**Título: Estudios de epidemiologia genética en fenotipos con determinación compleja en el contexto de un programa doctoral en ciencias básicas biomédicas.**

**Autores:** Manuela Herrera-Martínez1 (MD, PhD) , Douglas Fernández-Caraballo2 (MSc), Danay Heredia-Ruiz3 (MSc), Ma Elena de la Torre-Santos4 (MD), Noel Taboada-Lugo5 (MD, MSc), Lay Salazar-Torres6 (MD, MSc), Lorna González- Herrera7 (MD)

1 Laboratorio Epidemiologia Genética, UNIB, UCMVC

2 Laboratorio Stress Oxidativo, UNIB, UCM VC

3 Laboratorio Stress Oxidativo, UNIB, UCM VC

4 Laboratorio Citogenética, CPGM VC

5 Servicio Genética Clínica, CPGM VC

6 Policlínico Universitario Chiqui Gómez Lubian, Santa Clara

7 Departamento Ecocardiografía Prenatal, CPGM VC

Autor para correspondencia. Manuela Herrera Martínez

[manuelahm@infomed.sld.cu](mailto:manuelahm@infomed.sld.cu), teléfono 42-218481

**Tópico o Categoría:** 8.Teaching

**Resumen**

**Objetivo:** Identificar las bases generales y específicas para la enseñanza en los procedimientos de investigación en epidemiologia genética que garantizan la obtención del grado científico en ciencias básicas biomédicas. **Métodos:** Mostramos los resultados de seis proyectos en esta área en el programa doctoral de la Universidad Médica de Villa Clara. Las evidencias de que los fenotipos tienen una base genética fue analizada por la presencia de alta prevalencia en parientes comparado con población general, alto riesgo entre parientes de primer grado de individuos afectados, y modos de segregación del fenotipo. Para evaluar intervención de factores ambientales se hicieron análisis de interacción gene-ambiente con diferentes modelos para encontrar el tipo de interacciones sugeridas. **Resultados:** Los estudios investigativos conducidos hacia temas principales de la epidemiologia genética pueden ser divididos en tres grandes categorías : (1) aquellos cuyo objetivo es describir la distribución de una enfermedad o un determinante a nivel de una población de interés (angioedema hereditario familiar, fallas reproductivas); (2) aquellos que investigan relación entre uno o más potenciales agentes etiológicos o determinantes específicos y la enfermedad de interés (defectos congénitos, lesiones premalignas/cáncer de cérvix, y longevidad) y (3) aquellos cuyo objetivo es evaluar la efectividad de una intervención aplicada en grupos de individuos o en población general (hipoplasia tímica fetal).**Conclusiones:** Se identificaron temáticas teóricas y técnicas de estudio y metodologías apropiadas para el abordaje de proyectos de investigación en epidemiologia genética, que pueden considerarse las bases generales y específicas en la enseñanza potgraduada para la obtención del doctorado en ciencias básicas biomédicas en nuestra Universidad, que podrían resultar útiles a otras Universidades de similares características y contextos.

**Palabras claves:** epidemiologia genética, fenotipo complejo, trastornos genéticos complejos, ciencias básicas biomédicas, programa doctoral, interacciones gene - ambiente.

**Artículo:**

**Introducción:** La epidemiologia Genética fue definida por Morton en 1982 como una ciencia que se relaciona con la etiología, distribución y control de enfermedades en grupos de parientes y las causas hereditarias de las enfermedades en la población. Este campo es un área emergente donde el número de publicaciones científicas va en ascenso. En el momento actual una porción importante de la variación de la expresión génica puede ser explicada tanto por variación genética local (cis) y distal (trans). Numerosos progresos se han realizado en cuanto a la expresión de loci de trastornos cuantitativos que actúan en cis (cis-eQTL), pero ha sido más difícil identificar los que se expresan y actúan en trans (trans-eQTL). No obstante hay importantes avances en la localización de genes candidatos en trans y sus target. Así en 2019 se encontró evidencia de asociación a través del Proyecto de Expresión Genotípica en tejidos, de 2,356 genes y sus parejas de genes target con actividad trans, con alta puntuación de mapeabilidad. Interesantemente estos genes están más significativamente asociados con los trastornos complejos y enfermedades seleccionados, que con el conjunto de genes o target reconocidos, lo que evidencia la complejidad de la determinación genética de estos trastornos y sus características hereditarias en las poblaciones, lo que justifica el interés del área de investigación de la línea del programa doctoral 1

**Objetivo:** Identificar las bases generales y específicas para la enseñanza en relación a los procedimientos de investigación en epidemiologia genética que garantizan la obtención del grado científico en ciencias básicas biomédicas. **Material y Métodos:** En este trabajo mostramos los resultados de seis proyectos de investigación en esta área del programa doctoral de la Universidad Medica de Villa Clara.

**Muestra**

Para llevar a cabo los 6 proyectos de investigación de la línea de epidemiologia genética del programa doctoral han sido evaluados hasta el presente los siguientes individuos:

1-Angioedema hereditario familiar (AEH): 54 enfermos (7 familias)

2-Fallas reproductivas: 364 individuos con diferentes causas y 22 aneuploidias de novo (no heredadas) en fallas reproductivas consecutivas.

3-Defectos congénitos probablemente asociados a deficiencia materna de folato Casos (Defectos tubo neural DTN): 36, controles: 72

4- Lesiones premalignas y malignas de cérvix: Casos: Lesión intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG): 48, Lesión intraepitelial de alto grado (LIEAG):45, Carcinoma epidermoide: 51, control:30

5- Longevos: 33 (nonagenarios y centenarios), 33 hermanos longevos y 33 controles intrafamiliares (cónyuges u otro conviviente no consanguíneo)

6-Hipoplasia tímica fetal: 221gestantes de alto riesgo genético.

