_c = 4,26 \times 10^{-3}$, $OR = 0,618$). (16)

Algo que es importante remarcar que la familia de genes de TNF- α se ha relacionado con múltiples enfermedades autoinmunes como la espondilitis anquilosante, la artritis reumatoide, la escleritis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, escleritis sistémica y lupus eritematoso sistémico, aunque no directamente con la aparición de escleritis.

Se vio una relación importante en un estudio donde se revisaron diferentes haplotipos de la familia TNF- α , específicamente TNFAIP3 (SNP: rs9494885, rs3799491, rs2230926), TNFSF4 (rs3850641, rs704840) y un haplotipo CCC formado por los polimorfismos rs6478106, rs3810936, rs7865494 del gen TNFSF15 ($P_c = 0,012$, $O = 1,662$) en pacientes con escleritis en comparación con voluntarios sanos, dividiendo la población de estudio por edades y por la clasificación clínica de la escleritis, en este estudio se concluyó que el gen TNFAIP3 puede ser un factor protector para el desarrollo de escleritis, mientras que un haplotipo GT en TNFSF4 (agregar la p y el OR) y un haplotipo CCC en TNFSF15 pueden ser factores de riesgo de escleritis en población china. (17), algo que es importante mencionar es que los polimorfismos de forma individual no mostraron asociación estadísticamente significativa con la escleritis. (17)

En este estudio se evaluó el polimorfismo rs704840, el cual como se mostró anteriormente no es un factor de riesgo para escleritis, esto no representa que el gen *TNFSF4* no participe dentro de la susceptibilidad a la aparición de escleritis ya que en este trabajo solo se evaluó 1 polimorfismo. Como se ha mencionado anteriormente hay diversos polimorfismos que pueden estudiarse y que se han visto que se han asociado para padecer escleritis en la población china, a futuro y siguiendo la misma línea de investigación se podrían evaluar otros genes como CTLA4, PTN22 y otros polimorfismos del mismo gen *TNFSF4* en nuestra población, que como ya se vio anteriormente, tienen una participación directa en la aparición de enfermedades autoinmunes e inflamatorias, y poder valorar si participan directamente con la escleritis idiopática en población mexicana mestiza.

12.- ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

Este trabajo se realizó en el laboratorio de investigación del 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. Las agujas utilizadas en la toma de muestra fueron desechados 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 fue desechada 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.

13.-CONCLUSIÓN

Conclusión por objetivos

Se captaron pacientes con diagnóstico de escleritis idiopática del servicio de oftalmología del HJM, así como captación de sujetos control de población abierta del HJM, se describieron las características demográficas de los pacientes incluidos, se valoró las frecuencias de alelos y de genotipos del polimorfismo rs704840 de *TNFSF4* en un grupo de pacientes mexicanos con escleritis idiopática y en un grupo de individuos sin escleritis utilizado como control y se determinó que el SNP rs704840 del gen *TNFSF4* no es un factor de riesgo para la aparición de escleritis idiopática en población Mexicana.

Conclusion final

El polimorfismo rs704840 del gen *TNFSF4* no es un factor de riesgo para la aparición de escleritis idiopática en población Mexicana.

