



---

**Universidad de Valladolid**

**Facultad de Medicina**



**FACULTAD  
DE MEDICINA**

**MARCADORES GENÉTICOS CON PREDISPOSICIÓN  
A ESCOLIOSIS IDIOPÁTICA DEL ADOLESCENTE**

TRABAJO DE FIN DE GRADO 2019-2020

AUTORA: MARTA DEL MORAL CARRASCOSA

TUTOR: JUAN JOSÉ TELLERÍA ORRIOLS

DEPARTAMENTO: BIOLOGÍA CELULAR

SERVICIO: TRAUMATOLOGÍA

HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID

# ÍNDICE

TÍTULO .....	1
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
MATERIALES Y MÉTODOS .....	4
POBLACIÓN ESTUDIADA .....	4
RECOGIDA DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE DNA .....	4
GENOTIPADO CON SONDAS KASP .....	4
LECTURA DE LAS PLACAS .....	7
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	9
RESULTADOS .....	10
EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG .....	10
COMPARACIÓN DE RESULTADOS ENTRE PACIENTES/PROGENITORES Y LA POBLACIÓN GENERAL ...	10
DISCUSIÓN .....	13
CONCLUSIONES .....	16
BIBLIOGRAFÍA .....	17
ANEXOS .....	20

Para Juanjo y María,  
por enseñarme a disfrutar  
del laboratorio,  
y por ponérmelo fácil  
en esta época tan complicada.

Eskerrik asko

## **TÍTULO**

**Marcadores genéticos de predisposición a Escoliosis Idiopática del Adolescente.**

## **RESUMEN**

La escoliosis idiopática del adolescente presenta una prevalencia mundial de un 2-3%. Se trata de una patología compleja y su etiología aún no es del todo conocida. Es más frecuente en el sexo femenino y, aunque no suele llegar a presentar alteraciones muy severas, en ocasiones conlleva una importante distorsión de la imagen corporal, lo que puede ser difícil de gestionar psicológicamente por el paciente adolescente.

Han sido numerosos los estudios que, a lo largo de los años, han demostrado la implicación de la genética en el desarrollo de la escoliosis. El objetivo de nuestro estudio es identificar los polimorfismos de algunos de los genes con posible participación en la aparición de EIA, para así poder realizar un diagnóstico y tratamiento precoces.

En este trabajo analizamos 6 polimorfismos pertenecientes a varios genes candidatos en tal implicación. Dichos genes han sido descritos previamente en esta patología y sus funciones están relacionadas con la formación y desarrollo del tejido de la columna vertebral. Hemos seleccionado a 90 pacientes mujeres y a 72 de sus progenitores, en la Unidad de Columna del Servicio de Traumatología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, y los hemos comparado con la población general española. El genotipado de dichos polimorfismos se realizó mediante sondas KASP.

Los resultados de este estudio mostraron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas y genotípicas de las pacientes y las de la población general, en dos de los seis polimorfismos: rs1544410 (gen VDR) y rs1800469 (gen TGFB1). Concluimos por tanto que dichos polimorfismos se asocian a una mayor predisposición en el desarrollo de EIA.

## **PALABRAS CLAVE**

Escoliosis, idiopática, genética, etiología, patogénesis

## **INTRODUCCIÓN**

La escoliosis se define como la desviación de la columna vertebral en los tres planos del espacio: frontal (convexidad hacia la derecha o la izquierda), lateral (disminución de cifosis dorsal y la lordosis lumbar) y axial (se produce una rotación vertebral). Es decir, la columna rota sobre su eje a la vez que se incurva **(1)**.

La desviación aumenta conforme el esqueleto va creciendo **(2)**, por lo que la deformidad final es mucho mayor en individuos en los que la escoliosis comienza a manifestarse a una edad más temprana o en los que aún queda mucho tiempo para completar la maduración esquelética. El diagnóstico se confirma con una radiografía posteroanterior de columna en bipedestación, considerándose escoliosis un ángulo de Cobb mayor de 10°.

Las posibles etiologías de la escoliosis son muchas y muy variadas. Puede ser de causa neuromuscular (distrofia muscular, poliomielitis, siringomielia), congénita (defectos de formación o fusión), inflamatoria (reumática), metabólica (raquitismo, osteoporosis juvenil) sin embargo, la forma más común de escoliosis es la idiopática, siendo su prevalencia mundial del 2-3% **(3)**. Esta se clasifica en tres formas, según la edad de presentación: Infantil (0-3 años), Juvenil (3-10 años) y Adolescente (desde los 10 años o el cierre fisario), siendo esta última la más común con un 80% de los casos **(4)**.

La escoliosis idiopática del adolescente (EIA) es claramente más frecuente en el sexo femenino, siendo también más grave y presentando una mayor probabilidad de progresión de la deformidad en las mujeres **(3)**.

Esta patología rara vez produce dolor **(5)**, aunque sí que supone una alteración de la imagen corporal, en ocasiones muy acentuada. A menudo, esta distorsión no es bien gestionada a nivel emocional por el paciente y menos aún en la adolescencia.

Además del problema estético, cuando la escoliosis es muy severa y está asociada a alteraciones de la caja torácica, puede llegar a producir insuficiencia respiratoria e insuficiencia cardíaca derecha. En raras ocasiones la afectación será tal, que progresará hasta el punto de causar la muerte por cor pulmonale **(6)**.

La historia natural de la enfermedad muestra que, habiendo llegado a la madurez esquelética, las curvas de menos de 30° conllevan un riesgo muy bajo de progresión. Sin embargo, las curvas que han alcanzado los 50° tienden a continuar progresando durante la edad adulta, aproximadamente a un ritmo de 1° por año **(7)**.

El abordaje terapéutico dependerá de la fase de desarrollo en la que se encuentre el paciente, así como de la gravedad de la curva. El tratamiento con corsé tiene como objetivo detener la progresión de la deformidad, pero no puede reducirla. No obstante, el corsé carece de sentido una vez finalizado el crecimiento de la columna (test de Risser > 4). En cambio, el tratamiento quirúrgico sí permite reducir la magnitud de la curva **(8)**. En el caso del paciente adolescente, cuando el ángulo de Cobb es menor de 30°, el manejo se basará en la observación y reevaluación cada 4-6 meses, hasta que alcance un Risser de 4. Cuando el ángulo es mayor de 45°, se recomienda tratamiento quirúrgico. Entre 30° y 45°, se realizará tratamiento con corsé **(9)**.

La patogenia de la escoliosis sigue estando poco clara en la actualidad. La pregunta que nos hacemos es cómo empieza y por qué se produce tal progresión de la curva en algunos casos y no en otros. Se han descrito cambios neuromusculares, metabólicos y hormonales entre otros, aunque en muchas ocasiones no se sabe si estos son causa o consecuencia.