Para mostrar las evidencias de que los seis fenotipos tienen una base genética fue analizada la presencia de alta prevalencia en parientes comparado con población general, alto riesgo entre parientes de primer grado de individuos afectados, y modos de segregación del fenotipo, variantes cromosómicas y biomarcadores ecográficos. Para encontrar evidencias de la intervención de factores ambientales se aplicaron encuestas con preguntas sobre factores de riesgos específicos y se hicieron análisis de interacción gene-ambiente con diferentes modelos para encontrar el tipo de interacciones sugeridas.

El riesgo de los diferentes trastornos que el grupo investiga en el programa de formación doctoral en lo fundamental está concentrado en influencias genéticas, ambientales o en la presentación simultánea.

En cada desorden, el riesgo ambiental investigado puede variar según la naturaleza del defecto. En el caso de los riesgos genéticos siempre evaluamos los antecedentes genéticos positivos en parientes de primer o segundo grado (agregación familiar) y la consanguinidad.

La evaluación general de las interacciones genéticas y ambientales fue considerada para el caso general en que al menos estaba presente un factor de riesgo genético y un factor de riesgo ambiental con independencia de cuál riesgo fuera.

El riesgo para factores ambientales específicos, factores de riesgo genético específicos y riesgo conjunto para diferentes combinaciones de ellos, fue evaluado usando el procedimiento general que se muestra en la próxima tabla. En el artículo se muestran solo algunas de estos análisis.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Exposición ambiental | Susceptibilidad genética | casos | controles | Razón de posibilidades |
| - | - | a | b | 1,0 |
| - | + | c | d | RPg=bc/ad |
| + | - | e | f | RPa=be/af |
| + | + | g | h | RPga=bg/ah |

Por otro parte, se usaron también las fórmulas siguientes a fin de explorar dos diferentes modelos de interacción G-A:

Interacción bajo modelo aditivo = RPga = RPg+RPa

Interacción bajo modelo multiplicativo = RPga = RPgxRPe

La aplicación de estas fórmulas permitió establecer el riesgo de la interacción esperado y después compararlo con el observado.

Los análisis estadísticos para significación de la asociación se realizaron mediante la prueba de ji cuadrado, obteniendo el Odd ratio, y calculando la razón de riesgos y su intervalo de confianza al 95 por ciento, se consideraron diferencias significativas para el 5 y el 1 %.

**Resultados:**

Desde el punto de vista del proceso de enseñanza aprendizaje de técnicas de investigación, en un programa para postgraduados en investigación científica, se muestran de forma resumida diferentes aspectos que se han tenido en cuenta en el entrenamiento de los profesionales en la línea de investigación de epidemiologia genética del programa doctoral en ciencias básicas biomédicas de la UCM VC.

Las investigaciones conducidas en temas cuya línea principal es la epidemiologia genética pueden ser dividas en tres grandes categorías.

Los resultados serán mostrados divididos en esas tres partes:

**Áreas de estudio de la epidemiologia Genética y casos estudiados en el programa doctoral:**

1) Área cuyo objetivo es describir la distribución de una enfermedad (fenotipo) o un determinante (factor de riesgo) a nivel de una población de interés

En este tópico un aspecto al que se le prestó sumo interés fue el referente al establecimiento de las prevalencias.

Se partió de la base conceptual y práctica que para hacer un estudio de prevalencia de un desorden genético, o de determinado fenotipo, se deben tener en cuenta, las características clínicas de la enfermedad, los criterios del diagnóstico, si son o no de certeza, si son de base clínica o de laboratorio, su modo de herencia, edad de comienzo de los síntomas, etapa de la vida en que puede manifestarse, si están o no establecidas las prevalencias de base, entre otros.

También, se debe hacer hincapié en que el interés del estudio de prevalencia puede estar dirigido a encontrar la prevalencia, no del desorden genético, o no solo de él, sino de sus determinantes genéticos o ambientales. Este tipo de estudio también se exploró en los proyectos del programa doctoral.

**Caso de estudio 1: Angioedema hereditario** Familiar (AEH)

Situación de estudio: Establecer la prevalencia de AEH en Villa Clara.

Estrategia: Familiar con base Poblacional

*Diseño: Prevalencia en población y familias de riesgo.*

Entrenamiento Practico para estudiantes postgraduados:El método usado en este caso fue establecer primero un Registro clínico, genético e inmuno epidemiológico de familias en riesgo de Angioedema hereditario; para ello hubo que establecer los criterios para poner en funcionamiento el Registro, pues en este caso se trataba de encontrar por primera vez la prevalencia en el territorio.

El Registro de las 7 grandes familias afectadas, con un total de 54 pacientes, de ellos 49 vivos y 5 fallecidos (mortalidad de 9,3%), estableció una prevalencia de 1 cada 15 370 individuos de la provincia.

Con los estudios inmunológicos se pudo establecer la frecuencia relativa de AEH tipo I, por deficiencia cuantitativa de C1 inhibidor (57%), y tipo II, (deficiencia cualitativa) con 43 %.

En las familias afectadas hubo una media de 8 enfermos por familia, estableciéndose otros muchos datos de la caracterización de estas genealogías, de interés clínico, genético y epidemiológico sobre este trastorno, que permitieron la toma de decisiones científicas al grupo de investigación, entre ellos la continuación del proyecto con un actual estudio para evaluar la posible existencia o no de un efecto fundador.

Esto permitió al programa doctoral hacer una incursión en el área de la Genética Poblacional humana, que es una de las aristas de la investigación en epidemiologia genética, derivada de los estudios del área 1 de la epidemiologia genética.

**Caso de estudio 2.** Fallas reproductivas

Situación de estudio 1: Determinantes ambientales en fallas reproductivas.