14.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hoffman, R. Scott, MD, resumen clínico escleritis, Elsevier, 2022
2. Maite Sainz de la Maza José M. Biber y Brian L. Schwam Córnea, Mannis, M. J., & Holland, E. J. (2022). *Cornea*, E-Book (5a ed.). Elsevier.101, 1086.e1-1098
3. Sigler Villanueva, Aldo A, Duarte Vilariño, Adoración, Delgado Moya, Raquel, & Sigler Morales, Jéssica G.. (2019). Alteraciones anatomopatológicas en la escleritis anterior nodular necrotizante. *Revista Cubana de Oftalmología*, 32(2), e680. Epub 30 de septiembre de 2019. Recuperado en 12 de julio de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762019000200012&lng=es&tlng=es
4. Hankins M, Margo CE. Histopathological evaluation of scleritis. *J Clin Pathol*. 2019 May;72(5):386-390. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205360. Epub 2019 Feb 5. PMID: 30723093.
5. Patel Sarju S., Goldstein Debra A., epiescleritis y escleritis, *Oftalmología*, Yanoff M, Duker JS, editores. *Oftalmología*. 5a ed. Elsevier; 2019. Capítulo 4.11, pág. 212-219
6. Sainz de la Maza M, Molina N, Gonzalez-Gonzalez LA, Doctor PP, Tauber J, Foster CS. Clinical characteristics of a large cohort of patients with scleritis and episcleritis. *Ophthalmology* [Internet]. 2012;119(1):43–50. Disponible en: <https://www.aaojournal.org/action/showPdf?pii=S0161-6420%2811%2900667-1>
7. Promelle, V., Goeb, V., & Gueudry, J. (2021). Rheumatoid Arthritis Associated Episcleritis and Scleritis: An Update on Treatment Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, 10(10), 2118. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/jcm10102118>
8. Sun Michel, Gordon Lynn K. *inmunología de la enfermedad ocular* Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW Jr, Frew AJ, Weyand CM. *Inmunología clínica: principios y práctica*. 6a ed. Elsevier; 2022 capítulo 74 pág. 943-957
9. Yan, J., Su, H., Xu, L., Wang, C., Tang, Y.L., 2013. OX40-OX40L interaction promotes proliferation and activation of lymphocytes via NFATc1 in ApoE-deficient mice. *PLoS ONE* 8 (4), e60854.
10. Lu M-M, Xu W-D, Yang J, Ye Q-L, Feng C-C, Li J, et al. Association of TNFSF4 polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mod Rheumatol* [Internet]. 2013 [citado el 16 de agosto de 2022];23(4):686–93. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22850862/>
11. Ramírez-Bello J, Jiménez-Morales S, Barbosa-Cobos RE, Sánchez-Zauco N, Hernández-Molina G, Luria-Pérez R, Fragoso JM, Cabello-Gutiérrez C, Montúfar-Robles I. TNFSF4 is a risk factor for rheumatoid arthritis but not for primary Sjögren's syndrome in the Mexican population. *Immunobiology*. 2022 Jul;227(4):152244. doi: 10.1016/j.imbio.2022.152244. Epub 2022 Jul 9. PMID: 35835012.
12. Montúfar-Robles I, Soto ME, Jiménez-Morales S, Gamboa R, Huesca-Gómez C, Ramírez-Bello J. Polymorphisms in TNFAIP3, but not in STAT4, BANK1, BLK, and TNFSF4, are associated with susceptibility to Takayasu arteritis. *Cell Immunol*. 2021 Jul;365:104375. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104375. Epub 2021 May 4. PMID: 33975174.
13. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=1:173256556-173257556;v=rs704840;vdb=variation;vf=538387
14. Lu S, Song S, Hou S, Li H, Yang P. Asociación de polimorfismos TNFSF4 con enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada y Behcet en chino Han. *Representante científico* [Internet]. 2016;6:37257. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/srep37257>

15. Sen HN, Sangave AA, Goldstein DA, Suhler EB, Cunningham D, Vitale S, Nussenblatt RB. A standardized grading system for scleritis. *Ophthalmology*. 2011 Apr;118(4):768-71. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.08.027. Epub 2010 Nov 20. PMID: 21093921; PMCID: PMC3070789.
16. Li, F., Ma, X., Du, L., Shi, L., Cao, Q., Li, N., Pang, T., Liu, Y., Kijlstra, A. y Yang, P. (2019). Identificación de SNP de susceptibilidad en CTLA-4 y PTPN22 para escleritis en chinos Han. *Inmunología clínica y experimental* , 197 (2), 230–236. <https://doi.org/10.1111/cei.13298>
17. Gao Y, Du L, Li F, Ding J, Li G, Cao Q, Li N, Su G, Kijlstra A, Yang P. The haplotypes of various TNF related genes associated with scleritis in Chinese Han. *Hum Genomics*. 2020 Dec 7;14(1):46. doi: 10.1186/s40246-020-00296-y. PMID: 33287909; PMCID: PMC7720609

15.- ANEXOS

1.- Consentimiento informado gradual para la realización de estudios genéticos



HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

Dirección de Investigación y Enseñanza
División de Investigación
Servicio de Desarrollo Científico y Tecnológico

Consentimiento Informado Gradual para la Realización de Estudios Genéticos

Título del Protocolo/Tesis:

**Investigador principal: Dra. Ingrid Patricia Urrutia Breton

**Teléfono de emergencia: 5539932189

**Dirección: Av. Politécnico Nacional #5160 Magdalena de las Salinas, Del. Gustavo A. Madero CP 07760 CDMX

**Sede y servicio donde se realizará el estudio: servicio de oftalmología del 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.

