



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

**ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE UNA VARIANTE POLIMÓRFICA DEL GEN  
*MTR* Y EL RIESGO DE FISURA LABIOPALATINA NO SINDRÓMICA EN CHILE**

**Romina Thais de Lourdes Barría Acosta**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL  
Prof. José Suazo Sanhueza**

**Adscrito a Proyecto FONDECYT 1170805  
Santiago - Chile  
2021**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

**ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE UNA VARIANTE POLIMÓRFICA DEL GEN  
*MTR* Y EL RIESGO DE FISURA LABIOPALATINA NO SINDRÓMICA EN CHILE**

**Romina Thais de Lourdes Barría Acosta**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL  
Prof. José Suazo Sanhueza**

**Adscrito a Proyecto FONDECYT 1170805  
Santiago - Chile  
2021**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer a todas las personas que me apoyaron en mi paso por la universidad.

Agradezco al profesor José Suazo Sanhueza, por darme la confianza de participar en este estudio (adscrito a Proyecto FONDECYT 1170805) y aceptar ser mi tutor de tesis, por guiarme en este largo proceso con mucha paciencia, comprensión y dedicación.

También quiero agradecer a todos los docentes que fueron parte de mi formación académica y clínica, por entregarme las herramientas y darme la oportunidad de desarrollar las habilidades que me abrirán camino en mi vida laboral.

Sin duda todo este largo camino por la universidad fue mucho más ameno gracias al apoyo de mi familia y amigas. En especial me gustaría agradecer a mi mamá, papá, hermana, pololo e hijo por ser mi pilar en los momentos de adversidad, por darme apoyo incondicional y por contenerme emocionalmente.

Finalmente quiero agradecerme por siempre ser perseverante y nunca rendirme, a pesar de todos los obstáculos.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Fisura labio palatina.....	1
1.2. Aspectos embriológicos .....	1
1.3. Epidemiología .....	2
1.4. Repercusión en salud pública .....	2
1.5. Factores etiológicos .....	3
1.6. Folato y su metabolismo .....	4
1.7. Metionina sintasa ( <i>MTR</i> ).....	5
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	<b>7</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
3.1. Objetivo general .....	7
3.2. Objetivos específicos .....	7
<b>4. METODOLOGÍA</b> .....	<b>7</b>
4.1. Sujetos .....	7
4.2. Extracción de ADN Genómico y obtención de los genotipos de los polimorfismos .....	8
4.3. Análisis Estadístico .....	9
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>10</b>
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	<b>15</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>18</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>19</b>
<b>9. ANEXOS</b> .....	<b>24</b>
Anexo 1. Acta de aprobación de protocolo de investigación por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile .....	24
Anexo 2. Aprobación del Comité Institucional de Bioseguridad .....	26
Anexo 3. Consentimiento informado .....	27

## RESUMEN

**Introducción:** La fisura labiopalatina no sindrómica (FL/PNS), es una de las malformaciones congénitas más frecuentes en la especie humana, se produce por una alteración en la fusión de los tejidos que darán origen al labio superior y/o al paladar, durante el desarrollo embrionario. Requiere de una serie de tratamientos e intervenciones de diferentes disciplinas, lo que conlleva una rehabilitación larga y costosa. Su etiología es multifactorial, intervienen los factores de riesgo genéticos y las variables ambientales, un buen ejemplo de esta interacción entre las variables genéticas y ambientales en la etiología de la FL/PNS es el metabolismo del folato/ácido fólico. Existen alrededor de 50 genes que codifican productos involucrados en este metabolismo, donde varios de ellos tienen polimorfismos (SNP) de riesgo para FL/PNS, entre ellos el SNP rs1805087 del gen *MTR* estudiado en otras poblaciones. El propósito de este estudio fue analizar la asociación entre el SNP rs1805087 del gen *MTR* y el riesgo de presentar fisura labiopalatina no sindrómica en la población Chilena, tanto en la muestra total como separada por sexo.

**Material y métodos:** Se utilizó una muestra conformada por 260 casos de FL/PNS y 346 controles. La asociación entre este polimorfismo y el fenotipo se analizó mediante el cálculo del odds ratio (OR) con intervalo de confianza de 95%, tanto para alelos, genotipos, modelo recesivo, dominante y sobredominante en la muestra total y separada por sexo.

**Resultados:** Tanto para la muestra total como para la muestra separada por sexo, no se encontraron asociaciones significativas en ningún modelo entre el SNP rs1805087 y la FL/PNS en Chile.

**Conclusiones:** En este estudio caso control, tanto para la muestra total como para la muestra separada por sexo, no se encontraron asociaciones significativas en ningún modelo entre el SNP rs1805087 y la FL/PNS en Chile. Esto podría explicarse probablemente por el bajo poder estadístico de este análisis y/o por el efecto de la heterogeneidad genética.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. FISURA LABIO PALATINA**

La Fisura de Labio con o sin Fisura Palatina o Fisura Labiopalatina (FL/P), es una de las malformaciones congénitas más frecuentes en la especie humana (Palone y Vargas, 2016), se produce por una alteración en la fusión de los tejidos que darán origen al labio superior y/o al paladar, durante el desarrollo embrionario (MINSAL, 2009).

Clínicamente, cuando la FL/P aparece con otras malformaciones (generalmente dos o más) en patrones reconocibles, se clasifica como FL/P sindrómica. Si aparece como un defecto aislado o si no se pueden identificar síndromes, se utiliza el término FL/P no sindrómico o FL/PNS (Singh y Singh, 2012).

### **1.2. ASPECTOS EMBRIOLÓGICOS**

En humanos aproximadamente a las cuatro semanas de vida intrauterina comienza el desarrollo de la cara, que está formada por el proceso frontal rodeado por los primeros y segundos arcos branquiales. Posteriormente, el proceso frontal da origen a los procesos frontonasales mediales y laterales, mientras que el primer arco branquial origina los procesos maxilares y mandibulares (Chiego, 2014). Los procesos nasomediales crecen más que los laterales, fusionándose a los procesos maxilares para formar el labio superior y el paladar primario (Mossey, Little, Munger y cols., 2009). Finalmente, en la parte interna de la boca primitiva, las láminas palatinas del proceso maxilar se elevan y se fusionan en la línea media con el septum nasal para formar el paladar óseo secundario. De ocasionarse fallas en la fusión de alguna de estas estructuras embrionarias se generan fisuras labiopalatinas (Rincón, Suazo y Blanco, 2012).

### **1.3. EPIDEMIOLOGÍA**

La FL/P es una de las malformaciones congénitas más frecuentes en la especie humana con una prevalencia mundial estimada de 1 por 700 recién nacidos vivos (RNV) (Palone y Vargas, 2016).

Alrededor del 70% de los FL/P son no sindrómicas mostrando una etiología compleja (Cáceres, Salamanca, Krause, 2020).

Generalmente las poblaciones latinoamericanas y asiáticas tienen las tasas de prevalencia de nacimientos más altas reportadas, usualmente duplican el promedio. Las poblaciones de origen europeo tienen tasas intermedias de aproximadamente 1 en 1.000 RNV, mientras que las poblaciones de origen africano tienen las tasas más bajas de aproximadamente 1 de cada 2.500 RNV (Mossey, Little, Munger y cols., 2009).

