ASOCIACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN PACIENTES CON LABIO Y PALADAR HENDIDOS Y FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD

Daniela Angelica Castillo Ramírez

Laura María Diaz Rodríguez

UNIVERSIDAD EL BOSQUE

PROGRAMA ORTODONCIA - FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

BOGOTÁ DC – JULIO 2022

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Ortodoncia
Título:	Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con labio y paladar hendidos y familiares en primer grado de consanguinidad
Grupo de Investigación:	UMIMC (Unidad de Manejo integral de malformaciones craneofaciales)
Línea de investigación:	Labio y paladar hendido
Otras instituciones participantes:	FISULAB, Smile Train
Tipo de investigación:	Posgrado – grupo de investigación
Estudiantes:	Daniela Angelica Castillo Ramírez Laura María Diaz Rodríguez
Director:	Dra. Carolina Téllez Conti
Codirector:	Dra. Lina Escobar
Asesor metodológico:	Dra. Ingrid Mora Diaz
Otros asesores	Dra. Martha Rojas
Asesor y análisis estadístico:	Dr. David Diaz Báez

UNIVERSIDAD EL BOSQUE

Por una cultura de la vida, su calidad y su sentido

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
COMITÉ DE INVESTIGACIONES
ACTA DE APROBACIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

El comité de Investigaciones de la Facultad de Odontología y el Programa académico con base en los criterios científicos, metodológicos y éticos que se han establecido para tal efecto y oído el concepto de los respectivos evaluadores asignados para calificar el trabajo de grado:

"ASOCIACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO EN PACIENTES CON LABIO Y PALADAR HENDIDOS Y FAMILIARES EN PRIMER GRADO DE CONSANGUINIDAD"

Presentado como requisito parcial por el estudiante:

DANIELA ANGÉLICA CASTILLO RAMÍREZ
LAURA MARÍA DÍAZ RODRIGUEZ

Para optar al título de:

ESPECIALISTA EN ORTODONCIA

Deciden asignar la calificación final de:

APROBADO

Firmado en Bogotá, D.C. julio 29 de 2022

UNIVERSIDAD EL BOSQUE DECANO ODONTOLOGÍA

MARIA ROSA BUENAHORA TOBAR
Decana
Facultad de Odontología
Presidente Comité de Investigación

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIONES Facultad de Odontología

INGRID ISABEL MORA DIAZ
Coordinadora de Investigación
Secretaria Comité de Investigación

IVAN ARMADO SANTACRUZ CHAVES
Coordinador Posgrados de Odontología
Miembro Comité de Investigaciones

GABRIEL EDUARDO RESTREPO
Director
Posgrado de Ortodoncia

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

OTTO BAUTISTA GAMBOA	Presidente del Claustro
JUAN CARLOS LÓPEZ TRUJILLO	Presidente Consejo Directivo
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Rector(a)
NATALIA RUÍZ ROGERS	Vicerrector(a) Académico
RICARDO ENRIQUE GUTIÉRREZ MARÍN	Vicerrector Administrativo
GUSTAVO SILVA CARRERO	Vicerrectoría de Investigaciones.
CRISTINA MATIZ MEJÍA	Secretaria General
JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS	División Postgrados
MARIA ROSA BUENAHORA TOVAR	Decana Facultad de Odontología
MARTHA LILILIANA GOMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA MARIA ESCOBAR JIMENEZ	Director Área Bioclínica
ALEJANDRO PERDOMO RUBIO	Director Área Comunitaria
JUAN GUILLERMO AVILA ALCALÁ	Coordinador Área Psicosocial
INGRID ISABEL MORA DIAZ	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
IVAN ARMANDO SANTACRUZ CHAVES	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología
GABRIEL EDUARDO RESTREPO TORRES	Director del programa de Ortodoncia
MARIA INES LEMOS	Coordinadora del programa de Ortodoncia

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

GUÍA DE CONTENIDO

Resumen

Abstract

Pág.