Así mismo, se ha observado durante años que la genética juega un papel importante en la etiología de la escoliosis. Se trata probablemente de una enfermedad poligénica, en la que los genes de interés son aquellos relacionados con la regulación del desarrollo del tejido de soporte de la columna vertebral. En 1968, se dirigió un estudio con 114 pacientes con EIA en el que se evaluaba la incidencia familiar de la enfermedad en comparación con la población general. Se observó que un 6.9% de familiares de primer grado, un 3.7% de familiares de segundo grado y un 1.6% de familiares de tercer grado presentaban la enfermedad **(10)**. Otro estudio siguió a 110 familias con EIA y se comprobó que el 80% de pacientes tenía familiares afectados **(11)**. Este estudio sugiere que la aparición de casos aislados de escoliosis idiopática se asocia a formas esporádicas de mutaciones nuevas. En 1997, un estudio español observó que el 25% de pacientes con EIA tenían uno o más familiares afectos, siendo la prevalencia en los familiares de primer grado de 5.2% y en los de segundo grado de 4.3% **(12)**. Estos datos son similares a los obtenidos en otro estudio sobre 100 familias brasileñas, las cuales tenían al menos un individuo afecto de EIA con curvas iguales o superiores a 20° **(13)**. La forma de transmisión genética no está clara, pero se han sugerido patrones de herencia multifactorial **(14)**, autosómica dominante **(15) (16)** y ligada a X **(12) (17)**. Esta última forma ha conducido varios estudios debido a la alta prevalencia de EIA en mujeres. También se han analizado ciertos factores genéticos como predictores de riesgo de una mayor progresión de la EIA **(18)**.

El objetivo de este trabajo de investigación ha sido identificar los polimorfismos de algunos de los genes con posible implicación en la aparición de EIA, con el fin de que se puedan realizar un diagnóstico y un tratamiento precoces. Esto es de especial interés por el potencial valor pronóstico y evolutivo de determinados polimorfismos, lo que sería de gran utilidad en los casos predispuestos a una mayor progresión de la enfermedad.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Población estudiada**

Para la realización de este estudio se han incluido 162 individuos, 90 de los cuales son mujeres adolescentes con EIA, y los 72 restantes son progenitores de las mismas. Los criterios de inclusión han sido, por tanto, el diagnóstico actual de escoliosis idiopática y una edad comprendida entre 10 y 18 años. Las pacientes han sido seleccionadas en la Unidad de Columna del Servicio de Traumatología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, tras la obtención del Consentimiento Informado de cada paciente y la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica. Tanto pacientes como familiares han sido comparados con la población general, cuyos datos se obtuvieron de la base de datos mundial *Ensembl.org*, seleccionando para nuestro estudio el grupo "Iberian populations in Spain".

### **Recogida de muestras y extracción de DNA**

La recogida de muestras se realizó entre 2018 y 2019.

La obtención de DNA se realizó a partir de sangre entera anticoagulada con EDTA y su posterior extracción mediante el sistema automatizado MagNA Pure de Roche ®. Se trata de un sistema clínico de extracción de ácidos nucleicos de forma automatizada sin necesidad de supervisión, diseñado expresamente para reducir la intervención del usuario y la variabilidad entre las extracciones.

Tras las extracciones de DNA se realizaron diluciones del mismo (15µL de agua + 3µL de DNA), y se almacenaron en tubos hasta su futura utilización.

### **Genotipado con sondas KASP**

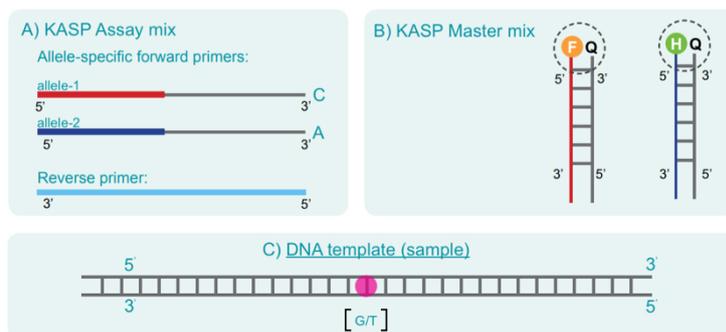
Esta técnica permite genotipar polimorfismos que difieren tan solo en un nucleótido (SNP), tiene una precisión mayor del 99,8%, y según el manual del fabricante bastan entre 0,1 y 10ng de DNA genómico.

Se siguieron las instrucciones del fabricante (19,20) con las siguientes modificaciones: la técnica se basa en una PCR con la utilización simultánea de cebadores específicos *forward*, en donde cada uno difiere en solo un nucleótido y reconoce uno de los alelos. Cada uno de ellos contiene en el extremo 5' una secuencia idéntica a una sonda, la cual está marcada con el fluorocromo HEX o con el FAM. El cebador *reverse* es universal. Las sondas marcadas están incluidas en la master mix y van unidas a un *quencher* para evitar que emita fluorescencia si no está unido a la secuencia específica (Figura 1).

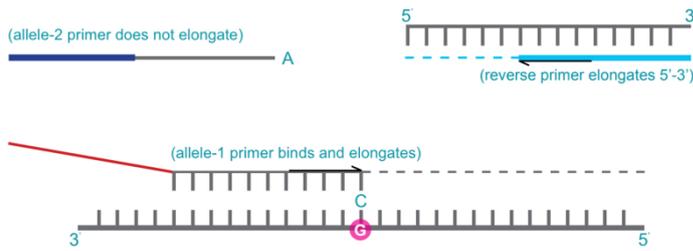
En el primer ciclo, se desnaturaliza la doble hebra de DNA a 94°C y los cebadores se unen a la secuencia complementaria de DNA genómico a 65°C: el cebador *forward* específico a una hebra y el cebador *reverse* universal a la otra. Una vez unidos, la polimerasa elongará la cadena a partir de la hebra molde (Figura 2).

En el segundo ciclo se desnaturaliza la doble hebra de DNA a 94°C, y vuelven a unirse los cebadores a 65°C, en donde el cebador *reverse* universal se unirá al fragmento elongado por el primer *forward* específico del primer ciclo. La hebra amplificada por el cebador *reverse* contiene en su extremo 3' la secuencia complementaria de la sonda marcada (Figura 3).

En el tercer ciclo, se desnaturaliza de nuevo la doble hebra de DNA a 94°C y a 65°C, y la sonda marcada liberada del *quencher* se une a su secuencia complementaria, que ya se ha señalado (Figura 4).



**Figura 1. Cebadores, sondas y DNA de muestra**



**Figura 2. Primer ciclo de PCR**

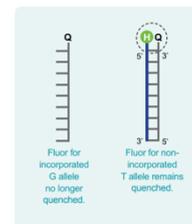


**Figura 3. Segundo ciclo de PCR**



**Figura 4. Tercer ciclo de PCR**

Legend	
<span style="color: red;">●</span>	Allele-1 tail FAM-labelled oligo sequence
<span style="color: blue;">●</span>	Allele-2 tail HEX-labelled oligo sequence
<span style="color: lightblue;">●</span>	Common reverse primer
<span style="color: orange;">F</span>	FAM dye
<span style="color: green;">H</span>	HEX dye
<span style="color: magenta;">●</span>	Target SNP
<span style="color: black;">Q</span>	Quencher



En los siguientes ciclos se amplifica el fragmento unido con el fluorocromo, aumentando la fluorescencia y, de esta manera, determinando el polimorfismo.

Se deben analizar los 6 polimorfismos en cada paciente y cada progenitor.

Para ello, se utilizan hojas de papel con tablas preparadas de 96 pocillos donde se indica qué contiene cada pocillo de las placas blancas "FrameStar® 480/96 for Roche Lightcycler 480", identificándolo con el número de la muestra y el polimorfismo estudiado.