En Chile, según el Estudio Colaborativo Latino Americano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), en los hospitales participantes de éste, la incidencia promedio entre el 2001 y 2010 fue de 1,4 casos de FL/P por 1000 RN vivos. No se encontró una diferencia significativa con las incidencias encontradas entre los años 1982-1994 (Nazer y Cifuentes, 2014).

Según un estudio realizado en el Hospital Clínico San Borja Arriarán el año 2015, se describe una mayor prevalencia de las FL/P en pacientes del sexo masculino (56,8%) en comparación al sexo femenino (43,2%) (Cordero, Correa, Pantoja, 2015).

### **1.4. REPERCUSIÓN EN SALUD PÚBLICA**

Desde el nacimiento, una persona con una FL/P tiene consecuencias a diversos niveles como el estético, auditivo, cognitivo, psicológico, lenguaje, del habla, social, es por esto que se requiere de una serie de tratamientos e intervenciones de diferentes disciplinas (enfermería, cirujanos plásticos e infantiles, maxilofaciales,

otorrinolaringólogos, fonoaudiólogos, genetistas, psicólogos, odontopediatras, ortodoncistas, ginecólogos ecografistas, kinesiólogos, etc.) lo que conlleva una rehabilitación larga y costosa (MINSAL, 2015). El costo anual de esta rehabilitación para el Estado de Chile es de más de 93 millones de pesos (Superintendencia de Salud, 2016).

Según un estudio realizado en Estados Unidos, los autores examinaron varias categorías de atención médica para el uso y los gastos de los servicios, incluidos los gastos médicos, hospitalarios, ambulatorios, domiciliarios, de salud mental, de bienestar infantil, dentales y de atención médica total. Encontraron que los gastos totales de Medicaid (programa de seguro de salud federal y estatal para personas de bajos ingresos), para los bebés con FL/P durante el primer año de vida fueron más altos que los de los bebés no afectados en aproximadamente US\$11 millones. En este estudio, los gastos totales acumulados de Medicaid durante los primeros cinco años de vida para los niños con FL/P fueron significativamente más altos que los de los niños no afectados en aproximadamente US\$22 millones (Wehby, Cassel, 2010).

### **1.5. FACTORES ETIOLÓGICOS**

Si bien los estudios de gemelos y los estudios de agrupación familiar han proporcionado evidencia convincente de un componente genético de FL/PNS (Mitchell, 2002), pocos pedigrees muestran claramente herencia mendeliana y la mayoría de los casos aparecen esporádicos (Jugessur y cols, 2009). Además, se sabe que la FL/P está influenciada por factores de riesgo ambientales, tales como la exposición materna al humo del tabaco, consumo de alcohol durante el embarazo, estrés fisiológico materno, consumo de medicamentos como corticosteroides, agentes anticonvulsivantes o antagonistas del folato durante el periodo periconcepcional y nutrición materna (Sabbagh y cols., 2015; Xu y cols., 2018); consecuentemente, un modelo de herencia multifactorial es favorecido en el que factores de riesgo genéticos de pequeño impacto individual pueden interactuar con

covariables ambientales (Saleem y cols., 2019). Estos factores combinados complican el análisis genético de las FL/PNS. En la actualidad, una combinación de estudios epidemiológicos, de genes candidatos y de todo el genoma, más el análisis de modelos animales, ha proporcionado recientemente conocimientos más profundos sobre las causas de la FL/PNS (Dixon, Marazita, Beaty y cols., 2011). Un buen ejemplo de esta interacción entre las variables genéticas y ambientales en la etiología de la FL/PNS es el metabolismo del folato/ ácido fólico (FA) (Bhaskar, Murthy y Babu, 2011).

## **1.6. FOLATO Y SU METABOLISMO**

El folato (ácido fólico para su forma sintética) es una vitamina esencial debido a que los mamíferos carecen de actividad biológica para sintetizarlo, por lo cual es necesario obtenerlo a partir de la dieta. A las mujeres gestantes se les recomienda una dosis suplemental de esta vitamina para prevenir los defectos del tubo neural y otras malformaciones congénitas en el neonato (Herrera, Muñoz y Parra, 2016).

Existen alrededor de 50 genes que codifican productos involucrados en el transporte de folato, el metabolismo, el ciclo de metilación, la transferencia de ADN y proteínas del grupo metilo, y la síntesis de nucleótidos, donde varios de ellos tienen polimorfismos de riesgo para FL/PNS (Ramírez, Blanco, Colombo y cols., 2016).

En la vía de remetilación del metabolismo del folato (Figura 1), el 5-metiltetrahidrofolato (5-MeTHF) puede donar un grupo metilo para la metilación de la homocisteína (Hcy) en metionina, reacción catalizada por la enzima metionina sintasa (MTR) que usa metilcobalamina como cofactor, derivado de la vitamina B12 (Li, Gulati, Baker y cols., 1996). Luego la enzima metionina adenosiltransferasa (MAT) a partir de metionina cataliza la formación de S-adenosilmetionina (SAM), el cual es considerado donante fundamental de grupos metilo a diversos sustratos tales como ácidos nucleicos, proteínas y lípidos (Salpea, Russanova, Hirai y cols., 2012). La metilación del ADN es uno de los mecanismos epigenéticos más conocido en la regulación de la expresión génica y es esencial para la embriogénesis y el

desarrollo fetal (Van, Bouwland-Both, Stolk y cols., 2014). Un estudio reciente en Chile evidencia asociación no lineal entre la metilación del ADN y el riesgo de FL/P no síndromica en ADN extraído de la mucosa oral de sujetos chilenos (Cáceres, Salamanca, Krause, 2020).