Introducción

2. Marco teórico 3

3. Planteamiento del problema 14

4. Justificación 18

5. Situación Actual 19

6. Objetivos

6.1 Objetivo general 24

6.2 Objetivos específicos 24

7. Metodología del Proyecto

7.1. Tipo de estudio 25

7.2. Población y muestra 25

7.3. Métodos y técnicas para la recolección de la información 26

7.4 Obtención de la muestra 26

a. Extracción DNA 27

b. Cuantificación DNA 27

c. Primers para determinación del SNP del BMP2 27

d. Determinación de frecuencias alélicas y genotípicas del SNP 28

e. Análisis estadístico 28

8. Consideraciones éticas.

a. Sustento legal 30

b. Consentimiento y asentimiento informado 31

9.. Resultados

9.1 Calibración anomalías menores en pacientes con LPH y sus parientes en 1er grado de consanguinidad 64

9.2 Escáner facial y recolección muestras de saliva 66

10. Referencias bibliográficas 69

11. Anexos 72

RESUMEN

Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con labio y paladar hendido y sus familiares en primer grado de consanguinidad

Antecedentes: El labio y paladar hendido (LPH) es una malformación craneofacial congénita producida por la falta de fusión de los procesos palatinos durante el periodo de vida intrauterino, esta falta de fusión es causada por factores genéticos, mecánicos o teratogénicos. Se han descrito alrededor de 300 genes que median la fusión de los procesos palatinos, dentro de los cuales se encuentra la proteína morfogénica ósea (BMP2) que permite el desarrollo del primordio facial, los labios y el paladar. La haploinsuficiencia de BMP2 se asocia con la formación de hendiduras palatinas y orales, a su vez las alteraciones genéticas conllevan cambios fenotípicos como anomalías menores en la región craneofacial. En estudios previos, se encontró que el polimorfismo del BMP2 fue mayor en pacientes con LPH y también se encontró la asociación entre la presencia de anomalías menores en padres y pacientes con LPH, por lo tanto, es relevante asociar los hallazgos fenotípicos con el genotipo de estos pacientes. **Objetivo:** Establecer una posible asociación entre la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 en individuos con LPH y sus parientes en primer grado de consanguinidad que presenten anomalías menores evaluadas con escáner facial **Materiales y métodos:** Se evaluaron 32 individuos con secuela de LPH y 32 padres con al menos 1 anomalía menor, previa calibración inter e intraexaminador. Se tomaron muestras de saliva en los kits saliva Colletion Tube de Bioneer. Una vez tomadas estas muestras, fueron llevadas al laboratorio de UIBO para su procesamiento una vez se complete la muestra. También se realizó un escáner facial a cada paciente. El escáner utilizado fue Calibry. Previo al escaneo en pacientes se realizó un consenso y entrenamiento con la investigadora principal para la obtención de los escáneres. Las imágenes obtenidas fueron procesadas por el software Calibry Nest y fueron guardadas como archivos .PLY en un computador de ultima generación. **Resultados:** Se realizó una base de datos con 32 pacientes con secuela de LPH y 32 padres, con sus respectivas muestras y escáneres. Esta información se guardo en un drive y se entrego a la investigadora principal para su posterior procesamiento.

Palabras claves: LPH, Polimorfimos BMP2, Anomalías menores.

ABSTRACT

GENOTYPE-PHENOTYPE ASSOCIATION OF PATIENTS WITH CLEFT LIP AND PALATE AND FIRST-DEGREE RELATIVES

Background: Cleft lip and palate (CLP) is a craniofacial congenital malformation due to faulty palate fusion during formation and it may be due to genetic, mechanical or teratogenic factors. Approximately 300 genes mediate said fusion and the osseous morphogen molecule (BMP2) is amongst them, which allows primordial face, lips and palate development. Haploinsufficiency of it is associated with oral and palate clefts and gene alterations lead to phenotype cranial alterations. In previous studies, it was found that the BMP2 polymorphism was higher in patients with CLP and the association between the presence of minor anomalies in parents and patients with CLP was also found, therefore, it is relevant to associate the phenotypic findings with the genotype of these patients. **Objective:** to establish a possible association between presence of BMP2 polymorphism of patients with CLP and first-degree relatives, who present minor anomalies evaluated with a facial scanner. **Materials and methods:** 32 individuals were evaluated who had a CLP sequel and 32 parents at least one minor anomaly. Priors inter and intraexaminer calibration. Saliva samples were collected in Bioneer Saliva Collection Tube kits. Once these sample were taken, they were taken to the UIBO laboratory for processing once the sample was completed. A facial scan was also performed on each patient. The scanner used was Calibry. Prior to scanning patients, a consensus and training were carried out with the principal investigator to take the scans. The images obtained were processed by The Calibry Nest software and saved as .PLY files on computer. **Results:** A database was created with 32 patients with CLP sequelae and 32 parents, with their respective samples and scans. This information was saved on a drive and shared with the principal investigator for processing.