*Estrategia: Poblacional.*

Diseño: Diseño de solo casos*, anidado en una cohorte longitudinal.*

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Para el caso de estudio 2. Se establecieron dos tipos de estudio, uno dirigido a encontrar prevalencia de potenciales determinantes ambientales de aneuploidias, en un estudio realizado entre 22 pacientes con aneuploidias de nuevo ocurridas en fallas reproductivas consecutivas ocurridas en 6 años. Resultaron los de mayor prevalencia la ingestión excesiva de café (81,8%), la exposición a químicos (63,6%), el uso de medicamentos (40.9%), Alcohol (22,1%), consumo de cigarrillos (18.2%) y en menor medida radiaciones ionizantes, e infecciones virales, entre otras.

Situación de estudio 2.Fallas reproductivas

*Diseño: Estudio con diseño muestral en individuos no relacionados*

*Estrategia: Poblacional*

Diseño 2: Posibles determinantes genéticos en fallas reproductivas

El segundo estudio enfrenta la situación de hallar también la prevalencia de determinantes, pero en este caso de tipo genético, entre las fallas reproductivas, los resultados encontrados de forma resumida se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Prevalencia de aberraciones cromosómicas y polimorfismos entre fallas reproductivas de diferente naturaleza.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Casos | AC | PPE | Polimorp | PPE | 2 Polimorp | AC+Polimorp |
| Abortos espontáneos recurrentes | 170 | 3 | 1.8 | 24 | 14.1 | 1 | 0 |
| Hijos previos no vivos con malformaciones | 76 | 0 | 0 | 13 | 17.1 | 1 | 0 |
| Unidos 1 y 2 | 37 | 2 | 5.4 | 5 | 13.5 | 0 | 0 |
| Infertilidad masculina | 38 | 5 | 13.2 | 5 | 13.2 | 2 | 0 |
| Infertilidad masculina | 43 | 13 | 30.2 | 2 | 4.6 | 1 | 1 |
| Total | 364 | 23 | 6.3 | 49 | 13.5 | 5 | 1 |

AC: Aberración cromosómica

PPE: Proporción de positividad del estudio

**Caso de estudio 3:** Defectos Congénitos al nacer con probable deficiencia materna de folato (Se ejemplifica con los defectos del tubo neural, DTN)

Situacion de estudio 1:

Diseño: Determinación de Prevalencia ajustada al nacimiento.

Estrategia: Poblacional

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Este estudio, incursionó en el entrenamiento práctico para obtener la prevalencia ajustada al nacimiento, pues otro aspecto que requiere insistir en el proceso de enseñanza a los postgraduados de esta área, es la situación particular del cálculo de la prevalencia de los defectos congénitos. Esto se debe a que cuando el desorden tiene diagnóstico prenatal, debe utilizarse para el cálculo el criterio de prevalencia ajustada. En dicha prevalencia deben ser incluidos en el numerador del cociente habitual, los casos en los cuales fue posible el diagnóstico prenatal positivo, y por tanto son productos no nacidos, donde se realizó la interrupción de la gestación por causa genética. Por razones obvias no deben solo incluirse los productos nacidos vivos, ya que esto implicaría una falsificación de las prevalencias reales que se han presentado a la concepción, en un lugar y tiempo determinado.

Situación de estudio 2

Diseño: Determinación de conglomerados de alta prevalencia

Estrategia: Poblacional

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Además el tema de la prevalencia de los defectos al nacer permitió realizar entrenamientos para la determinación de conglomerados espaciales puros, temporales puros y espacio temporales, a través del Método de Kulldorff para encontrar conglomerados de alta prevalencia, técnica asociada a la estadística espacial, muy útil en epidemiologia genética

Del resultado de la aplicación de la misma en Villa Clara se evidenció un conglomerado temporal de DTN en 2013 y conglomerados espaciales en los municipios de Sagua la Grande, Ranchuelo y Placetas y un conglomerado espacio-temporal ese año para los municipios de Placetas y Remedios (de acuerdo al análisis de tendencia histórica, lo esperado para ese año era un caso y se produjeron siete, para un índice observado/esperado de 7, RR=5,92 (p= 0,048). En la Fig 1 se muestra el conglomerado espacio temporal del año 2013.



**2)** Área que investiga la relación entre uno o más potenciales agentes etiológicos o determinantes específicos y la enfermedad de interés

En el doctorado se incluyeron proyectos donde los fenotipos de interés eran: defectos congénitos, lesiones pre malignas/cáncer de cérvix, y longevidad.

Con dichos temas de investigación se hicieron varias sesiones colectivas en el grupo de investigación para consolidar tópicos relacionados a tipos de diseños de las investigaciones de epidemiologia genética de causalidad, estudios de asociación de base poblacional y de base familiar, estudios de asociación univariados, o multivariados tanto de factores genéticos como ambientales, estudios de interacción gen-gen o de interacción gen ambiente, entre otros.

A continuación se resumen los principales resultados ordenando según el caso de estudio, de que se trate.

**Casos de estudio 1:** Defectos congénitos al nacer con probable deficiencia materna de folato. Caso mostrado: DTN (Defectos tubo neural)

*Diseño: Estudio de Asociación con diseño caso control anidado a una cohorte prospectiva* longitudinal.

*Estrategia: Poblacional*

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Con este proyecto doctoral los objetivos a consolidar hacia el área de estudio 2 de la epidemiologia genética estuvieron dirigidos al cálculo de la razón de riesgo, en un estudio que abarcó todos los defectos congénitos que se han considerado asociados a la deficiencia materna de folato, y se evaluaron un número importante de factores de riesgo genéticos y ambientales, con suficiente consistencia y credibilidad biológica. En el artículo solo estamos comunicando los hallazgos de riesgos que resultaron significativamente asociados a la aparición de DTN en las gestantes incluidas, a modo de ejemplo.