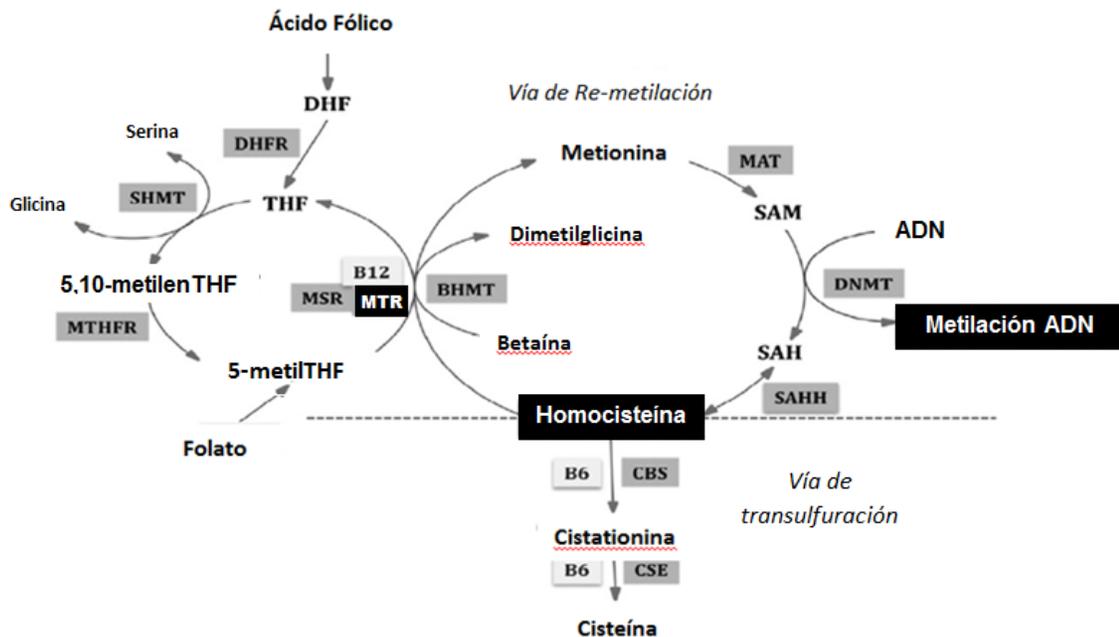


Figura 1: Descripción general del metabolismo del ácido fólico humano (adaptado de Mandaviya, Stolk y Heil, 2014).

### 1.7. METIONINA SINTASA (*MTR*)

El gen *MTR*, que codifica la enzima del mismo nombre, se ha localizado en el cromosoma 1. Se ha informado que polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) del gen *MTR* actúan como factor de riesgo para defectos del tubo neural (Bhaskar, Murthy y Babu, 2011). Todo SNP presenta un alelo mayor y un alelo menor, de acuerdo con la frecuencia alélica en cierta población. El alelo mayor es aquel más frecuente en un SNP de una población determinada, por lo que el alelo menor es el menos frecuente. Por otro lado, se define como alelo de riesgo aquel alelo que se asocia de manera estadísticamente significativa con el riesgo de tener una enfermedad en estudio. Generalmente, el alelo menor suele ser considerado como

el alelo de riesgo, debido a que la mayoría de las personas no porta este alelo; sin embargo, pueden existir excepciones donde el alelo mayor sea el de riesgo (Inieta, Guinó y Moreno, 2005). Se identificó que el polimorfismo rs1805087 (A>G) del gen *MTR* es un factor de riesgo significativo de espina bífida y síndrome de Down. Existen muy pocos estudios sobre este polimorfismo y FL/PNS (Bhaskar, Murthy y Babu, 2011). Sin embargo, en algunas poblaciones se evidenció asociación significativa entre el SNP rs1805087 y el efecto protector para FL/PNS, por ejemplo, en China (Wang y cols., 2016) y en Turquía (Asxlar y cols, 2014). Se ha descrito evidencia que el polimorfismo rs1805087 del gen *MTR* genera una variante de sentido erróneo, es decir, es un tipo de mutación puntual no sinónima en la cual se produce un cambio en un único nucleótido, provocando la aparición de un codón que codifica para un aminoácido diferente, que parece aumentar la actividad enzimática, teniendo niveles circulantes de Hcy más bajos y niveles más altos de folato que los portadores del alelo mayor. Además, tienen un aumento en la metilación global del ADN (Salamanca, González-Hormazábal, Recabarren y cols., 2020).

En Chile se han estudiado recientemente 3 polimorfismos del gen *MTR*: rs10925239, rs10925254 y rs3768142 como marcadores protectores para FL/PNS, ya sea como variantes individuales o conformando un haplotipo. Sin embargo, los polimorfismos incluidos en este estudio estaban ubicados en intrones (Salamanca, González-Hormazábal, Recabarren y cols., 2020), por lo que cobra relevancia realizar estudios en la población chilena con una variante funcional de este gen (se encuentra en la secuencia codificante) como lo es el polimorfismo rs1805087, previamente asociado al riesgo de FL/PNS en otras poblaciones.

## **2. HIPÓTESIS**

El polimorfismo rs1805087 del gen *MTR* se asocia con el riesgo de presentar fisura labiopalatina no sindrómica en Chile.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Analizar la asociación entre el polimorfismo rs1805087 del gen *MTR* y el riesgo de presentar fisura labiopalatina no sindrómica en Chile.

### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Analizar la asociación entre el polimorfismo rs1805087 del gen *MTR* y el riesgo de presentar fisura labiopalatina no sindrómica en la población Chilena.
- 2) Analizar la asociación entre el polimorfismo rs1805087 del gen *MTR* y el riesgo de presentar fisura labiopalatina no sindrómica en la población Chilena, considerando el sexo de los sujetos.

## **4. METODOLOGÍA**

### **4.1. Sujetos**

La muestra está conformada por 260 casos. Estos individuos fueron reclutados durante los años 2017 y 2018, entre pacientes con FL/PNS en diferentes hospitales de la región metropolitana: San Borja Arriarán, Roberto del Río, Exequiel González Cortés y la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Entre los casos, el 40% son del sexo femenino y un 31% tiene historia familiar previa de fisuras orofaciales. A todos los participantes de esta investigación (o a su representante legal en el caso de los menores de edad) se les informó sobre este estudio, los que aceptaron participar voluntariamente y firmaron un consentimiento informado

aprobado por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexos 1, 2 y 3). Para el grupo de casos, los criterios de inclusión para esta investigación fueron: pacientes chilenos de estos hospitales que tuvieran FL/P (fisura de labio con o sin fisura de paladar) uni o bilaterales, y que no estuviesen asociadas a un síndrome u otra malformación, en base al diagnóstico de un médico genetista. Los criterios de exclusión usados fueron pacientes cuyas madres hayan estado expuestas durante su embarazo o practicado alguno de los factores conocidos causantes de fisuras orofaciales (consumo de warfarina, fenitoína y alcohol), y que el paciente sea extranjero o tenga padres y/o abuelos extranjeros. Respecto al grupo control (N= 346, 43% del sexo femenino), estos fueron reclutados entre los donantes de los Bancos de Sangre del Hospital San José y Hospital San Juan de Dios, y los pacientes de la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile durante los años 2017 y 2019. Se incluyeron a sujetos chilenos, de progenitores chilenos sin fisuras orofaciales. Se excluyeron a sujetos con antecedentes familiares de fisuras orofaciales hasta tercer grado de parentesco. A todos los participantes se les tomó una muestra de hisopado bucal, las que se enviaron al Biobanco de Tejidos de la Universidad de Chile (BTUCH), en donde se extrajo el ADN genómico y se almacenaron a -20°C.

#### **4.2. Extracción de ADN Genómico y obtención de los genotipos de los polimorfismos**

Desde las muestras de hisopado oral, se extrajo el ADN genómico usando el protocolo comercial (QIAamp DNA Blood Mini Kit; QIAGEN). Su concentración fue determinada con un método fluorimétrico comercial y su integridad fue evaluada mediante una electroforesis en geles de agarosa al 0,8%. Las muestras de ADN genómico fueron enviadas a ERAMUS MC University Rotterdam en Holanda donde se genotificaron usando un array de Illumina (Infinium iSelect 24x1 HTS BeadChip), que contiene más de 600.000 polimorfismos de base única (single nucleotide polymorphisms, SNPs). Desde estos datos se extrajeron los genotipos de la variante seleccionada del gen *MTR* (rs1805087), tanto en los casos como en los controles.