Key words: CLP, BMP2, Polymorphisms, minor anomalies.

1. Introducción

El labio y paladar hendido (LPH) es una de las anomalías craneofaciales más comunes en la población y se produce por una alteración en la fusión de los tejidos que darán origen al labio superior y al paladar. Se clasifica en sindrómicos y no sindrómicos o aislados. (Rodríguez y col, 2012). Esta malformación se caracteriza por la falta de fusión de los procesos faciales embrionarios que permiten el correcto desarrollo de los componentes del sistema estomatognático, trastorno que ocurre durante la cuarta y la doceava semana de gestación. (Infante, 2009)

El desarrollo de las estructuras craneofaciales es un proceso complejo que involucra el funcionamiento integrado de mecanismos celulares, moleculares y genéticos. Se ha visto una fuerte relación entre mutaciones de algunos genes implicados en la organogénesis y la presencia de labio y paladar hendido (Burg, 2016).

Esta malformación puede presentarse de forma aislada o no sindrómica caracterizado por no asociarse a anomalías o síndromes de base que involucren otras estructuras corporales. La otra manifestación de LPH es la asociada con síndromes, que se caracteriza por la afectación de otras estructuras a parte del labio y el paladar. Estas dos formas se caracterizan por ser de origen multifactorial, siendo el componente genético el más relacionado. (Mehrotra, 2015)

En la palatogénesis, se han involucrado diferentes genes como Shh, Fgf10, Bmp2, Msx1, Pax9, y se ha evidenciado que alguna alteración en cualquiera de ellos, produce paladar hendido. La señalización de Shh regula la expresión de los factores de transcripción Foxf1, BMP2, BMP4 en el mesénquima palatino, los cuales son fundamentales para que la fusión de las crestas palatinas sea adecuada. (Hammond y col, 2018)

La proteína morfogenética ósea (BMP) son factores de crecimiento pertenecientes a la familia de los factores de crecimiento transformante beta (TGF-beta), están fuertemente asociados a la formación del tejido óseo.

En estudios como el realizado por Saket 2016, muestran que pacientes que presentan una microdeleción del gen de BMP2, desarrollaron paladar hendido. Por lo tanto, existen investigaciones que afirman que la expresión de BMP2 en células mesenquimales adyacentes a la línea media durante la fusión del paladar juega un papel importante en el proceso de la patogénesis.

Escobar y col. en 2013, demostraron que BMP2 se expresa en el mesénquima adyacente a la línea media durante la fusión de los procesos palatinos, con lo cual se puede concluir que la proliferación mesenquimal mediada por BMP2 es un evento esencial en la palatogénesis.

Aunque algunos estudios reportan la asociación el polimorfismo del BMP2 y LPH, las asociaciones fenotipo - genotipo pueden aportar precisión a los diagnósticos de los casos sindromáticos y de herencia familiar, por eso esta investigación tiene como objetivo determinar la asociación entre la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 en individuos con labio y paladar hendido y sus parientes en primer grado de consanguinidad que tengan anomalías craneofaciales menores, ya que el comprobar una asociación genotípica entre pacientes con LPH y sus familiares, puede permitir clasificar los casos en sindromáticos o aislados y realizar asesorías familiares respecto a las posibilidades de aparición de nuevos casos en un núcleo familiar y orientar con mayor certeza los tratamientos.