Evaluar a relación que presenta la variante rs 704840 del Gen *TNFS4* con la presentación clínica de escleritis para evitar complicaciones y favorecer al tratamiento correcto de la patología base.

**2. OBJETIVO DEL ESTUDIO.

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos: investigar la relación de la variante rs 704840 del Gen *TNFS4* aumenta la predisposición de la presentación clínica de escleritis.

**3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO.

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que: la presencia de variantes genéticas en el Gen *TNFS4* predispone al paciente a presentar enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o síndrome de Sjögren, aunque no se ha descrito relación directa con presentaciones clínicas como escleritis o uveítis.

Con este estudio conocerá de manera clara: si al presentar la variante rs704840 del gen *TNFS4* favorece la aparición de escleritis en los pacientes

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido:

Puedan recibir seguimiento y tratamiento oportuno, evitando las complicaciones oftalmológicas a futuro que produce la escleritis.

**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 tomará una muestra sanguínea única. (2 tubos)

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

El estudio se llevará a cabo por la institución Hospital Juárez de México que constituye la comisión científica de _____

y que está ubicado en Av. Politécnico Nacional #5160 Magdalena de las Salinas, Del. Gustavo A. Madero CP 07760 CDMX.

A dicho centro 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 ADN desea que esa muestra:

Se destruya Se almacene para futuras investigaciones

DIE-0051-01-2022

Licencia Sanitaria 05.AM.09.007030

2.- carta compromiso investigación con humanos



Carta Compromiso Investigación con Humanos

Ciudad de México., a 09 de noviembre de 2022.

Título del Protocolo/Tesis: Evaluación de la variante rs704840 del gen TNFSF4 y su relación con escleritis.

Los investigadores que participamos en el proyecto arriba mencionado lo sometemos a evaluación ante el Comité de Ética en Investigación del Hospital Juárez de México y declaramos:

Que este es un estudio de tipo

Estudio Descriptivo o Retrospectivo Estudio Intervencionista ()

- Que conocemos todos los aspectos del estudio y contamos con la capacidad de llevarlo a buen término.
- Que la revisión minuciosa de los antecedentes científicos del proyecto justifica su realización.
- Que el presente estudio de acuerdo con el artículo T7 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud se considera

Sin Riesgo. Riesgo mínimo (x) Riesgo mayor al mínimo ()

- Que nos conduciremos de acuerdo con los estándares de comportamiento ético y científico aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud y el Reglamento en Materia de Investigación para la Salud de México, así como la Declaración de Helsinki.
- Que se mantendrá la confidencialidad de la información recabada de cada sujeto participante y no se hará mal uso de esta, todos los datos serán tratados y protegidos de acuerdo con la normatividad vigente:
 - Artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública. Se considera información confidencial la que contiene datos personales concernientes a una persona identificada o identificable. La información confidencial no estará sujeta a temporalidad alguna y sólo podrán tener acceso a ella los titulares de esta, sus representantes y los Servidores Públicos facultados para ello. Asimismo, será información confidencial aquella que presenten los particulares a los sujetos obligados, siempre que tengan el derecho a ello, de conformidad con lo dispuesto por las leyes o los tratados internacionales.
 - Artículo 113 fracción I de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública. Se considera información confidencial a la que contiene datos personales concernientes a una persona física identificada o identificable. La información confidencial no estará sujeta a temporalidad alguna y sólo podrán tener acceso a ella los titulares de esta, sus representantes y los Servidores Públicos facultados para ello.
 - Artículo 3 fracciones IX y X de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de los Sujetos Obligados. Para los efectos de la presente Ley se entenderá por **datos personales**: cualquier información concerniente a una persona física identificada o identificable. Se considera que una persona es identificable cuando su identidad pueda determinarse directa o indirectamente a través de cualquier información; se entenderá por **datos personales sensibles**: aquellos que se refieran a la esfera más íntima de su titular, o cuya utilización indebida pueda dar origen a discriminación o conlleve un riesgo grave para éste. De manera enunciativa más no limitativa, se consideran sensibles los datos personales que puedan revelar aspectos como origen racial o étnico, estado de salud presente o futuro, información genética, creencias religiosas, filosóficas y morales, opiniones políticas y preferencia sexual.
- Que nos comprometemos a tratar los datos personales a los que tengamos acceso con motivo de esta investigación, mediante un proceso de disociación de la información con la finalidad de proteger la identidad de los participantes, a fin de no permitir por su estructura, contenido o grado de desagregación

DIE-0047-01-2022