### 4.3. Análisis Estadístico

Las frecuencia alélicas y genotípicas para este polimorfismo se estimaron utilizando proporciones simples en casos y controles. La distribución de las frecuencias genotípicas en la muestra control de acuerdo con el equilibrio de Hardy-Weinberg se evaluó mediante una prueba de *chi*-cuadrado exacto, implementada en el paquete STATA v15. La asociación entre este polimorfismo y el fenotipo se analizó mediante el cálculo del odds ratio (OR) con intervalo de confianza de 95%, tanto para alelos, genotipos, modelo recesivo, dominante, sobredominante en la muestra total y separada por sexo. El poder estadístico asociado a este estudio de asociación se estimó usando el programa QUANTO en base a la frecuencia alélica observada en los controles y el OR en base a la prueba alélica.

## 5. RESULTADOS

En este trabajo de tesis, se propuso analizar la asociación entre el polimorfismo funcional rs1805087 y la FL/PNS en la población chilena, incluyendo el efecto del sexo de los sujetos en dicha asociación. En la Tabla 1 se observan las frecuencias alélicas en casos y controles de rs1805087 del gen *MTR*. La distribución genotípica en la muestra de controles no se desvió significativamente de lo esperado para el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p = 0,859$ ). En esta Tabla también se observa el análisis de asociación alélica entre rs1805087 y la FL/PNS en la población chilena. Usando como referencia el alelo A, este análisis no detectó una asociación significativa ( $p = 0,646$ ).

**Tabla 1: Frecuencias alélicas en casos y controles y análisis de asociación alélica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena#**

Alelos	Frecuencia Casos	Frecuencia Controles	OR (IC 95%)	p-value
A	0,803	0,814	---	---
G	0,197	0,186	1,07 (0,79 – 1,44)	0,646

# p-value Hardy-Weinberg en controles: 0,859

En la Tabla 2 se observan las frecuencias genotípicas en casos y controles y análisis de asociación genotípica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población chilena. Usando como referencia el genotipo AA, esta Tabla evidencia que no hay asociación significativa para ninguno de los genotipos (genotipo AG  $p = 0,800$ ; genotipo GG  $p = 0,630$ ).

**Tabla 2: Frecuencias genotípicas en casos y controles y análisis de asociación genotípica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

Genotipos	Frecuencia Casos	Frecuencia Controles	OR (IC 95%)	p-value
AA	0,644	0,659	---	---
AG	0,317	0,309	1,04 (0,74 – 1,48)	0,800
GG	0,039	0,032	1,24 (0,52 – 2,99)	0,630

Al analizar otros modelos de asociación (Tabla 3), se observa que en base a los modelos dominante, recesivo y sobredominante, no existe asociación significativa entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población chilena. Como se aprecia en esta tabla, los valores de p fueron de 0,717: 0,650 y 0,847, para los modelos dominante, recesivo y sobredominante, respectivamente.

**Tabla 3: Asociación en base a modelos dominante, recesivo y sobredominante entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

Modelo	OR (IC 95%)	p-value
Dominante (AA vs AG+GG)	1,06 (0,75 – 1,52)	0,717
Recesivo (AA+AG vs GG)	1,22 (0,46 – 3,23)	0,650
Sobredominante (AA+GG vs AG)	1,03 (0,72 – 1,48)	0,847

Como anteriormente se describe, el sexo de los sujetos es una variable que ha sido descrita como un factor que modifica las asociaciones genotipo-FL/PNS. Es por ello que todos los análisis antes descritos fueron también realizados separados por sexo. Es así como en la Tabla 4 se observa las frecuencias alélicas en casos y controles mujeres y el análisis de asociación alélica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población chilena, donde se puede apreciar que no se detectó una asociación significativa ( $p = 0,564$ ).

**Tabla 4: Frecuencias alélicas en casos y controles mujeres y análisis de asociación alélica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

Alelos	Frecuencia Casos	Frecuencia Controles	OR (IC 95%)	p-value
A	0,808	0,787	---	---
G	0,192	0,213	0,88 (0,55 – 1,39)	0,564

En la Tabla 5 se observan las frecuencias genotípicas en casos y controles mujeres y análisis de asociación genotípica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la

población chilena. En esta Tabla se evidencia que no hay asociación significativa para ninguno de los genotipos (genotipo AG  $p = 0,196$ ; Genotipo GG  $p = 0,478$ ).

**Tabla 5: Frecuencias genotípicas en casos y controles mujeres y análisis de asociación genotípica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

<b>Genotipos</b>	<b>Frecuencia Casos</b>	<b>Frecuencia Controles</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>p-value</b>
AA	0,664	0,6	---	---
AG	0,288	0,373	0,7 (0,41 – 1,2)	0,196
GG	0,048	0,027	1,63 (0,42 – 6,3)	0,478

Para la asociación en base a los modelos genéticos dominante, recesivo y sobredominante (Tabla 6) en la muestra de mujeres entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS, no se registró asociación significativa en ninguno de ellos (dominante  $p = 0,304$ ; recesivo  $p = 0,364$ ; sobredominante  $p = 0,160$ ).

**Tabla 6: Asociación en base a modelos dominante, recesivo y sobredominante en la muestra de mujeres entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

<b>Modelo</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>p-value</b>
Dominante (AA vs AG+GG)	0,76 (0,44 – 1,32)	0,304
Recesivo (AA+AG vs GG)	1,84 (0,39 – 9,51)	0,364
Sobredominante (AA+GG vs AG)	0,68 (0,38 – 1,2)	0,160

En el caso de la muestra de varones, en la Tabla 7 se observan las frecuencias alélicas en casos y controles. En esta Tabla también se aprecia el resultado del análisis de asociación alélica entre rs1805087 y la FL/PNS en la población chilena, en donde no se detectó una asociación significativa ( $p = 0,243$ ).

**Tabla 7: Frecuencias alélicas en casos y controles varones y análisis de asociación alélica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

Alelos	Frecuencia Casos	Frecuencia Controles	OR (IC 95%)	p-value
A	0,8	0,834	---	---
G	0,2	0,166	1,26 (0,84 – 1,88)	0,243

Respecto al análisis genotípico en la muestra de varones, en la Tabla 8 se observa las frecuencias genotípicas en casos y controles y el respectivo análisis de asociación. No se evidencia asociación entre rs1805087 y la FL/PNS (genotipo AG  $p = 0,127$ ; genotipo GG  $p = 0,992$ ).

**Tabla 8: Frecuencias genotípicas en casos y controles varones y análisis de asociación genotípica entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

Genotipos	Frecuencia Casos	Frecuencia Controles	OR (IC 95%)	p-value
AA	0,632	0,704	---	---
AG	0,336	0,26	1,44 (0,9 – 2,29)	0,127
GG	0,032	0,036	1,01 (0,31 – 3,26)	0,992

Finalmente, en la tabla 9 se observa la asociación en base a los modelos genéticos dominante, recesivo y sobredominante en la muestra de varones entre rs1805087 del gen *MTR* y el fenotipo en la población chilena. En este análisis se detectó que no existe asociación significativa, con valores de  $p = 0,155$ ;  $0,860$  y  $0,124$  para los modelos dominante, recesivo y sobredominante, respectivamente.