Preparación de la mix de trabajo en cada pocillo:

- Mix del kit comercial (dNTPs, polimerasa y sondas): 3µL
- Agua: 2µL
- Mezcla de cebadores: 0.1µL

Una vez preparada la mix de trabajo, se añaden 5.1µL de la misma en cada pocillo. Tras esto se procede a añadir 1µL de DNA de cada muestra en su pocillo correspondiente.

Tras rellenar todos los pocillos que vamos a utilizar, se procede a precintar la placa con una pegatina transparente “LightCycler® 480 Sealing Foil” de Roche, para después centrifugar las placas, dándole tan sólo un *spin*.

Una vez realizado esto se lleva a cabo la reacción de PCR específica usando el termociclador (**Figura 5A**) según el siguiente protocolo:

- 94°C, 15 minutos
- 94°C, 20 segundos y 65°C, 1 minuto: 10 veces
- 94°C, 20 segundos y 57°C, 1 minuto: 40 veces
- 4°C, todo el tiempo que esté hasta que se recojan las muestras.

Una vez realizada la PCR, se conserva la placa a -20°C *overnight*, ya que se ha comprobado que se obtienen mejores lecturas si se realiza de esta forma.

### Lectura de las placas

La lectura de los resultados se realizó en un termociclador LightCycler 480® (**Figura 5B**), según el siguiente protocolo:

Modo de adquisición: sencillo

Rampa: 4.4°C/s

Formato de detección: Dual Hydrolysis Probe/UPL Probe

Modo de análisis: Cuantificación

Lectura: 20 segundos a 37°C y a continuación medir la absorbancia de:  
FAM (465-510nm), HEX (533-580nm)

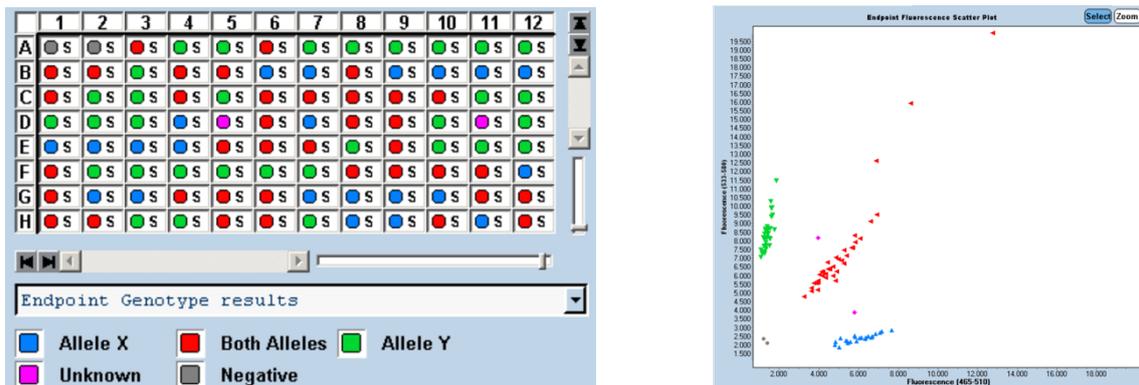


**Figura 5.**  
**A** (izqda.): termociclador utilizado en la reacción de PCR.  
**B** (dcha.): termociclador LightCycler 480®

Cuando introducimos la placa en el termociclador LightCycler 480®, seleccionamos los pocillos a analizar y el polimorfismo a estudiar. La medida de la absorbancia asigna los alelos (en homo o heterocigosis), en función de la fluorescencia emitida por FAM (asignado a alelo X) y/o HEX (asignado a alelo Y) (**Figura 6A**).

Una vez realizada la asignación, obtenemos una gráfica (**Figura 6B**) con la siguiente distribución:

- En el eje de abscisas se agrupan las muestras FAM (azul), donde los dos cromosomas homólogos contengan la misma secuencia: Homocigotos para FAM.
- En el eje de ordenadas se agrupan las muestras HEX (verde), donde los dos cromosomas homólogos contengan la misma secuencia: Homocigotos para HEX.
- En torno a la recta bisectriz  $x=y$  se agrupan los que tengan un cromosoma con un nucleótido y el homólogo con otro distinto (rojo): Heterocigotos.
- Sin estar relacionados con ningún grupo de los anteriores, aparecen los alelos que no han podido ser identificados (rosa), probablemente por error en el pipeteo. Posteriormente, estas muestras se volvieron a analizar en placas sucesivas.
- Se introducen controles negativos (gris) para identificar la fluorescencia de fondo.



**Figura 6.** A(izqda.): asignación de muestras en función de la fluorescencia emitida. B(dcha.): gráfica que representa las agrupaciones de las muestras según su fluorescencia.

La asignación de las muestras a los diversos genotipos de cada polimorfismo es revisada por el investigador.

Se seleccionaron 6 polimorfismos con posible implicación en el desarrollo de la EIA, ya que se trata de aquellos relacionados con la regulación del desarrollo del tejido de soporte de la columna vertebral.

A continuación, se indican los polimorfismos estudiados (SNP), junto con el gen en el que se encuentran, su secuencia de referencia (NM) y la posición en el cromosoma.

**Tabla 1:** Polimorfismos estudiados.

<b>SNP</b>	<b>GEN</b>	<b>SECUENCIA DE REFERENCIA</b>	<b>POSICIÓN</b>
<b>rs1544410</b>	VDR	NG_008731.1:g.63980G>A	12q13.11
<b>rs1800469</b>	TGFB1	NG_013364.1:g.4536T>C	19q13.2
<b>rs7975232</b>	VDR	NC_000012.12:g.47845054C>A	12q13.11
<b>rs17044552</b>	—	NC_000002.12:g.22994301G>A	2p24.1
<b>rs4782809</b>	CDH13	NC_000016.10:g.83519274C>G	16q23.3
<b>rs11190870</b>	LBX1	NC_000010.11:g.101219450T>C	10q24.32

### **Análisis estadístico**

El estudio estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante la página web *VassarStats*, la cual proporciona las herramientas necesarias para realizar tablas de contingencia según el test Chi-cuadrado y su consiguiente obtención del p-valor en cada polimorfismo. Esto nos permitió determinar las diferencias en cuanto a distribuciones alélicas y genotípicas de ambos grupos (pacientes y familiares) frente a las de la población general.

## **RESULTADOS**

Se analizaron las muestras de 90 pacientes (todas mujeres) y 72 progenitores.

### **Equilibrio de Hardy-Weinberg**

Se realizó el análisis de los 6 polimorfismos seleccionados y se comprobó, mediante el test Chi-cuadrado, si las frecuencias alélicas y genotípicas observadas en cada uno de ellos eran consistentes con el equilibrio de Hardy-Weinberg. Todos se hallaban en equilibrio.

### **Comparación de resultados entre pacientes/progenitores y la población general**

Una vez obtenidas las frecuencias alélicas y genotípicas para cada polimorfismo (frecuencia observada), se compararon con las de la población general (frecuencia esperada).