Entre ellos estuvieron: Antecedente genético positivo RR=6.7 (2,14-21,01) p=.001, Gestante con diabetes mellitus tipo 2, RR=28.448(1.66-43.12) p =.010,gestante fumadora RR= 8.85 (2.26- 34.7), p=.001, Hipertermia al inicio de la gestación RR= 23.67 (2.86-195.8),p=.000, Antecedentes genéticos y ambientales simultáneos RR= 19.78 (4.151-94.28), p=.000.

Esta última sirvió de base para ensayar durante los entrenamientos prácticos, los diferentes modelos de interacción G-A que se han descrito, y de todos ellas la que resultó tener una interacción G-E significativa, fue la que se probó bajo los requisitos de un modelo aditivo.

**Case de estudio 2**: Lesiones premalignas y cáncer de cérvix en mujeres con infección previa por Virus del papiloma humano (VPH).

Ejemplos mostrados: Lesiones intraepiteliales de Bajo Grado (LIEBG), Lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEAG), y carcinoma epidermoide.

Estrategia: Poblacional

Diseño: Estudio de Asociación con diseño Caso –control en individuos no relacionados

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Con este proyecto, en la preparación científica se focalizaron, aspectos del área que estudia y relaciona los posibles nexos entre determinantes de salud y enfermedad. En este caso, la peculiaridad del proceso estudiado, sobre el que se insistió es que esos determinantes, se evaluaron en diferentes estadios de la enfermedad, usando como caso de estudio el cáncer, modelo de enfermedad, para mostrar la existencia de enfermedades de múltiples pasos.

Ello permitió afianzar los conceptos relativos a la epidemiologia genética como área del conocimiento y a la vez metodología para la investigación científica, que puede aportar interesantes evidencias de que en muchas, sino en todas las enfermedades humanas, y sobre todo en los trastornos complejos, en la medida que el proceso de la enfermedad avanza por sus estadios clínicos, es de esperar la existencia de una mayor influencia o fortaleza de la asociación con determinantes ambientales y genéticos.

Algunos resultados que demuestran lo antes comentado aparecen a modo de resumen en la tabla 2, solo se muestran aquellos determinantes con asociaciones significativas, a todos o a algunos de los estadios de la enfermedad.

Tabla 2. Factores de riesgo significativos en mujeres con lesiones premalignas o cáncer de cérvix con infección previa por VPH

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Factores de riesgo | Tipo de Lesión de cérvix | | | | | |
|  | Razón de riesgo LIEBG vs Control | | Razón de riesgo LIEAG vs Control | | Razón de Riesgo Carcinoma epiderm vs Control | |
| Antecedente CCU + | 1.60(1.21-2.12) | \* | 1.73 (1.31 -2.30) | \*\* | 1.66 (1.29 -2.14) | \*\* |
| Antecedente + otro cáncer ginecológico | 1.41 (0.99 -1.98) | ns | 1.54 (1.12 -2.13) | \* | 1.32 (0.92 -1.90) | ns |
| Fumar cigarrillos | 1.70 (1.20- 2.40) | \*\* | 1.66 (1.16- 2.36) | \*\* | 3.51 (1.91- 6.45) | \*\* |
| DIU | 1.93 (1.12 -3.31) | \*\* | 1.88 (1.09 -3.28) | \*\* | 2.34 (1.25 -4.40) | \*\* |
| 1ra R sexual<18años | 2.09 (1.30 -3.35) | \*\* | 1.75 (1.15- 2.67) | \*\* | 1.75 (1.18 -2.60) | \*\* |
| >3 comp sexuales diferentes | 1.78 (1.23 -2.58) | \*\* | 1.62 (1.13- 2.33) | \* | 1.43 (1.04 -1.97) | \* |
| Relación sexual no protegida | 0.89 (0.62 -1.29) | ns | 1.07 (0.74-1.55) | ns | 1.63 (1.05- 2.52) | \* |
| Tóxicos ambientales | 0.98 (0.68 -1.42) | ns | 1.14 (0.79 -1.64) | ns | 1.44 (1.03 -2.05) | \* |
| Genético +Ambiental | 1.60 (1.21- 2.12) | \* | 1.63 (1.20 -2.19) | \* | 1.61 (1.24 -2.08) | \* |
| Total | 48 |  | 45 |  | 51 |  |

Control: 30

**Caso de estudio 3**: Longevidad.

*Estrategia: Familiar*

Diseño: Estudio de asociación en diseño caso de estudio –hermano enfermo.

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. Este último caso de estudio constituye el tercer proyecto doctoral que aborda las temáticas del área de estudio 2 de la epidemiologia genética.

Esta es la única investigación que en esta versión del doctorado, se basa en un diseño con estrategia familiar.

Estos diseños tienen mucha importancia en la actualidad, para encontrar asociaciones significativas, y requieren primero encontrar familias informativas, para el fenotipo que va a ser estudiado.

Por lo tanto el proyecto resultó la fuente para afianzar aspectos relacionados con las estrategias de investigación en Genética dirigidas a encontrar familias con importante agregación familiar.

En esta investigación el caso y el control son personas que conviven juntas, pero no son parientes consanguíneos (llamados convivientes). Siempre que estaba vivo el cónyuge, este individuo fue el control empleado, de lo contrario se utilizaron nueras o yernos, lo que dio homogeneidad al estudio.

El diseño familiar implica que se estudian personas dentro de la familia, o sea con una relación de parentesco estrecha, en este caso de primer grado, pues se estudiaron hermano-hermano, por tanto el diseño básico fue un diseño de caso- hermano afectado, con el cual se introdujo la posibilidad de consolidar estos diseños en el colectivo científico.