**Tabla 9: Asociación en base a modelos dominante, recesivo y sobredominante en la muestra de varones entre rs1805087 del gen *MTR* y la FL/PNS en la población Chilena.**

<b>Modelo</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>p-value</b>
Dominante (AA vs AG+GG)	1,38 (0,86 – 2,22)	0,155
Recesivo (AA+AG vs GG)	0,9 (0,22 – 3,37)	0,860
Sobredominante (AA+GG vs AG)	1,44 (0,88 – 2,34)	0,124

## 6. DISCUSIÓN

El propósito de este estudio era evaluar la presencia de asociación entre un polimorfismo funcional del gen *MTR* y la FL/PNS en Chile. Recientemente, un estudio realizado en Chile reportó tres SNPs intrónicos del gen *MTR*: rs10925239, rs10925254 y rs3768142 como marcadores protectores contra FL/PNS en la población chilena (Salamanca, González-Hormazábal, Recabarren y cols., 2020). Sin embargo, estos marcadores se encuentran en regiones no codificantes del gen, por lo que el fundamento biológico para esta asociación no es claro. Por ello consideramos necesario analizar mediante este estudio una variante funcional previamente descrita y asociada como factor protector a FL/PNS en otras poblaciones como el SNP rs1805087 (Mostowska y cols., 2006; Chorna y cols., 2011; Wang y cols., 2016) en la población chilena. La importancia de este SNP en el metabolismo del folato radica en que genera una variación en la proteína (Asp919Gly). Este cambio de secuencia incrementaría la actividad de la enzima, dado que los portadores del alelo G presentan bajos niveles circulantes de homocisteína y altos de folatos en comparación a los portadores del alelo A (Wang y cols., 2016). Además, los sujetos de genotipo GG presentan un mayor porcentaje de metilación del ADN que los sujetos AA (Goode y cols., 2004).

Como primer objetivo de este estudio, planteamos un análisis de asociación entre el SNP rs1805087 del gen *MTR* y el riesgo de FL/PNS en una muestra de casos y controles de la población Chilena. Además, el segundo objetivo consideraba la variable sexo de los sujetos en esta asociación. Como ya se describió, estos análisis no reportaron asociación significativa entre las variables en ninguno de los modelos así como tampoco separando a los sujetos por sexo.

Estos resultados pueden deberse a diversos factores. Entre ellos, se puede mencionar el efecto de la heterogeneidad genética. Este concepto implica que una variante asociada a un fenotipo complejo en una población, no necesariamente se asociará al mismo rasgo en otra población, en especial si tiene orígenes genéticos diferentes (McClellan y King, 2010). En este sentido, un reciente estudio muestra

que la población contemporánea chilena tiene un 44,7% de alelos de origen amerindio, 52,3% europeo y 3% africano (Bazoret y cols., 2021). En otras poblaciones se evidenció asociación significativa entre el SNP rs1805087 y el efecto protector para FL/PNS, como por ejemplo, en China con una muestra de 147 casos y de 129 controles (Wang y cols., 2016) y en Turquía con 200 casos y 250 controles (Asxlar y cols, 2014). Sin embargo, existen reportes en que no se detectó asociación como en el caso de una muestra de Brasil con 114 casos y 110 controles (Brandalize y cols., 2007) e India con una muestra de 284 casos y 282 controles (Murthy y cols, 2015).

Otra posible explicación para nuestros resultados es el tamaño muestral de este estudio. Si bien este parece adecuado, utilizando el programa QUANTO se calculó el poder estadístico el cual dio un 11% en modelo aditivo, 9,5% en modelo dominante y 12% en modelo recesivo. Teniendo en cuenta que el mínimo aceptado es de 80%, sólo hay un 11% de probabilidad de encontrar un efecto (asociación entre SNP rs1805087 y FL/PNS) en la muestra.

Por otra parte, existe también la posibilidad que el gen *MTR* no tenga relación con FL/PNS o que por sí solo no tenga relación, sino que en interacción con otros genes. En este sentido, un meta-análisis considerando ocho estudios con poblaciones de diferente origen étnico, no detectó asociación entre el rs1805087 y FL/PNS bajo ningún modelo. Sin embargo, cabe recordar un estudio previo en la población chilena que arrojó asociación significativa para otros SNPs intrónicos del gen *MTR* (Salamanca, González-Hormazábal, Recabarren y cols., 2020).

El presente estudio cuenta con ciertas fortalezas y debilidades que se deben considerar. Su principal fortaleza es la novedad en la población chilena, ya que según nuestro conocimiento es el primero en Chile analizando una asociación entre el SNP rs1805087 y FL/PNS. Además, se realizó un estudio considerando tanto varios modelos genéticos como el sexo de los sujetos. Es importante considerar diferentes modelos genéticos en un estudio de asociación con un marcador bialélico dado que puede que el riesgo se incremente en los portadores de al menos una

copia (modelo dominante) o de dos copias (modelo recesivo) del alelo de riesgo (Salanti y cols., 2009).

Las debilidades que podemos detectar son la falta de otros marcadores del gen para hacer estudios de haplotipo. Estos estudios presentan un mayor poder para detectar asociaciones genotipo-fenotipo en comparación a los estudios de solo un locus. Esto por su capacidad de capturar el efecto de un segmento genómico más amplio dentro de un gen (Liu y cols., 2008). Además, no se puede evaluar la interacción con otros genes en esta misma red metabólica. Como antes se menciona, existen muchos otros genes involucrados en el metabolismo del folato, por este motivo analizar la asociación de solo un gen, en este caso *MTR*, puede no ser suficiente. Por otro lado, como ya se comentó, el tamaño muestral de este estudio es pequeño, resultando un poder estadístico bajo.

## **7. CONCLUSIONES**

Se puede concluir, que en este estudio caso control, tanto para la muestra total como para la muestra separada por sexo, no se encontraron asociaciones significativas en ningún modelo genético entre el SNP rs1805087 y la FL/PNS en Chile. Esto podría explicarse probablemente por el bajo poder estadístico de este análisis y/o por el efecto de la heterogeneidad genética.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asxlar D, Hakkı T (2014) Prevalence of MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms in Turkish patients with nonsyndromic cleft lip and palate. *Gene Ther Mol Biol* 16:115–129.
- Barozet E, Valenzuela CY, Cifuentes L, Verdugo RA, Herrera L y cols (2021). The Chilean socio-ethno-genomic cline. *Biodemography Soc Biol*;66(2):156-171.
- Bhaskar LVKS, Murthy J, Babu V (2011). Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and orofacial clefts. *Arch Oral Biol* 56: 723–737.
- Brandalize AP, Bandinelli E, Borba JB y cols (2007) Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil. *Braz J Med Biol Res* 40:787–791.
- Cáceres G, Salamanca C, Krause BJ, Recabarren AS, Recabarren PA y cols (2020). Nonsyndromic orofacial clefts in Chile: LINE-1 methylation and MTHFR variants. *Epigenomics*;12(20):1783-1791.
- Chiego, DJ (2014). *Principios de histología y embriología bucal con orientación clínica*. 4ta ed. Barcelona: Elsevier.
- Chorna LB, Akopian HR, Makukh HV, Fedoryk IM (2011). Allelic polymorphism of MTHFR, MTR and MTRR genes in patients with cleft lip and/or palate and their mothers. *TSitologija i genetika*, 45(3), 51-56.
- Cordero E, Correa S, Pantoja R (2015). Prevalence of patients with Cleft Lip and Palate who were treated at the San Borja Arriarán Clinical Hospital in Santiago Chile, within the AUGE Healthcare Plan. *Int. J. Odontostomatol* 9:469–473.
- Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH y Murray JC (2011). Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*; 12(3): 167–178.