Los datos de las frecuencias genotípicas, expresados en porcentajes, se recogen en la siguiente tabla:

**Tabla 2:** Frecuencias genotípicas para cada uno de los 6 polimorfismos.

SNP	rs1544410			rs1800469			rs11190870		
Genotipo	GG	GA	AA	CC	CT	TT	TT	CT	CC
<b>Frecuencia observada pacientes</b>	45.55%	47.77%	6.66%	54.54%	37.5%	7.95%	35.55%	53.33%	11.11%
<b>Frecuencia observada progenitores</b>	32.86%	51.42%	15.71%	50.75%	40.3%	8.96%	30.56%	50%	19.44%
<b>Frecuencia esperada</b>	30.84%	50.47%	18.69%	36.45%	50.47%	13.08%	28.97%	49.53%	21.5%

SNP	rs7975232			rs17044552			rs4782809		
Genotipo	TT	TG	GG	GG	AG	AA	GG	CG	CC
<b>Frecuencia observada pacientes</b>	31.17%	45.45%	23.38%	95.45%	4.54%	0%	26.44%	48.28%	25.29%
<b>Frecuencia observada progenitores</b>	21.31%	49.18%	29.5%	93.55%	6.45%	0%	26.09%	49.28%	24.64%
<b>Frecuencia esperada</b>	37.38%	39.25%	23.37%	96.26%	3.74%	0%	23.36%	53.27%	23.36%

Tanto las frecuencias alélicas como genotípicas, calculadas en pacientes y progenitores para cada polimorfismo, se compararon con las de la población general mediante tablas de contingencia. La comparación de las frecuencias en dichas tablas se llevó a cabo mediante el test Chi-cuadrado, obteniendo así el p-valor correspondiente.

Para las frecuencias genotípicas se plantearon tres hipótesis de herencia posibles, para el alelo predominante observado en pacientes; hipótesis de codominancia, hipótesis de dominancia e hipótesis de recesividad. Todos los resultados, en valores absolutos, se encuentran en **Anexos**.

De los 6 polimorfismos, en cuatro de ellos (rs4782809, rs7975232, rs11190870 y rs17044552) los resultados fueron no significativos. En los dos polimorfismos restantes se encontraron diferencias significativas, recogidas en la siguiente tabla:

**Tabla 3:** Polimorfismos con resultados significativos.

POLIMORFISMO	COMPARACIÓN CON POBLACIÓN GENERAL	P VALOR PACIENTES	P VALOR PROGENITORES	
rs1544410	Frecuencia alélica (G y A)	<b>p=0,0088</b>	p>0,05	
	Frecuencia genotípica	Hipótesis codominancia alelos G y A	<b>p=0,0162</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia alelo G (GG=GA)	<b>p=0,023</b>	p>0,05
		Hipótesis recesividad alelo G (GA=AA)	<b>p=0,048</b>	p>0,05
rs1800469	Frecuencia alélica (C y T)	<b>p=0,0205</b>	p>0,05	
	Frecuencia genotípica	Hipótesis codominancia alelos C y T	<b>p=0,038</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia alelo C (CC=CT)	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad alelo C (CT=TT)	<b>p=0,0171</b>	p>0,05

La tabla ampliada con el resto de polimorfismos se encuentra en Anexos.

**El polimorfismo rs1544410** se encuentra localizado en el gen del receptor para la vitamina D (VDR). Observamos diferencias significativas entre pacientes y población general:

Con respecto a las frecuencias alélicas, el alelo G es más frecuente en pacientes que en población general. También observamos que este alelo es más frecuente en pacientes que en sus progenitores.

En cuanto a las frecuencias genotípicas, resultaron significativas las tres hipótesis de transmisión para el alelo G: dominancia (GG+GA versus AA), recesividad (GA+AA versus GG) y codominancia (GG versus AA), lo que refleja que existe codominancia para los alelos G y A.

**El polimorfismo rs1800469** se encuentra localizado en el gen del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFB1). Observamos diferencias significativas entre pacientes y población general:

Con respecto a las frecuencias alélicas, el alelo C es más frecuente en pacientes que en población general. También observamos que este alelo es más frecuente en pacientes que en sus progenitores.

En cuanto a las frecuencias genotípicas, resultaron significativas, para el alelo C, las hipótesis de codominancia (CC versus TT) y recesividad (CT+TT versus CC), lo que refleja que C actúa como alelo recesivo y T actúa como alelo dominante.

## DISCUSIÓN

La etiología y patogenia de la EIA sigue siendo desconocida. Se considera una enfermedad multifactorial en la que puede tener un gran peso la genética. Nuestro trabajo ha consistido en un estudio de casos y controles, cuyo objetivo ha sido identificar algunos de los polimorfismos de genes con posible implicación en el desarrollo de EIA, así como en su pronóstico y evolución.

Numerosos estudios sugieren que existe una importante asociación entre la genética y la EIA, habiéndose seleccionado a lo largo de los años varios genes candidatos a tal implicación. Algunos de los polimorfismos analizados en dichos estudios han sido los utilizados en este trabajo.

En todos los polimorfismos estudiados, se observó que no había diferencias significativas entre los familiares de las pacientes y la población general. Hablamos, pues, de un desequilibrio de transmisión, lo que se puede explicar por el sesgo de selección que se produce al seleccionar únicamente a las hijas con EIA. Es decir, las frecuencias alélicas se mantienen de una generación a la siguiente, pero de todos los posibles descendientes seleccionamos a las hijas con escoliosis, encontrando en nuestras pacientes una distribución alélica diferente de la que se observa en la generación parental. Esta observación confirma que el polimorfismo estudiado confiere un riesgo de desarrollar escoliosis, y que la población a estudiar ha sido correctamente seleccionada. La ausencia de diferencias en la distribución de los alelos observada en la generación parental respecto a la disponible en *Ensembl.org* como población española, valida esta última como población control.

El polimorfismo rs7975232, perteneciente al gen VDR, no mostró en nuestro estudio diferencias significativas entre las frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y población general. Acorde a esto, en un estudio sobre población caucásica **(21)** no se encontraron diferencias significativas entre pacientes y población control para este polimorfismo. Sin embargo, en una revisión sobre población asiática **(22)**, se recogen 3 estudios cuyos resultados muestran una fuerte asociación entre el polimorfismo rs7975232 y el riesgo de EIA.

En el caso del polimorfismo rs17044552, este se encuentra en la región 2 del brazo corto del cromosoma 2, en el cual existen transcritos reguladores. Ha sido identificado en

otros trabajos como polimorfismo asociado a EIA mediante estudios de asociación de genoma completo (GWAS).

En nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas entre frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y población general. Sin embargo, en un estudio sobre población china **(23)**, sí se encontraron diferencias significativas entre pacientes y población control, sugiriendo una asociación entre rs17044552 y el desarrollo de EIA.

En cuanto al polimorfismo rs4782809, perteneciente al gen CDH13, no hallamos diferencias significativas entre pacientes y población general. No obstante, en un metaanálisis sobre múltiples GWAS **(24)**, los resultados sugieren que el riesgo de desarrollar EIA, transmitido por CDH13, es especialmente relevante en mujeres.

En el caso del polimorfismo rs11190870, perteneciente al gen LBX1, no hallamos diferencias significativas entre las frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y población general. Sin embargo, existen evidencias en estudios sobre población china **(25)** y japonesa **(26)** sobre una fuerte asociación entre dicho polimorfismo y el riesgo de desarrollar EIA.