2. Marco teórico

El labio y paladar hendido (LPH) es una malformación craneofacial congénita de etiología compleja con una alta prevalencia, la cual se presenta debido a la falta de fusión de los procesos palatinos durante el período intrauterino. (Samadi y col, 2018)

LPH puede presentarse de forma unilateral (siendo más frecuente el lado izquierdo el afectado) o de forma bilateral. Esta alteración inicia en la parte lateral del labio superior y puede extenderse hacia el surco nasolabial, llegando a afectar el alveolo dentario, entre el incisivo lateral y el canino, en estos casos recibe el nombre de paladar hendido primario. Cuando la hendidura se extiende posteriormente del agujero incisivo se diagnostica como paladar hendido secundario, el cual podrá variar su severidad de acuerdo con los límites y estructuras comprometidas. (Infante y col, 2009; Burg y col, 2016)

La palatogénesis ocurre aproximadamente entre la cuarta y doceava semana de vida intrauterina, tras la condensación del mesénquima en el proceso frontonasal el cual dará origen a la formación de procesos nasales mediales y laterales. Estos procesos mediales se fusionan en la línea media dando origen al segmento intermaxilar que comprende estructuras como el puente nasal, punta nasal, el filtrum, la región media del labio superior y el paladar primario, este último tendrá forma triangular y estará localizado anterior al futuro agujero incisivo y es allí donde están situados los futuros procesos dentoalveolares. (Mehrotra y col, 2015)

De forma simultánea las prominencias maxilares tendrán un desplazamiento hacia medial y se fusionan con los procesos nasales favoreciendo la formación del carrillo, del surco nasolagrimal y del labio superior. A la sexta semana aparecerán las crestas palatinas compuestas por células mesenquimales derivadas de la cresta neural y células epiteliales derivadas del ectodermo, dichas crestas experimentan tres procesos para la formación del paladar secundario. (Deshpande y col, 2019)

El 70% de los casos de LPH ocurren como una patología aislada, sin otras anormalidades cognitivas o estructurales, a lo cual se le denomina LPH no sindrómico, mientras que el 30% restante pertenece a síndromes que también presentan esta patología dentro de sus características fenotípicas. (Dixion y col, 2011)

Su prevalencia varía según la población siendo la mayor encontrada al este de Asia, en países como China y Japón donde se presenta en cada 1/500 nacimientos vivos y la menor prevalencia se presenta en los afroamericanos con 0.21 a 0.41 / 1000 del total de nacidos vivos. (Samadi y col, 2018)

Según el ENSAB IV la prevalencia en Colombia es de 0.07% en donde el 0.04% corresponde a una hendidura del labio y el 0.02% corresponde a hendidura del paladar. También se han reportado diferencias entre géneros y localización, siendo la hemicara izquierda la más susceptible a desarrollar esta anomalía.

La incidencia puede variar según:

Sexo: Se ha evidenciado mayor presencia de LPH en hombres que mujeres, mientras que los casos de paladar hendido (PH) exclusivamente, son más prevalentes en mujeres. Se ha planteado que las hormonas sexuales femeninas pueden desempeñar un papel en el aumento de la hendidura, además puede estar ligado al cromosoma X, por mutaciones en el gen TBX22. (Salvia y col, 2014; Deshpande y col, 2019)

Raza: Se ha encontrado mayor incidencia en la población asiática debido a que en esta población los tercios faciales son más pequeños y planos, sus cráneos son braquicéfalos y sus paladares elípticos, lo que puede contribuir a sus tasas relativamente más altas de hendidura. En contraposición a esto, los africanos se caracterizan por presentar estructuras faciales como la nariz, los procesos frontonasales y el paladar de mayor tamaño, lo cual

puede disminuir en esta población la frecuencia de hendiduras. (Salvia y col, 2014; Deshpande y col, 2019).

Crecimiento del mesénquima: permitirá el aumento de las dimensiones de las crestas palatinas las cuales se dispondrán de forma vertical y lateral a la lengua. (Deshpande y col, 2019)

Elevación de las crestas palatinas: tendrá lugar durante la octava semana de vida intrauterina, donde las crestas palatinas giran desde una posición vertical a una posición horizontal. Este cambio puede ser reflejo de factores como presión osmótica por procesos inflamatorios internos en las crestas palatinas, mediado por glucosaminoglucanos. (Salvia y col, 2014; (Deshpande y col, 2019).