- Goode EL, Potter JD, Bigler J y Ulrich CM (2004). Methionine synthase D919G polymorphism, folate metabolism, and colorectal adenoma risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 13(1), 157-162.
- Herrera J, Muñoz MA, Parra BE (2016). Factores determinantes del estado nutricional del folato y el rol de la variante genética C677T de la enzima metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR). *Rev. chil nutr vol.43 no.4*.
- Iniesta R, Guinó E y Moreno V (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 333-341.
- Jugessur A, Shi M, Gjessing HK, Lie RT, Wilcox AJ y cols (2009). Genetic determinants of facial clefting: analysis of 357 candidate genes using two national cleft studies from Scandinavia. *PLoS One* ;4(4):e5358
- Lei, W, Xia Y, Wu Y, Fu G y Ren A (2018). Associations Between MTR A2756G, MTRR A66G, and TCN2 C776G Polymorphisms and Risk of Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate: A Meta-Analysis. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 22(8), 465–473.
- Li YN, Gulati S, Baker PJ, Brody LC, Banerjee R, Kruger WD (1996). Cloning, mapping and RNA analysis of the human methionine synthase gene. *Hum Mol Genet*;5(12):1851-8.
- Liu N, Zhang K, Zhao H (2008) Haplotype-association analysis. *Adv Genet*;60:335-405.
- Mandaviya PR, Stolk L y Heil SG (2014). Homocysteine and DNA methylation: A review of animal and human literature. *Mol Genet Metab* 113:243-252.
- McClellan J, King MC (2010) Genetic heterogeneity in human disease. *Cell*;141(2):210-217.
- MINSAL. (2009). Guía Clínica Fisura Labiopalatina. Ministerio de Salud, Chile.

- MINSAL. (2015). Guía Clínica AUGE Fisura Labiopalatina. Ministerio de Salud, Chile.
- Mitchell LE (2002) Cleft Lip and Palate: From Origin to Treatment. Mode of inheritance of oral clefts. Wyszyski DF, editor. Oxford University Press pp. 234–239
- Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC (2009). Cleft lip and palate. *The Lancet*, 374(9703), 1773-1785.
- Mostowska A, Hozyasz KK, Wojcicki P, Dziegielewska M y Jagodzinski PP (2010). Associations of folate and choline metabolism gene polymorphisms with orofacial clefts. *Journal of Medical Genetics*, 47(12), 809-815.
- Murthy J, Gurramkonda VB, Lakkakula, BVKS (2015). Genetic variant in MTRR A66G, but not MTR A2756G, is associated with risk of non-syndromic cleft lip and palate in Indian population. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol* 27:782–785.
- Nazer J, Cifuentes L (2014). Prevalencia al nacimiento de malformaciones congénitas en las maternidades chilenas participantes en el ECLAMC en el período 2001-2010. *Rev. méd Chile* vol.142 no.9 Santiago
- Salanti G, Southam L, Altshuler D y cols (2009) Underlying genetic models of inheritance in established type 2 diabetes associations. *Am J Epidemiol*;170(5):537-545.
- Saleem K, Zaib T, Sun W, Fu S (2019). Assessment of candidate genes and genetic heterogeneity in human non syndromic orofacial clefts specifically non syndromic cleft lip with or without palate. *Heliyon*, 5(12).
- Palone MRT y Vargas VPS (2016). Factores genéticos y fisuras orofaciales no sindrómicas. *Rev. Fac Med* Vol. 64 No. 2: 381-3.

- Ramírez CC, Blanco R, Colombo A, Pardo R, Suazo J (2016). MTHFR c.677C>T is a risk factor for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in Chile. *Oral Diseases* 22, 703–708.
- Rincón RJ, Suazo J, Blanco R (2012) Análisis molecular de Sonic hedgehog (Shh) en la etiología de la fisura labiopalatina no sindrómica en tríos caso-progenitores chilenos. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 24(1): 110-120.
- Sabbagh HJ, Hassan MH, Innes NP, Elkodary HM, Little J y cols (2015). Passive smoking in the etiology of non-syndromic orofacial clefts: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 10(3).
- Salamanca C, González-Hormazábal P, Recabarren AS, Recabarren PA, Pantoja R, Leiva N y cols (2020). Genetic variants in S-adenosyl-methionine synthesis pathway and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in Chile. *Pediatric Research*.
- Salpea P, Russanova VR, Hirai TH, Sourlingas TG, Sekeri-Pataryas KE, Romero R y cols (2012). Postnatal development- and age-related changes in DNA-methylation patterns in the human genome. *Nucleic Acids Res* 40(14):6477–6494.
- Singh S y Singh V (2012). A comprehensive review of the genetic basis of cleft lip and palate. *J Oral Maxillofac Pathol* 16(1):64-72.
- Superintendencia de Salud (2016). Oficio Circular IF N°19. Superintendencia de Salud, Chile.
- Van Mill NH, Bouwland-Both MI, Stolk L, Verbiest MMPJ, Hofman A, Jaddoe VVV y cols (2014). Determinants of maternal pregnancy one-carbon metabolism and newborn human DNA methylation profile. *Reproduction* 148:581–592.
- Wang W, Jiao X-H, Wang X-P, Sun X-Y y Dong C (2016). MTR, MTRR, and MTHFR Gene Polymorphisms and Susceptibility to Nonsyndromic Cleft Lip With or

Without Cleft Palate. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 20(6), 297-303.

Wehby GL, Cassell CH (2010). The impact of orofacial clefts on quality of life and healthcare use and costs. *Oral Diseases* 16, 3–10.

Xu DP, Qu WD, Sun C, Cao RY, Liu DW y cols (2018). A Study on Environmental Factors for Nonsyndromic Cleft Lip and/or Palate. *The Journal of Craniofacial Surgery*, 29(2), 364-367.