El polimorfismo rs1544410, perteneciente al gen VDR, mostró diferencias significativas entre las frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes y población general. El alelo G es más frecuente en pacientes que en población general, por lo que podemos concluir que presentar este alelo incrementa el riesgo de desarrollar EIA. En cuanto a las frecuencias genotípicas, resultaron significativas las tres hipótesis (dominancia, recesividad y codominancia) para el alelo G, por lo que podemos concluir que existe codominancia para los alelos G y A. Los individuos homocigotos para G tienen mayor riesgo de desarrollar escoliosis que los individuos heterocigotos GA, por tanto el alelo G se comporta como un rasgo cuantitativo. En definitiva, el hecho de tener más copias del alelo G, incrementa el riesgo de desarrollar EIA.

El papel del gen VDR ha sido ampliamente estudiado. Este gen codifica el receptor de metabolitos de la vitamina D, afectando al sistema metabólico de la misma.

Dicho receptor tiene una importante participación en la función biológica de la vitamina D, así como en la regulación de la densidad ósea y el desarrollo del esqueleto **(27)**.

Acorde a nuestros resultados, estudios previos demuestran una fuerte relación entre este polimorfismo y el riesgo de EIA en varios modelos genéticos en la población general **(21,28,29)**.

En el caso del polimorfismo rs1800469, perteneciente al gen TGFB1, sí encontramos diferencias significativas entre pacientes y población general. Con respecto a las frecuencias alélicas, el alelo C es más frecuente en pacientes que en población general, por lo que podemos concluir que presentar este alelo incrementa el riesgo de desarrollar EIA. En cuanto a las frecuencias genotípicas, resultaron significativas las hipótesis de codominancia y recesividad para el alelo C. Por tanto, podemos concluir que el alelo C actúa como recesivo y el alelo T actúa como dominante. Puesto que C es más frecuente en pacientes, suponemos que T actúa como factor protector del desarrollo de escoliosis, y C actúa como factor de riesgo de la misma. Los individuos homocigotos para C tienen más riesgo de desarrollar EIA.

El gen TGFB1 es una citoquina multifuncional que interviene en varios procesos fisiológicos, incluyendo la proliferación celular, la diferenciación y la formación y degradación de proteínas de la matriz extracelular **(30)**. Se han descrito previamente diferencias significativas en la expresión de TGFB1 entre la concavidad y la convexidad de la curva de los pacientes con EIA **(31)**, así como su relación con la edad de aparición **(32)**, lo que puede ser un indicador de la relación de este gen con la evolución y severidad de la enfermedad. También se ha descrito la participación de TGB1 en la degeneración de los discos intervertebrales **(33)**.

Estudios previos hallaron diferencias significativas para este polimorfismo entre pacientes con EIA y la población general caucásica **(32,34)**. No obstante, en ambos estudios mencionados, los resultados obtenidos mostraban una mayor frecuencia para el alelo T, por lo que este se considera factor de riesgo de EIA, al contrario que nuestro estudio, en el que predomina el alelo C.

En población asiática, un estudio concluyó que el gen TGFB1 no presentaba predisposición a EIA, sin embargo, sí que estaba implicado en la progresión de la curva **(35)**. Esta observación puede deberse al hecho de que la variante C en población española esté en desequilibrio de ligamiento (DL) con una tercera variante directamente relacionada con la etiología de la EIA y que ésta está en DL con el alelo T en otras poblaciones.

Todo esto nos lleva a concluir que, en nuestra población, el polimorfismo rs1800469 no sólo puede predisponer al desarrollo de EIA, sino que también está implicado en la progresión de la enfermedad. Esto es especialmente interesante, ya que puede servir para guiar un tratamiento más adecuado y personalizado en cada paciente.

## **CONCLUSIONES**

El avance en el conocimiento de la patogenia de la enfermedad permitirá abordarla precozmente, obteniendo así mejores resultados terapéuticos y una mejor gestión psicológica del problema por parte del paciente adolescente.

Existen factores genéticos relacionados con la predisposición a la escoliosis idiopática del adolescente.

Los polimorfismos rs1544410 (gen VDR) y rs1800469 (gen TGFB1) están relacionados con la predisposición a la escoliosis idiopática del adolescente en nuestra población. No se observaron diferencias entre los familiares de las pacientes y la población general.

Aunque existe una predisposición genética para el desarrollo de EIA, es necesario estudiar más polimorfismos y en distintos grupos étnicos, para aumentar la potencia del estudio y poder definir un patrón genético de escoliosis, lo que nos llevará a un mejor conocimiento y manejo de la patología.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Ballesteros Massó R. Columna toracolumbar. Madrid: Marbán; 2012.
2. Wajchenberg M, Astur N, Kanas M, Martins DE. Adolescent idiopathic scoliosis: current concepts on neurological and muscular etiologies. *Scoliosis Spinal Disord.* 2016;11:4.
3. Grauers A, Einarsdottir E, Gerdhem P. Genetics and pathogenesis of idiopathic scoliosis. *Scoliosis Spinal Disord.* 2016;11:45.
4. Ikegawa S. Genomic study of adolescent idiopathic scoliosis in Japan. *Scoliosis Spinal Disord.* 2016;11:5.
5. Horne JP, Flannery R, Usman S. Adolescent idiopathic scoliosis: diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 1 de febrero de 2014;89(3):193-8.
6. Asher MA, Burton DC. Adolescent idiopathic scoliosis: natural history and long term treatment effects. *Scoliosis.* 31 de marzo de 2006;1(1):2.
7. Weinstein SL, Ponseti IV. Curve progression in idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am.* 1983;65(4):447–55.
8. Käfer W, Cakir B, Mattes T, Reichel H. *Orthopaedic Spine Surgery:-An Instructional Course Textbook.* Steinkopff; 2014.
9. Patel VV, Patel A, Harrop JS, Burger E. *Spine Surgery Basics.* Springer-Verlag, 2014.
10. Wynne-Davies R. Familial (idiopathic) scoliosis. A family survey. *J Bone Joint Surg Br.* febrero de 1968;50(1):24-30.
11. Cowell HR, Hall JN, MacEwen GD. Genetic aspects of idiopathic scoliosis. A Nicholas Andry Award essay, 1970. *Clin Orthop Relat Res.* agosto de 1972;86:121-31.
12. Martín Martín J, Rodríguez Blanco C, Eguren Hernández EM, Díaz Polegre R, de León García F, Pedrosa Guerra AI. [Family prevalence of idiopathic scoliosis]. *An Esp Pediatr.* febrero de 1997;46(2):148-50.
13. Wajchenberg M, Martins DE, Puertas EB. Genetic aspects of the adolescent idiopathic scoliosis. *Coluna/Columna.* septiembre de 2012;11(3):234-6.
14. Burwell RG, Dangerfield PH, Moulton A, Grivas TB. Adolescent idiopathic scoliosis (AIS), environment, exposome and epigenetics: a molecular perspective of postnatal normal spinal growth and the etiopathogenesis of AIS with consideration of a network approach and possible implications for medical therapy. *Scoliosis.* 2 de diciembre de 2011;6(1):26.