Los estudios de casos - hermanos enfermos y otras combinaciones de parientes enfermos, han estado apareciendo en la literatura del tema. Con este proyecto se realizó una variación de dichos diseños empleando además un control intrafamiliar no consanguíneo, aprovechando para evaluar técnicas de epidemiologia genética que permiten valorar la especificidad de la similitud en cuanto a influencias ambientales, por haber convivido al menos 5 años consecutivos con el caso, sin tener dotación genética del mismo origen, lo que aporta peculiaridades al análisis genético epidemiológico que debieron ser consolidadas.

Resumiendo se trata de un estudio de caso de estudio –hermano enfermo –control intrafamiliar no consanguíneo

Por otro lado, otra singularidad del proyecto, es que no se trata de una enfermedad sino de un fenotipo, que además es ventajoso, por tanto, en lugar de los resultados de los estudios de asociación mostrarse como razón de riesgo, estudian razón de ventajas y los análisis y el diseño de las tablas de contingencia debieron ser adaptadas a estos conceptos.

Entre los hallazgos con significación de interés comentamos el antecedente genético de longevidad en parientes de primer grado, (Razón de ventajas=7.11, IC=1.07-47.1,p=0,00154), y la evaluación de factores genéticos y ventajas ambientales de forma conjunta (Razón de ventajas=2.72, IC=1.11-6,65, p=0,006), lo cual resultó significativo cuando se exploraron modelos de interacción G\_E, aditivos. La posibilidad de consolidar prácticas y saberes, en la valoración de distintos modelos teóricos de interacción genética ambiental, fue un resultado de este proyecto, para el colectivo de jóvenes investigadores.

3) Áreas que evalúan formalmente la efectividad de las intervenciones aplicadas a individuos o grupos de individuos en la población general, tanto ya aplicados como potencialmente aplicables.

**Caso de estudio 1**: Hipoplasia del timo fetal.E*stratega: Poblacional*

*Diseño: diseño de solo caso, anidado a una cohorte longitudinal.*

Entrenamiento Práctico para estudiantes postgraduados. mediante este proyecto, a través de las imágenes ecográficas del timo en la vista de cuatro vasos en la llamada caja tímica, en mediastino superior, se logró incursionar en esta área de estudio que permite realizar investigaciones encaminadas al estudio de la efectividad de programas de diagnóstico prenatal, tamizajes neonatales, aplicación de nuevas tecnologías entre otros. Con este proyecto en la línea de investigación se logró por parte de los aspirantes reforzar las metodologías de investigación encaminadas a evaluar efectividad y eficacia de tecnologías y programas de salud en genética.

Algunos resultados del proyecto dirigido a evaluar la efectividad de la introducción de la evaluación sonográfica en el segundo trimestre de la gestación de la hipoplasia del timo fetal, que se ha relacionado con otros importantes defectos genéticos y obstétricos, se comentan en el próximo párrafo.

La PPE (Proporción de positividad del estudio), resultó que los factores de riesgo que fueron motivo de consulta más frecuentes de los casos con hallazgo de un índice timo tórax menor o igual a 0.30, fueron: imagen de sospecha de cardiopatía con 5 fetos con hipoplasia de la glándula (33.3% del total de 16 casos con hipoplasia), seguido del hipotiroidismo materno con 4 casos (26.6% del total de fetos con hipoplasia tímica). Cuando se analiza la frecuencia de la hipoplasia tímica según el factor de riesgo por el cual se realizó el estudio, los factores de riesgo con PPE más elevada fueron la Traslucencia Nucal (TN) aumentada (PPE 33.3 %), imagen de sospecha de cardiopatías en el US de pesquisaje (PPE 20.0%), Lupus eritematoso sistémico (LES) (PPE 16.7%) e hipotiroidismo materno (PPE 9.1%). Solo la PPE del factor de riesgo imagen de sospecha de cardiopatías; se diferenció significativamente de la PPE de la muestra general del estudio (p=0,0472).

La capacidad predictiva para diagnóstico de las cardiopatías conotroncales fue de 80 %, que tuvieron hipoplasia de la glándula, la misma proporción se encontró en las cromosomopatías (2 trisomía 18, una trisomía 21, y 1 trisomía 13).

Los doctorantes también pudieron recibir entrenamiento, en otros parámetros de eficacia, como sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, que no desglosamos en esta comunicación, pero que también fueron trabajados en los entrenamientos colectivos.

**Discusión**

En el artículo, analizamos los aspectos concernientes a las técnicas y metodologías de la epidemiologia genética, que nosotros consideramos deben ser empleadas en proyectos de investigación en nuestro contexto, para evaluar de forma más adecuada y factible, el comportamiento de diferentes fenotipos complejos en respuesta a perturbaciones genéticas y ambientales. Como evidencia de la experiencia alcanzada en la dirección de tesis en esta línea del programa doctoral de la Universidad médica de Villa Clara, mostramos algunos resultados alcanzados con la aplicación de esas metodologías en seis fenotipos complejos, que se estudian en igual número de proyectos.

**En los proyectos que tributan al Área 1, se enfatiza que la temática central de enseñanza es el aspecto referido a la determinación de la prevalencia de trastornos genéticos o de sus determinantes.**

Al comentar los resultados obtenidos, y discutir coincidencias y singularidades, pretendemos que los investigadores, analicen certezas y validen alternativas, ante las metodologías de estudio empleadas por el grupo de investigación, lo que también constituye parte de su aprendizaje.

En el caso del angioedema hereditario, la frecuencia de la enfermedad no está establecida en Villa Clara2.

A pesar de que no se dispone de cifras exactas sobre la incidencia de AEH, se calcula que hay una persona afectada en un margen de 10.000 a 50.000 individuos en todo el mundo, aunque el número de casos desconocidos es muy superior. Nuestra incidencia de 1 cada 15 370 es alta3.