## 9. ANEXOS

Anexo 1. Acta de aprobación de protocolo de investigación por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile



Ed-30 de mayo de 2017

### ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

INFORME N°:2017/07

**Acta de Aprobación de Proyecto "NONSYNDROMIC OROFACIAL CLEFTS IN CHILE: THE ROLE OF PARENTAL BIOMARKERS OF FOLATE/ONE-CARBON METABOLISM"**

**1. Miembros del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:**

<b>Dr. Eduardo Fernández</b> Presidente CEC	<b>Dr. Marco Comejo</b> Vicepresidente CEC	<b>Dr. Mauricio Baeza</b> Miembro Permanente CEC
<b>Sr. Roberto La Rosa</b> Miembro Permanente CEC	<b>Dr. Alfredo Molina</b> Miembro Permanente CEC	<b>Sra. Rebeca Galarce</b> Miembro Permanente CEC
<b>Dr. Juan Estay</b> Miembro Permanente CEC	<b>Dra. Viviana Toro</b> Miembro Alterno CEC	<b>Dr. Ignacio Araya</b> Miembro Alterno CEC

**2. Fecha de Aprobación: 30/05/2017**

**Título completo del proyecto: "NONSYNDROMIC OROFACIAL CLEFTS IN CHILE: THE ROLE OF PARENTAL BIOMARKERS OF FOLATE/ONE-CARBON METABOLISM"**

**3. Investigador responsable: Dr. José Suazo**

**4. Institución Patrocinante:** Facultad de Odontología – Universidad de Chile

**5. Documentación Revisada:**

- Proyecto
- Consentimiento Informado (CI)
- Currículo del investigador responsable y coinvestigadores
- Nómina de los coinvestigadores y colaboradores directos de la investigación.

Ed-30 de mayo de 2017

## 6. Fundamentación de la aprobación

Este proyecto es aprobado luego que se realizarán las modificaciones en relación a los siguientes aspectos metodológicos y éticos:

- Especificar el criterio de inclusión para el grupo control.
- Realizar correcciones ortográficas y gramaticales en el Consentimiento Informado

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, ha aprobado el Protocolo del estudio titulado **"NONSYNDROMIC OROFACIAL CLEFTS IN CHILE: THE ROLE OF PARENTAL BIOMARKERS OF FOLATE/ONE-CARBON METABOLISM"**



**Dr. Eduardo Fernández G.**

Presidente **CECÉ**

DE  
ETICA



c/c.: Investigador Principal y Secretaria C.E.C.

## Anexo 2. Aprobación del Comité Institucional de Bioseguridad



Comité Institucional de Bioseguridad  
Administración Conjunta Campus Norte  
FDO N°99

Santiago, 09 de Marzo de 2017.

**C E R T I F I C A D O**

El Comité Institucional de Bioseguridad (CIB) ha analizado el Proyecto de Investigación Fondecyt Regular N°1170805 (2017), titulado "**Nonsyndromic Orofacial Clefts in Chile: The Role of Parental Biomarkers of Folate/One-Carbon Metabolism**". El Investigador Responsable de este proyecto es el Profesor Dr. José Suazo Sanhueza, Académico del Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad Odontología.

Las muestras de sangre y cordón umbilical serán tomadas de sujetos provenientes de los centros de salud mencionados en la metodología del proyecto. Las muestras serán manipuladas para extracción de ADN en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Facultad de Odontología. El personal técnico que manipulará las muestras se encuentra debidamente entrenado en esta área. Además, ellos estarán bajo la supervisión del Dr. Suazo.

El CIB certifica que la Facultad de Odontología cuenta con las facilidades para el manejo y desecho del material biológico a utilizar en el proyecto de acuerdo al Manual de Bioseguridad, Conicyt 2008. Además, el investigador se compromete a velar por el cumplimiento de las normas de bioseguridad, durante el desarrollo del proyecto.

Se extiende el presente certificado a solicitud del Dr. Suazo para ser presentado en el Concurso Fondecyt Regular 2017 (Conicyt).

**Dr. Mario Chiong**  
**Secretario**

**Dra. Carla Lozano M.**  
**Presidenta**

## Anexo 3. Consentimiento informado



Versión 2 16/03/2017

**Consentimiento Informado Para Participación en Proyecto de Investigación**

**Título del Protocolo:** NONSYNDROMIC OROFACIAL CLEFTS IN CHILE: THE ROLE OF PARENTAL BIOMARKERS OF FOLATE/ONE-CARBON METABOLISM

**PATROCINANTE:** Concurso FONDECYT Regular 2017

**Nombre del Investigador principal:** Dr. José Suazo Sanhueza  
**R.U.T.:** 13.033.606-K  
**Institución:** Instituto de Investigación en Ciencias Odontológica, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Sergio Livingstone # 943. Independencia, Santiago.

**Teléfono:** 229781758

**Nombre del Participante:**

.....

Este documento de Consentimiento Informado se aplicará tanto a casos afectados por fisuras orofaciales (labio leporino y/o paladar fisurado), sus progenitores o tutores, y consta de dos partes.

- Información (proporciona información sobre el estudio para usted).
- Formulario de Consentimiento (para firmar si está de acuerdo en participar).
- Formulario de Asentimiento (menores entre 14 y 18 años).

Ud. recibirá una copia completa del Documento de Consentimiento Informado.

Mi nombre es José Suazo Sanhueza y soy profesor de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Estoy realizando una investigación cuyo objetivo es conocer las causas genéticas y ambientales de este problema de nacimiento conocido como fisuras orofaciales, también conocidas como labio leporino y paladar fisurado. En otras palabras, intentamos averiguar cuál es el origen hereditario de esta enfermedad y si hay alguna causa, por ejemplo, de origen nutricional.

Le proporcionaré información y lo invitaré a ser parte de este proyecto. No tiene que decidir hoy si lo hará o no. Antes de tomar su decisión puede hablar acerca de la investigación con cualquier persona de su confianza. Este proceso se conoce como Consentimiento Informado y puede que contenga términos que usted no comprenda, por lo que siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez aclarada todas sus consultas y después que haya comprendido los objetivos de la Investigación y si usted desea participar, se le solicitará que firme este formulario.

Pági



### Justificación de la Investigación

En Chile nacen muchos niños y niñas con problemas en la formación de su labio o paladar conocido como fisuras orofaciales. El problema es que aun no sabemos totalmente porque aparece. Lo que sabemos es que muchas veces se observa en familias, por lo que creemos podría ser una malformación hereditaria y que puede tener que ver con falta de algunos nutrientes. Por eso este estudio buscará factores hereditarios y ambientales que pueden participar en la aparición de este problema de nacimiento.

### Objetivo de la Investigación

Esta investigación tiene por objetivo conocer las causas genéticas y ambientales de este problema de nacimiento conocido como fisuras orofaciales. En otras palabras, averiguar cuál es el origen tanto hereditario como nutricional de esta enfermedad. Específicamente buscaremos si existen cambios en factores genéticos (o genes) que participan en la formación de la cara cuando se está desarrollando el feto durante el embarazo. Además queremos averiguar si la falta de un nutriente (llamado folato) tiene relación con este defecto. Para ello necesitamos una muestra de su material genético o ADN y de su plasma (parte líquida de la sangre), además de una encuesta sobre los alimentos que ha consumido en los últimos meses. Este estudio incluirá a un grupo de al menos 250 personas con este problema y sus madres y padres. Dado que usted o su hija o hijo tiene estas características es que lo estamos invitando a participar.