15. Ocaka L, Zhao C, Reed JA, Ebenezer ND, Brice G, Morley T, et al. Assignment of two loci for autosomal dominant adolescent idiopathic scoliosis to chromosomes 9q31.2-q34.2 and 17q25.3-qtel. *J Med Genet.* febrero de 2008;45(2):87-92.
16. Alden KJ, Marosy B, Nzegwu N, Justice CM, Wilson AF, Miller NH. Idiopathic scoliosis: identification of candidate regions on chromosome 19p13. *Spine.* 15 de julio de 2006;31(16):1815-9.
17. Justice CM, Miller NH, Marosy B, Zhang J, Wilson AF. Familial idiopathic scoliosis: evidence of an X-linked susceptibility locus. *Spine.* 15 de marzo de 2003;28(6):589-94.
18. Bohl DD, Telles CJ, Ruiz FK, Badrinath R, DeLuca PA, Grauer JN. A Genetic Test Predicts Providence Brace Success for Adolescent Idiopathic Scoliosis When Failure Is Defined as Progression to >45 Degrees. *Clin Spine Surg.* abril de 2016;29(3):E146-150.
19. KASP genotyping [Internet]. LGC, Biosearch Technologies. 2014 [citado 25 abril 2020]. Disponible en: <https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/kasp-explanation-fact-sheet.pdf>
20. Guide to running KASP genotyping reactions on the Roche LC480-Series instruments [Internet]. LGC, Biosearch Technologies. 2015 [citado 25 abril 2020]. Disponible en: <https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/running-KASP-on-Roche-LC480.pdf>
21. Yilmaz H, Zateri C, Uludag A, Bakar C, Kosar S, Ozdemir O. Single-nucleotide polymorphism in Turkish patients with adolescent idiopathic scoliosis: curve progression is not related with MATN-1, LCT C/T-13910, and VDR BsmI. *J Orthop Res.* septiembre de 2012;30(9):1459-63.
22. Yin X, Wang H, Guo J, Zhang L, Zhang Y, Li L, et al. Association of vitamin D receptor BsmI rs1544410 and Apal rs7975232 polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* enero de 2018;97(2):e9627.
23. Xu L, Qin X, Sun W, Qiao J, Qiu Y, Zhu Z. Replication of Association Between 53 Single-Nucleotide Polymorphisms in a DNA-Based Diagnostic Test and AIS Progression in Chinese Han Population. *Spine.* febrero de 2016;41(4):306-10.
24. Khanshour AM, Kou I, Fan Y, Einarsdottir E, Makki N, Kidane YH, et al. Genome-wide meta-analysis and replication studies in multiple ethnicities identify novel adolescent idiopathic scoliosis susceptibility loci. *Hum Mol Genet.* 15 de 2018;27(22):3986-98.
25. Gao W, Peng Y, Liang G, Liang A, Ye W, Zhang L, et al. Association between common variants near LBX1 and adolescent idiopathic scoliosis replicated in the Chinese Han population. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e53234.

26. Takahashi Y, Kou I, Takahashi A, Johnson TA, Kono K, Kawakami N, et al. A genome-wide association study identifies common variants near LBX1 associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nat Genet.* 23 de octubre de 2011;43(12):1237-40.
27. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Pols HAP, Van Leeuwen JPTM. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene.* 1 de septiembre de 2004;338(2):143-56.
28. Xia C-W, Qiu Y, Sun X, Qiu X-S, Wang S-F, Zhu Z-Z, et al. [Vitamin D receptor gene polymorphisms in female adolescent idiopathic scoliosis patients]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 5 de junio de 2007;87(21):1465-9.
29. Wang Y, Cui Z-Q, Luo T-B, Liu L. Correlations of VDR and VDBP genetic polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis and efficacy of brace treatment. *Genomics.* 2016;108(5-6):194-200.
30. Ingman WV, Robertson SA. The essential roles of TGFB1 in reproduction. *Cytokine Growth Factor Rev.* junio de 2009;20(3):233-9.
31. Qiu G, Guo S, Liu Y, Qian W, Wu Z. [The expression of collagen type I, II and TGF-beta1 in the articular processes of scoliosis patients]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 7 de septiembre de 2005;85(34):2391-4.
32. Ryzhkov II, Borzilov EE, Churnosov MI, Ataman AV, Dedkov AA, Polonikov AV. Transforming growth factor beta 1 is a novel susceptibility gene for adolescent idiopathic scoliosis. *Spine.* 20 de mayo de 2013;38(12):E699-704.
33. Nerlich AG, Bachmeier BE, Boos N. Expression of fibronectin and TGF-beta1 mRNA and protein suggest altered regulation of extracellular matrix in degenerated disc tissue. *Eur Spine J.* febrero de 2005;14(1):17-26.
34. Nikolova S, Dikova M, Dikov D, Djerov A, Savov A, Kremensky I, et al. Positive Association between TGFB1 Gene and Susceptibility to Idiopathic Scoliosis in Bulgarian Population. *Anal Cell Pathol (Amst)* [Internet]. 18 de julio de 2018 [citado 18 de mayo de 2020];2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6069583/>
35. Xu L, Sun W, Qin X, Qiu Y, Zhu Z. The TGFB1 gene is associated with curve severity but not with the development of adolescent idiopathic scoliosis: a replication study in the Chinese population. *BMC Musculoskelet Disord.* 13 de enero de 2016;17:15.

## **ANEXOS**

### **MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:**



**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA QUE IMPLIQUE MUESTRAS BIOLÓGICAS. MENORES DE 12 AÑOS  
HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID**

**SERVICIO:**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE:**

**TELÉFONO DE CONTACTO:**

**EMAIL:**

**NOMBRE DE LA LÍNEA DE TRABAJO:**

**VERSIÓN DE DOCUMENTO: (Número de versión, fecha):**

-----

**I) Finalidad de la línea de trabajo propuesta:**

**I) Finalidad de la línea de trabajo propuesta:**

La influencia de los factores genéticos en el desarrollo y evolución de la escoliosis es sospechada desde hace tiempo si bien en la actualidad dichos datos no presentan consistencia. La posibilidad de tener una vía de investigación que pueda contribuir en alguna medida a aclarar dicha influencia es altamente importante para poder modificar la aparición y el desarrollo de la EIA en el futuro.

El objetivo de este proyecto es el de definir los marcadores genéticos y epigenéticos relevantes en el riesgo y pronóstico de la EIA en nuestra población

*Los resultados de estos estudios ayudarán probablemente mejorar el enfoque de la escoliosis idiopática del adolescente*

**II) Algunas consideraciones sobre su participación:**

Es importante que Vd., como potencial donante de muestras, conozca varios aspectos importantes:

A) La donación de muestras es totalmente voluntaria.

B) Puede plantear todas las dudas que considere sobre su participación en este estudio.

*Se entrega copia de este documento al paciente*



C) Se solicita su autorización para la toma y uso en investigación biomédica de muestras de **Sangre** En dichas muestras se estudiarán marcadores genéticos y epigenéticos que el investigador principal considere necesarios para avanzar en la línea de trabajo arriba expuesta.

D) Se le tomará un volumen relativamente pequeño (**5cc**) de sangre venosa mediante una punción en el brazo (**toma unica**). La donación de sangre apenas tiene efectos secundarios; lo más frecuente es la aparición de pequeños hematomas en la zona de punción que desaparecen transcurridos 1 o 2 días.

E) No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por las muestras donadas y éstas no tendrán valor comercial. No obstante, la información generada a partir de los estudios realizados sobre su muestra podría ser fuente de beneficios comerciales. En tal caso, están previstos mecanismos para que estos beneficios reviertan en la salud de la población, aunque no de forma individual en el donante.