Un determinante de salud encontrado fue la mortalidad por la enfermedad que se ha descrito oscila entre 15 y 50% .Nuestra mortalidad de 9,3 % es baja, aunque puede existir subvaloración.

En el caso de las fallas reproductivas, obtuvimos la frecuencia de dotaciones cromosómicas anormales en parejas con abortos espontáneos a repetición, hijos previos malformados fallecidos, infertilidad masculina y femenina, aspectos todos que son un interés de las familias y de la salud pública. Cabe señalar importantes complejidades en los estudios de prevalencia en esta área, ya que en realidad la fertilidad humana reconocida, es un iceberg, respecto a las fecundaciones que realmente comienzan. Ello resultó en la necesidad de la aplicación y enseñanza de diversas técnicas de estudio y abordaje del problema científico.

En ese mismo proyecto fue posible obtener la frecuencia de diferentes polimorfismos en cada una de las causas de fallas reproductivas estudiadas, como potenciales y controvertidos determinantes genéticos del problema de salud, en relación con posibles efectos de posición de genes y expresión diferencial de áreas específicas de cromatina.

Por otra parte, obtuvimos la frecuencia de potenciales determinantes ambientales, considerados posibles agentes aneugenicos para aneuploidias de nuevo (no heredadas), evaluados mediante la exposición previa y durante el embarazo temprano; como alcohol, sustancias químicas, infecciones virales, entre otras.

En el otro proyecto, referido a defectos congénitos, donde algunas de sus tareas de investigación, tributan a esta área de la epidemiologia genética, nosotros estudiamos aspectos relacionados con prevalencia, en específico, la búsqueda de conglomerados de alta prevalencia, y se determinaron conglomerados temporo espaciales de los mismos. Como una manera de abordar los estudios de prevalencia cuando los diseños, como en este caso son de base poblacional. En estos estudios es importante la localización espacial precisa de los casos, así como las estadísticas vitales, que deben ser recogidas en función de la unidad espacial que va a emplearse.

La variación temporal de los defectos congénitos puede indicar la acción potencial de agentes ambientales como el clima, factores dietéticos o infecciosos. La variación espacial puede indicar riesgos debidos a contaminación ambiental diversa entre otras.

Resulta oportuno señalar, que el municipio villaclareño de Sagua la Grande tiene en su territorio importantes industrias químicas: como la electroquímica, donde se obtiene cloro y sosa cáustica, entre otras. Una investigación particular dirigida hacia ese conglomerado espacial deriva como un aporte de las técnicas de estudio aplicadas.

**En los proyectos que tributan al Área 2 de la epidemiologia genética;** en los cuales el principal tópico de investigación es la búsqueda de potenciales factores causales o etiológicos en enfermedades o trastornos complejos, la línea del programa doctoral ha trabajado en un entrenamiento de sus investigadores dirigido al empleo de diferentes técnicas que permiten mostrar, si es posible, asociaciones entre uno o más determinantes etiológicos y el fenotipo de interés.

En los proyectos que corresponden a esta área dentro del doctorado, donde los trastornos complejos investigados son tres: las lesiones premalignas y cáncer cervico uterino, defectos congénitos con alta asociación a la deficiencia materna de folatos y la longevidad humana, en un primer momento se realizaron los registros de familias o los surveys de pacientes y controles.

Respecto a esta acción de investigación, son importantes, el cumplimiento de las acciones encaminadas a evitar sesgos de información, que son fuente frecuente de errores en estos estudios y del reporte de falsas asociaciones.

Al recopilar los pedigree familiares es importante que se reconozcan la totalidad de los parientes tanto por línea materna como paterna, del probando o caso índice, a la vez que se insistió en establecer cuáles serían los criterios diagnósticos a considerar, pues resulta importante tener en cuenta la certeza diagnóstica, no solo de los probandos, sino de los parientes que se registrarán como enfermos, y como sanos, al igual que la edad de comienzo del desorden, que evite tomar en cuenta individuos donde el desorden aun no pueda haberse manifestado, entre otras fuentes de errores.

Se ha reportado que cuando la historia familiar es tomada del simple conteo de la enfermedad entre los miembros de la familia, frecuentemente se obtienen errores en la estimación del riesgo para una persona, porque además de lo antes referido, hay que tener en cuenta los diferentes componentes de la varianzas en la estimación del riesgo de recurrencia, que puede estar inducido por la cantidad de correlación dentro de la familia, la cual puede ser inducida por el acumulado de genes que en ella se segregan, pero también, por el acumulado de factores ambientales, que pueden estar compartiendo.

Dilucidar este último aspecto, es lo que se denomina confirmación de la existencia de que la agregación familiar aparente, es una agregación familiar verdadera, o sea de causa genética, y para ello, es necesario hacer también encuestas de factores ambientales, que indaguen minuciosamente y de forma exhaustiva, las exposiciones ambientales a las que han estado sometidos casos y controles. Ello motivó, que en el programa de estudio doctoral, se insistiera en la calidad de la elaboración de las encuestas elaboradas y de los métodos para ser aplicadas.

La confección de árboles genealógicos adecuados, que no tengan errores como los llamados truncados vertical u horizontal, garantiza recoger la totalidad de los familiares y la totalidad de los probables enfermos, y permite una estimación correcta del riesgo de recurrencia familiar que es la probabilidad que una persona pueda tener una enfermedad, dado el reporte de una historia familiar. Ello permite cálculos adecuados de la razón de riesgos por antecedentes genéticos positivos.

La aplicación de diferentes métodos de la historia familiar en la literatura, muestra que el riesgo de recurrencia se incrementa desde cuando hay al menos un pariente afectado, respecto a cuándo hay al menos tres parientes afectados 4. Todos estas reglas se tuvieron en cuenta, en el procesamiento de los datos genealógicos, y los análisis de los resultados que en el presente, se están llevando a cabo en los temas de investigación de la Línea científica.