### Beneficio de la Investigación.

Usted no se beneficiará por participar en esta investigación médica. Sin embargo, la información que se obtendrá será de utilidad para conocer más acerca de este problema de nacimiento. Esto podría, eventualmente en el futuro, beneficiar a muchas familias con esta condición.

### Tipo de Intervención y Procedimiento.

Si Ud. acepta participar en este estudio se les realizará una encuesta para recopilar información básica de contacto (nombre, domicilio, teléfono de contacto) y sobre su familia (como si hay casos de este problema o similares) y se les solicitará, sólo por una vez, una pequeña muestra de 5 ml de sangre (lo que equivale a una cuchara de té). Además a los padres se le hará una encuesta sobre los alimentos y sus porciones que ha consumido en los últimos 6 meses. En el caso de los niños pequeños, se tomará de 2 ml saliva (lo que equivale a menos de una cuchara de té) o de la parte interior de su mejilla (que se toma con una especie de cotonito de algodón). En el caso de su hija o hijo recién nacido, se tomará una muestra de sangre de 5 ml del cordón umbilical. Todos estos procedimientos sólo tomarán algunos minutos.

Desde la sangre y saliva se extraerá el material genético que será analizado en nuestro laboratorio. La muestra de sangre de los recién nacidos y de los padres también se usará para medir componentes llamados folatos.

Sus datos y la muestra de su material genético y sangre serán usadas única y exclusivamente para el propósito de esta investigación y no se harán otros estudios genéticos. Las muestras serán almacenadas por un máximo de 15 años, en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, bajo la responsabilidad del Dr. José Suazo. Si en el futuro son usadas para propósitos diferentes a los de esta investigación médica, se le contactará para solicitar que nos autorice a usarla firmando un nuevo consentimiento.

### Riesgo de la Investigación.

La toma de una muestra de sangre de la vena tiene riesgos mínimos para su salud, tales como dolor en el sitio de punción, hematomas (moretones) y rara vez infección en el sitio de punción. Para evitar este tipo de molestia la persona que extraerá la muestra tiene experiencia en el procedimiento. Por ello los riesgos para usted son mínimos. En el caso de la toma de muestra de sangre de cordón del recién nacido, este es un procedimiento de rutina en cada parto que no

implica riesgo alguno para el niño(a) ni para la madre. En el caso de la muestra de saliva o de la mejilla no genera ningún problema para su salud, no produce dolor ni posibilidad de infección. Por ello los riesgos para usted son mínimos.

#### **Criterios para selección de los participantes en el estudio**

Los criterios de inclusión serán: ser chileno y presentar el diagnóstico de fisuras orofaciales no acompañadas de otras anomalías incluyendo sus padres y madres biológicas.

Los criterios de exclusión serán: chilenos o extranjeros con otras anomalías del desarrollo craneofacial que no correspondan a estas malformaciones o que estén asociadas a síndromes.

#### **Confidencialidad y difusión de datos.**

La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de participantes (datos personales y los resultados de los estudios genéticos y sanguíneos), será mantenida con estricta confidencialidad por el investigador. El nombre y datos personales de usted o su hijo(a) serán codificados para el uso en este estudio y no serán identificados públicamente. Los resultados emanados de este estudio podrán ser publicados en revistas científicas, pero su nombre no será conocido.

#### **Aclaraciones**

- La participación es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la intervención y/o participación.
- Toda información que se extraiga de su ficha clínica será extraída por el profesional quien ha realizado su tratamiento desde que usted o su hija/hijo ingresó a este centro y no por otra persona.
- Si usted decide puede retirarse del estudio cuando lo desee.
- No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- Usted podrá solicitar información actualizada sobre el estudio, al investigador responsable.
- La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de pacientes, será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores.
- Si considera que no existen dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa al documento.

#### **Otros Derechos del participante**

En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el Presidente del Comité Ético Científico, Dr. Eduardo Fernández G., Teléfono: 229781742, Email: cec.fouch@odontologia.uchile.cl, cuya oficina se encuentra ubicada en el tercer piso del Edificio Administrativo de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile en calle Sergio Livingstone 943, Comuna de Independencia.



**Carta de Consentimiento Informado (Mayores de 18 años)**

A través de la presente, declaro y manifiesto, libre y espontáneamente, y en consecuencia, acepto que:

1. He leído y comprendido la información anteriormente entregada y que mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria.
2. He sido informado(a) y comprendo la necesidad y fines de ser atendido.
3. Tengo conocimiento del procedimiento a realizar.
4. Conozco los beneficios de participar en la Investigación
5. El procedimiento no tiene riesgo alguno para mi salud.
6. Además de esta información que he recibido, seré informado(a) en cada momento y al requerimiento de la evolución de mi proceso, de manera verbal y/o escrita si fuera necesaria y al criterio del investigador.
7. Autorizo a usar mi caso para investigación y para ser usado como material audiovisual en clases, protegiendo mi identidad
8. En caso de cualquier duda puede comunicarse con el Dr. José Suazo Sanhueza a los números 29781758 o 56679342 o dirigirse al Presidente del Comité Ético Científico, Dr. Eduardo Fernández G., Teléfono: 229781742, Email: cec.fouch@odontologia.uchile.cl, cuya oficina se encuentra ubicada en el tercer piso del Edificio Administrativo de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile en calle Sergio Livingstone 943, Comuna de Independencia.



Doy mi consentimiento al investigador y al resto de colaboradores, a realizar el procedimiento diagnóstico pertinente.

Nombre del Paciente, Padre Tutor: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**Sección a llenar por el Investigador Principal**

He explicado al Sr(a) \_\_\_\_\_ la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Nombre del Investigador Principal: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_



Nombre del Director del establecimiento donde realiza la investigación o de su representante

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

### Asentimiento (mayores de 14 años y menores de 18 años)

Somos investigadores de la Universidad de Chile y queremos invitarte a participar de un estudio que quiere saber porque se produce el problema de nacimiento que tu y otros niños y niñas presentan y que tiene que ver con la formación de la cara. Para ello te preguntaremos algunos datos a ti o a tu mamá o a tu papá y te pediremos que nos des un poco de tu sangre o de saliva en un tubo o un pequeño raspado de la parte de adentro de tu mejilla. Esto para estudiar el material genético de tus células (conocido como ADN) y saber si hay algún cambio que pueda estar produciendo tu condición.

Sacar la sangre puede producir un poco de dolor, pero la muestra de saliva no produce dolor ni molestias. Estos procedimientos son rápidos y tu familia no tendrá que pagar nada. Si decides participar, tu ayuda nos hará tener información para ayudar en el futuro a otras personas con tu condición.

Ten siempre en cuenta que tu participación es voluntaria, es decir, que nadie puede obligarte a participar. Si decides no aceptar tampoco tendrás problemas con el tratamiento que estas siguiendo en este lugar.

Si no tienes preguntas que hacer o todas han sido respondidas claramente, puedes llenar los datos más abajo y poner tu firma.

Muchas gracias.

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_



### Sección a llenar por el Investigador Principal

He explicado al Sr(a) \_\_\_\_\_ la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Nombre del Investigador Principal: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del Director del establecimiento donde realiza la investigación o de su representante \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_