F) Las muestras y los productos obtenidos de las mismas serán almacenados y custodiados en (**IGBM-UVA**), lugar designado para este fin por el Investigador Principal del Estudio. La persona responsable de la custodia es el Dr.Tellería. La muestra quedará allí depositada de forma indefinida (siempre que no se haya consumido en su totalidad en el curso de los trabajos asociados a la misma). Si en dicho momento se propusiera el paso de las muestras a un Biobanco oficialmente reconocido, se le volverá a solicitar su consentimiento para ello.

G) Los datos personales asociados a las muestras serán tratados según lo dispuesto en la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999), de 13 de diciembre) y cualquier otra que resultara aplicable.

H) La información obtenida se almacenará en una base de datos, en soporte informático, registrada en la Agencia Española de Protección de Datos, según la legislación vigente (Ley Orgánica 15/1999). Los datos registrados serán tratados estadísticamente de forma codificada. En todo momento el donante tendrá derecho de acceso, rectificación o cancelación de los datos depositados en la base de datos siempre que expresamente lo solicite. Para ello deberá ponerse en contacto con el investigador principal. Los datos quedarán custodiados bajo la responsabilidad del Investigador Principal del Estudio **Dr.Noriega Gonzalez**.



I) Las muestras y/o la información clínica asociada a las mismas podrán ser utilizadas por el grupo del investigador principal en estudios futuros de investigación relacionados con la línea de trabajo arriba expuesta. Dichas muestras y/o la información clínica asociada a las mismas podrán ser cedidas a otros investigadores designados por el Investigador Principal para trabajos relacionados con esta línea, siempre al servicio de proyectos que tengan alta calidad científica y respeto por los principios éticos. En estos dos últimos casos, se solicitará antes autorización al CEIC (Comité Ético de Investigación Clínica) del Área de Salud Valladolid Este.

J) La falta de consentimiento o la revocación de este consentimiento previamente otorgado no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria que Vd. recibe/recibirá.

K) Es posible que los estudios realizados sobre sus muestras aporten información relevante para su salud o la de sus familiares. Vd. tiene derecho a conocerla y transmitirla a sus familiares si así lo desea.

L) Sólo si Vd. lo desea, existe la posibilidad de que pueda ser contactado en el futuro para completar o actualizar la información asociada al estudio.

*Los resultados de estos estudios ayudarán probablemente a diagnosticar y/o tratar de manera más precisa a los enfermos con una enfermedad como la de su hijo/a.*

## **II) Algunas consideraciones sobre su participación:**

Es importante que Vds., como padre y madre o tutor legal del niño menor de 12 años, conozca varios aspectos:

A) La participación es totalmente voluntaria. Dentro del proceso de asistencia hospitalaria por la enfermedad de su hijo/a, se realizará una encuesta clínica. Esta encuesta no interferirá con los procesos diagnósticos o terapéuticos que su hijo/a va a recibir por causa de su enfermedad

B) Puede plantear todas las dudas que considere sobre la participación de su hijo/a en este estudio.

C) No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por la participación en el estudio. No obstante, la información generada en el mismo podría ser fuente de beneficios comerciales. En tal caso, están previstos mecanismos para que estos beneficios reviertan en la salud de la población, aunque no de forma individual en el participante.



D) Los datos personales serán tratados según lo dispuesto en la normativa que resulte de aplicación, como es el Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril, General de Protección de Datos Personales, y su normativa de desarrollo tanto a nivel nacional como europeo.

E) La información obtenida se almacenará en una base de datos, en soporte informático, registrada en la Agencia Española de Protección de Datos, según la legislación vigente.

F) Los datos registrados serán tratados estadísticamente de forma codificada. En todo momento el participante tendrá derecho de acceso, modificación, oposición, rectificación o cancelación de los datos depositados en la base de datos siempre que expresamente lo solicite. Para ello deberá ponerse en contacto con el investigador principal. Los datos quedarán custodiados bajo la responsabilidad del Investigador Principal del Estudio, **Dr./Dra. xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx (indicar nombre)**. Así mismo, tienen derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no queda satisfecho.

G) Los datos serán guardados de forma indefinida, lo que permitirá que puedan ser utilizados por el grupo del investigador principal en estudios futuros de investigación relacionados con la línea de trabajo arriba expuesta. Dichos datos podrán ser cedidos a otros investigadores designados por el Investigador Principal para trabajos relacionados con esta línea, siempre al servicio de proyectos que tengan alta calidad científica y respeto por los principios éticos. En estos dos últimos casos, se solicitará antes autorización al CEIm (Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos) Área de Salud Valladolid Éste.

H) La falta de consentimiento o la revocación de este consentimiento previamente otorgado no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria que su hijo/a recibe/recibirá.

I) Es posible que los estudios realizados aporten información relevante para la salud de su hijo/a o la de sus familiares. Vds. tienen derecho a conocerla y transmitirla a sus familiares si así lo desea.

J) Sólo si Vds. lo desean, existe la posibilidad de que puedan ser contactados en el futuro para completar o actualizar la información asociada al estudio.



**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.**

**Estudio** \_\_\_\_\_

Yo, \_\_\_\_\_  
*(nombre y apellidos del padre ó representante legal)*

Yo, \_\_\_\_\_  
*(nombre y apellidos de la madre ó representante legal)*

- He leído la información que me ha sido entregada.
- He recibido la hoja de información que me ha sido entregada.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado del estudio con \_\_\_\_\_  
*(nombre y apellidos del investigador)*

Comprendo que la participación de mi hijo/a es voluntaria.  
 Comprendo que mi hijo/a puede retirarse del estudio:

- 1.- Cuando quiera.
- 2.- Sin tener que dar explicaciones.
- 3.- Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Por la presente, otorgo mi consentimiento informado y libre para que mi hijo/a participe en esta investigación.

Accedemos a que los médicos del HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID contacten con nosotros en el futuro en caso de que se necesite obtener nuevos datos.  SI  NO (marcar con una X lo que proceda)

Accedemos a que los médicos del HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID contacten con nosotros en caso de que los estudios realizados sobre los datos de mi hijo/a aporten información relevante para su salud o la de mis familiares  SI  NO (marcar con una X lo que proceda)

Una vez firmada, me será entregada una copia del documento de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
 FIRMA DEL PADRE/REPRESENTANTE LEGAL                      NOMBRE Y APELLIDOS                      FECHA

\_\_\_\_\_  
 FIRMA DE LA MADRE/REPRESENTANTE LEGAL                      NOMBRE Y APELLIDOS                      FECHA



En mi presencia, se ha dado a mi hijo/a toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento, está de acuerdo en participar y consiento que participe en el estudio.

Nombre y apellidos del padre/representante legal

Firma del padre/representante legal

Fecha.:

Nombre y apellidos de la madre/representante legal

Firma de la madre/representante legal

Fecha.:

Hago constar que he explicado las características y el objetivo del estudio, sus riesgos y beneficios potenciales al padre/madre/representante legal del menor, que el menor ha sido informado de acuerdo a sus capacidades, ha comprendido esta explicación y no hay oposición por su parte. El padre/madre/representante legal otorga su consentimiento por medio de su firma fechada en este documento. (El menor firmará su asentimiento cuando por su edad y madurez sea posible).

Yo he explicado por completo los detalles relevantes de este estudio al paciente nombrado anteriormente y/o a los padres/representante legal de la persona autorizada a dar el consentimiento en nombre del paciente.