Al considerar que la influencia de los determinantes genéticos y ambientales en los trastornos complejos es generalmente simultánea, estas consideraciones son válidas para hacer también un cuidadoso manejo de las exposiciones ambientales a considerar, así como de la interacción entre factores genéticos y ambientales (G-A), los cuales deben evaluarse bajo diversas hipótesis o modelos que se han establecido.

La etiología de muchas enfermedades complejas involucra tanto exposiciones ambientales y predisposición genética heredada, así como interacciones entre ellas. Los estudios de interacción gen –ambiente, proveen significados para entender las interacciones entre la variación genética y la exposición ambiental, que subyace en el riesgo de una enfermedad, y se han identificado nuevos loci que sugieren evidencias de interacción G-A 5. Variantes genéticas comunes han sido asociadas con trastornos genéticos complejos como el cáncer, entre ellos el cérvico uterino, los defectos congénitos al nacer y en la longevidad, las que aunque no se reportan en este artículo, son motivo de investigación y análisis en los proyectos que se conducen en la línea científica.

Del mismo modo estos análisis pueden extenderse no solo a la asociación de riesgos, sino a la asociación de ventajas, como hemos hecho en el grupo de investigación con el proyecto de longevidad.

La heredabilidad de los trastornos complejos, otra técnica de investigación de epidemiologia genética, en frecuentemente atribuida a múltiples interacciones genéticas. En ese sentido se han evaluado efectos de las interacciones gen-gen (G-G), y se prueban modelos no lineales, no aditivos, como es la epistasis. En años recientes, redes científicas han incrementado las aplicaciones de los modelos de epistasis para caracterizar las relaciones complejas entre un gran número de variaciones genéticas y los fenotipos de salida. 6

Además los estudios de asociación caso-control pueden ayudar a comprender los mecanismos patofisiológicos de las enfermedades complejas. Se ha considerado que los estudios que incluyen en sus análisis los estadios de las enfermedades de interés dentro de los grupos de casos obtienen mayores precisiones, y que las frecuencias de riesgos generalmente varían para variables genéticas y ambientales7. Estas evaluaciones resultan de utilidad en el proyecto que estudia la progresión de los estadios clínicos en el cáncer cérvico uterino, así como en los defectos congénitos, como se desprende de los resultados mostrados.

**Los proyectos que tributan al Área 3, dedicada a las investigaciones que formalmente evalúan la efectividad de las intervenciones de salud en genética**, pueden ser aplicadas a individuos o a grupos de individuos en la población general. En la práctica podrían estar aplicados o ser potencialmente aplicables en breve plazo, y en esta última situación lo que se realiza en la investigación es una evaluación hipotética, de su posible efectividad en caso de aplicarse masivamente, o bajo determinados supuestos, que controla experimentalmente el investigador, varias de las cuales fueron ensayadas como parte del correspondiente aprendizaje dentro del programa.

Nuestro grupo de investigación había incursionado previamente en la evaluación de la efectividad de cinco programas de diagnóstico prenatal y seis de tamisaje neonatal, por lo que se disponía de una experiencia previa que se puso a disposición del programa.

En el programa doctoral, se evaluó como caso de estudio la efectividad de la visualización ecográfica durante el segundo trimestre de la gestación del timo fetal en gestantes de riesgo, que acuden a los servicios de ecografía de referencia del Centro provincial de Genética. El objetivo fue evaluar la factibilidad de realizar dichas mediciones, en condiciones concretas, y su posible introducción para diagnóstico de hipoplasia tímica en nuestro contexto, valorando diferentes esquemas de cobertura y referencia.

El hallazgo de 16 casos de hipoplasia tímica (PPE 7,21%) y el resultado de que la evaluación del timo fetal fue posible realizarla en todos los casos estudiados, así como la detección de anomalías cromosómicas y cardiopatías troncoconales entre otros defectos, en esta serie, indican el interés de la posible introducción de este marcador, sino masivamente, al menos a gestantes de riesgo.

El motivo de consulta por imagen patológica de sospecha observada en el pesquisaje sonográfico en el área de salud, que resultó frecuente, evidencia el avance de dicho programa en nuestro medio, siendo en la práctica diaria el motivo de consulta que permite realizar el mayor número de diagnósticos de cardiopatías en la consulta de alto riesgo provincial, lo cual coincide con la literatura 8.

Las gestantes con imagen de sospecha de cardiopatía en el ultrasonido de la atención primaria ha sido reconocido internacionalmente como el principal criterio para estudio ecocardiográfico fetal especializado y por tanto hallazgo frecuente en los motivos de consulta de los casos con hallazgo de un índice timo tórax menor o igual a 0.30, lo que se explica precisamente por la relación de las cardiopatías congénitas con los trastornos del timo, mediciones más pequeñas del timo deben esperarse en cardiopatías congénitas 8

Así aunque la PPE se comportó con valores altos en gestantes con TN incrementada, imagen de sospecha de cardiopatía, madres con LES e hipotiroidismo, el hallazgo de que solo resultara significativa en la imagen de sospecha de cardiopatías, evidencia una elevada concordancia con la literatura 9.

Por otro lado la relación con las cromosomopatias, es evidente, ya que existen reportes de que en fetos normales, el timo utiliza para su funcionamiento redes de genes de una manera “canónica”, pero en pacientes con síndrome de Down se ha demostrado que se presentan redes o vías “no-canónicas” que representan la adaptación de los tejidos del timo a la desregulación genómica de la trisomía 21, y su funcionamiento bajo condiciones de estrés. Esta adaptación es probablemente manejada por mecanismos epigenéticos actuando a nivel de la cromatina, o de programas de control transcripcional de miRNA que involucran redes de genes altamente jerárquicos 10.