---

FIRMA DEL INVESTIGADOR

NOMBRE Y APELLIDOS

FECHA

*Se entrega copia de este documento al paciente*



## **CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.**

### **APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO (CONTACTAR CON EL INVESTIGADOR PRINCIPAL)**

Yo \_\_\_\_\_ revoco el consentimiento de participación de mi hijo/a en el estudio, arriba firmado con fecha \_\_\_\_\_

Nombre y apellidos del padre/representante legal

Firma del padre/representante legal

Fecha.:

Nombre y apellidos de la madre/representante legal

Firma de la madre/representante legal

Fecha.:

## TABLAS:

**Tabla 1.** Polimorfismos estudiados.

SNP	GEN	SECUENCIA DE REFERENCIA	POSICIÓN
rs1544410	VDR	NG_008731.1:g.63980G>A	12q13.11
rs1800469	TGFB1	NG_013364.1:g.4536T>C	19q13.2
rs7975232	VDR	NC_000012.12:g.47845054C>A	12q13.11
rs17044552	—	NC_000002.12:g.22994301G>A	2p24.1
rs4782809	CDH13	NC_000016.10:g.83519274C>G	16q23.3
rs11190870	LBX1	NC_000010.11:g.101219450T>C	10q24.32

**Tabla 2.** Frecuencias genotípicas para cada uno de los 6 polimorfismos.

SNP	rs1544410			rs1800469			rs11190870		
Genotipo	GG	GA	AA	CC	CT	TT	TT	CT	CC
<b>Frecuencia observada pacientes</b>	45.55%	47.77%	6.66%	54.54%	37.5%	7.95%	35.55%	53.33%	11.11%
<b>Frecuencia observada progenitores</b>	32.86%	51.42%	15.71	50.75%	40.3%	8.96%	30.56%	50%	19.44%
<b>Frecuencia esperada</b>	30.84%	50.47%	18.69%	36.45%	50.47%	13.08%	28.97%	49.53%	21.5%

SNP	rs7975232			rs17044552			rs4782809		
Genotipo	TT	TG	GG	GG	AG	AA	GG	CG	CC
<b>Frecuencia observada pacientes</b>	31.17%	45.45%	23.38%	95.45%	4.54%	0%	26.44%	48.28%	25.29%
<b>Frecuencia observada progenitores</b>	21.31%	49.18%	29.5%	93.55%	6.45%	0%	26.09%	49.28%	24.64%
<b>Frecuencia esperada</b>	37.38%	39.25%	23.37%	96.26%	3.74%	0%	23.36%	53.27%	23.36%

**Tabla 3.** Polimorfismos con resultados significativos.

<b>POLIMORFISMO</b>	<b>COMPARACIÓN CON POBLACIÓN GENERAL</b>	<b>P VALOR PACIENTES</b>	<b>P VALOR PROGENITORES</b>	
<b>rs1544410</b>	<b>Frecuencia alélica (G y A)</b>	<b>p=0,0088</b>	p>0,05	
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia alelos G y A	<b>p=0,0162</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia alelo G (GG=GA)	<b>p=0,023</b>	p>0,05
		Hipótesis recesividad alelo G (GA=AA)	<b>p=0,048</b>	p>0,05
<b>rs1800469</b>	<b>Frecuencia alélica (C y T)</b>	<b>p=0,0205</b>	p>0,05	
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia alelos C y T	<b>p=0,038</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia alelo C (CC=CT)	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad alelo C (CT=TT)	<b>p=0,0171</b>	p>0,05

**Tabla 3 ampliada.** Todos los polimorfismos.

<b>POLIMORFISMO</b>	<b>COMPARACIÓN CON POBLACIÓN GENERAL</b>		<b>P VALOR PACIENTES</b>	<b>P VALOR PROGENITORES</b>
<b>rs1544410</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		<b>p=0,0088</b>	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	<b>p=0,0162</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia	<b>p=0,023</b>	p>0,05
		Hipótesis recesividad	<b>p=0,048</b>	p>0,05
<b>rs1800469</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		<b>p=0,0205</b>	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	<b>p=0,038</b>	p>0,05
		Hipótesis dominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad	<b>p=0,0171</b>	p>0,05
<b>rs4782809</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		p > 0,05	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis dominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad	p > 0,05	p>0,05
<b>rs7975232</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		p > 0,05	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis dominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad	p > 0,05	p>0,05
<b>rs11190870</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		p > 0,05	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis dominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad	p > 0,05	p>0,05
<b>rs17044552</b>	<b>Frecuencia alélica</b>		p > 0,05	p>0,05
	<b>Frecuencia genotípica</b>	Hipótesis codominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis dominancia	p > 0,05	p>0,05
		Hipótesis recesividad	p > 0,05	p>0,05

## TABLAS DE CONTINGENCIA (PACIENTES)

rs1544410

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
G	125	120
A	55	94

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	41	33
GA	43	54
AA	6	20

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+GA	84	87
AA	6	20

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	41	33
GA+AA	49	74

rs7975232

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
G	71	92
T	83	122

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	24	40
TG	35	42
GG	18	25

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT+TG	59	82
GG	18	25

rs1800469

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
C	129	132
T	47	82

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC	48	39
CT	33	54
TT	7	14

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC+CT	81	93
TT	7	14

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC	48	39
CT+TT	40	68

rs11190870

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
T	112	115
C	68	99

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	32	31
CT	48	53
CC	10	23

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT+CT	80	84
CC	10	23

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	24	40
TG+GG	53	67

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	32	31
CT+CC	58	76

rs4782809

rs17044552

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
C	86	107
G	88	107

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
A	4	4
G	172	210

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	23	25
CG	42	57
CC	22	25

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	84	103
AG	4	4
AA	0	0

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+CG	65	82
CC	22	25

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+AG	88	107
AA	0	0

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	23	25
CG+CC	64	82

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	84	103
AG+AA	4	4

## TABLAS DE CONTINGENCIA (PROGENITORES)

rs1544410

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
G	82	120
A	58	94

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	23	33
GA	36	54
AA	11	20

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+GA	59	87
AA	11	20

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	23	33
GA+AA	47	74

rs7975232

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
G	66	92
T	56	122

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	13	40
TG	30	42
GG	18	25

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT+TG	43	82
GG	18	25

rs1800469

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
C	95	132
T	39	82

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC	34	39
CT	27	54
TT	6	14

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC+CT	61	93
TT	6	14

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
CC	34	39
CT+TT	33	68

rs11190870

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
T	80	115
C	64	99

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	22	31
CT	36	53
CC	14	23

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT+CT	58	84
CC	14	23

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	13	40
TG+GG	48	67

rs4782809

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
TT	22	31
CT+CC	50	76

rs17044552

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
C	68	107
G	70	107

FRECUENCIAS ALÉLICAS		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
A	4	4
G	120	210

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	18	25
CG	34	57
CC	17	25

HIPÓTESIS CODOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	58	103
AG	4	4
AA	0	0

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+CG	52	82
CC	17	25

HIPÓTESIS DOMINANCIA		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG+AG	62	107
AA	0	0

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	18	25
CG+CC	51	82

HIPÓTESIS RECISIVIDAD		
	PACIENTES	POBLACIÓN GENERAL
GG	58	103
AG+AA	4	4