**En resumen** se ha mostrado que en las bases generales y específicas que sustentan el proceso de enseñanza aprendizaje en un programa de formación doctoral en ciencias básicas biomédicas en la línea de epidemiologia genética deben fortalecerse una combinación de fundamentos teóricos que sustenten los hallazgos que se obtienen en la práctica investigativa, como una necesidad de la formación doctoral, sobre todo en un área de esta especialidad.

Por otro lado que desde el punto de vista de las habilidades prácticas requeridas, la realización de registros genéticos a través del pedigrí de familias informativas, es altamente demandante en cuanto al rigor de su obtención y la experiencia para su interpretación y obliga a la realización de rigurosos análisis genéticos, epidemiológicos y estadísticos, temáticas en las que deben ser entrenados los aspirantes al doctorado, a fin de obtener prevalencias confiables y estudios de casualidad con mínimos sesgos de información.

La diversidad de diseños existentes para llevar a cabo estudios de asociación de factores de riesgo o determinantes de salud a trastornos complejos, pueden realizarse mediante estrategias poblacionales o familiares, pero ambos por su propia naturaleza, demuestran que son un importante tema de estudio y experimentación que requiere consolidación en la formación doctoral en esta área. Como tópico específico dentro de esta generalidad los métodos empleados para el cálculo de las interacciones G-A, calculando los riesgos esperados bajo el modelo aditivo o multiplicativo, basándose en diversas fórmulas que han aparecido en la literatura y luego comparando lo observado con lo esperado, según estas suposiciones, es también un tópico especifico que debe ser atendido en los procesos formativos.

Por su interés para las familias, los profesionales y los sistemas de salud en Genética, la formación en aspectos referentes a la evaluación de efectividad de programas no puede quedar detrás en la formación investigativa de estos profesionales.

**Conclusiones:**

La identificación precisa de temáticas teóricas álgidas; y de un conjunto de técnicas de estudio y metodologías apropiadas para el abordaje de proyectos de investigación en la línea de epidemiologia genética, que resultan factibles en nuestro contexto, propiciaron el establecimiento de un conjunto de tópicos, que podrían considerarse como las bases generales y específicas para la enseñanza potgraduada en relación con la obtención del doctorado en ciencias básicas biomédicas en nuestra Universidad. Ellas responden a las tres áreas de investigación principal, que hoy son abordados internacionalmente por los genetistas que investigan en este campo de la Genética humana y médica, y podrían resultar útiles a otras Universidades de similares características y contextos.

**References.**

1. Wheeler HE, Ploch S, Barbeira AN, Bonazzola R, Andaleon A, Fotuhi Sishpirani A, Saha A, Battle A, Roy S, Im HK. Imputed gene associations identify replicable trans-acting genes enriched in transcription pathways and complex traits. Genet Epidemiol. 2019 Apr 4. doi: 10.1002/gepi.22205)

2.[Zanichelli A, Arcoleo F, Barca MP, et al. A nationwide survey of hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency in Italy.Orphanet J Rare Dis 2015; 10:11.](file:///C:\contents\hereditary-angioedema-epidemiology-clinical-manifestations-exacerbating-factors-and-prognosis\abstract\3)

3.Vives Toledo R, SorlíGuerola JV, Sierra Santosa L, García Ribesa M. Angioedema hereditario. REV CLÍN MED FAM 2015; 8(1): 62-65).

4.Schaid DJ, McDonnell SK, Thibodeau SN. Familial recurrence risk with varying amount of family history.Genet Epidemiol. 2019 Feb 11. doi: 10.1002/gepi.22193. [Epub ahead of print]

5. Chen Y, Adrianto I, Ianuzzi MC, Garman L, Montgomery CG, Rybicki BA, Levin AM, Li J. Extended methods for gene-environment-wide interaction scans in studies of admixed individuals with varying degrees of relationships.Genet Epidemiol. 2019 Feb 22. doi: 10.1002/gepi.22196. [Epub ahead of print]

6. Kafaie S, Chen Y, Hu T. A network approach to prioritizing susceptibility genes for genome-wide association studies. Genet Epidemiol. 2019 Mar 11. doi: 10.1002/gepi.22198. [Epub ahead of print]

7. Lobach I, Kim I, Alekseyenko A, Lobach S, Zhang L. A simple approximation to bias in the genetic effect estimates when multiple disease states share a clinical diagnosis. Genet Epidemiol. 2019 Mar 19. doi: 10.1002/gepi.22201. [Epub ahead of print])

8. Li L, Bahtiyar MO, Buhimschi CS, Zou L, Zhou QC, Copel JA. Assessment of the fetal thymus by two- and three- dimensional ultrasound during normal human gestation and in fetuses with congenital heart defects are useful tools for evaluation of the size and volume of the human fetal thymus through gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2011; 37: 404–409 (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.8853

9. [Vigneswaran TV](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Vigneswaran%20TV%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28614966), [Homfray T](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Homfray%20T%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28614966), [Allan LD](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Allan%20LD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28614966), [Simpson JM](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Simpson%20JM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28614966), [Zidere V](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Zidere%20V%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28614966).Persistently elevated nuchal translucency and the fetal heart [J Matern Fetal Neonatal Med.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) 2018 Sep;31(18):2376-2380. doi: 10.1080/14767058.2017.1342804.).

10. Moreira-Filho CA, Yumi Bando S, Bernardi Bertonha F, Nascimento Silva F, da Fontoura Costa L, Rodrigues Ferreira L Modular transcriptional repertoire and MicroRNA target analyses characterize genomic dysregulation in the thymus of Down syndrome infants Oncotarget,2016 Vol. 7, No. 7, URL:www.impactjournals.com/oncotarget/