Cierre y fusión: la sutura medial de las crestas palatinas, se fusionarán para dar origen al paladar secundario. Esto ocurre por medio de procesos complejos coordinados a nivel celular y molecular que incluyen procesos apoptóticos a lo largo de los márgenes mediales de las crestas palatinas; procesos de transformación de células epiteliales a mesenquimales y procesos de migración celular del borde medial de la cresta a cavidad oral. Esta fase se llevará a cabo de en sentido anteroposterior, iniciando en el agujero incisivo y finalizando con la fusión uvular. El cierre completo se dará hacia la doceava semana (Dixion y col, 2011)

La hendidura labial puede darse por fallos en la penetración del mesodermo en los surcos entre los procesos nasales mediales y maxilares, estas hendiduras labiales van desde pequeñas fisuras en el borde del bermellón hasta una hendidura que se extiende a la cavidad nasal. La hendidura del paladar secundario puede surgir de la incapacidad de las crestas palatinas para elevarse, adherirse o fusionarse, debido a factores genéticos, mecánicos y teratogénicos que impiden el crecimiento gradual, la rotación y fusión de las crestas en la línea media. Algunos factores asociados con esta malformación son el desarrollo deficiente del primer arco faríngeo, la disminución en tamaño de las crestas palatinas, baja acumulación

de matriz extracelular en el mesénquima de las crestas, rotación retardada de las crestas hacia la posición horizontal, obstrucción mecánica de la lengua al movimiento horizontal de las crestas palatinas lo cual puede asociarse con crecimiento retardado o disminuido de prominencias mandibulares, postura errónea de la cabeza del embrión generada por ruptura del saco amniótico y la persistencia del epitelio en el borde medial de la cresta palatina que evitará la fusión palatina. (Salvia y col, 2014; Deshpande y col, 2019).

Aunque se han realizado múltiples estudios sobre la etiología del LPH y se ha encontrado gran número de factores relacionados, no ha sido posible identificar una causa exacta debido a la presencia de un sinnúmero de factores etiológicos, se ha evidenciado que esta alteración se produce debido a las deficiencias en la fusión de los procesos faciales, principalmente de los procesos nasales medios, laterales y de las prominencias maxilares. Esta falta de fusión se relaciona con factores ambientales como la exposición de gestantes a factores de riesgo, la deficiencia de nutrientes importantes para el adecuado desarrollo de feto, el consumo de alcohol, de tabaco, la diabetes y la obesidad también se han relacionado. Las fallas en las vías de señalización, factores de transcripción, y alteraciones genéticas son fuertes predisponentes. (Salvia y col, 2014)

Vías señalización asociadas con LPH

Los defectos en el cambio de posición, de confrontación y de fusión de estructuras faciales son el resultado de fallas a nivel celular y molecular, donde están implicados factores de señalización, factores de transcripción, moléculas de adhesión celular las cuales pueden ser influenciadas por factores genéticos y ambientales. Se han descrito alrededor de 300 genes que median la fusión de los procesos palatinos en donde la mutación de un solo gen puede producir hendiduras en labio y paladar. Algunos de los genes más estudiados en esta patología son: TGTβ, SHH, FGF y BMP (Mehrotra, 2015)

La superfamilia del factor de crecimiento transformante β (TGFβ**)** presenta tres isoformas, TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3, en donde las dos primeras tienen un efecto en la inducción

condrogénica y osteogénica, TGF- β3 se expresa en las células epiteliales del borde medial de las crestas palatinas, está involucrado en los procesos de transformación epitelio-mesénquima y procesos de apoptosis en el borde medial, a través de su acción en proteínas citoplasmáticas pertenecientes a la familia Smad, las cuales inducen cambios transcripcionales a nivel del núcleo. Se ha demostrado en estudios con murinos que la deleción de TGFβ3 genera paladar hendido debido a la adhesión deteriorada de los epitelios del borde medial y la eliminación de la sutura epitelial de la línea media. (Deshpande y Goudy 2019)

Sonic hedgehog (Shh) codifica proteínas importantes para interacción célula-célula y es fundamental en el desarrollo de los primordios faciales. Shh se expresa en el borde medial de las crestas palatinas y en sitios de interacción epitelio-mesénquima. Esta proteína señala al mesénquima y regula el crecimiento del paladar, y a su vez regula la expresión de Bmp2, Bmp4, Msx1 y Fgf10 en el mesénquima palatino. La alteración en las proteínas implicadas en la vía de señalización de Shh como Smo afecta la proliferación de células epiteliales, por ello las mutaciones de Shh o sus proteínas de acción está asociado con el desarrollo de paladar hendido. (Deshpande y Goudy 2019)

Alteraciones del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y su receptor (FGFR) han sido relacionados con LPH. Lee y col. en 2018 demostró al experimentar con murinos que el receptor FGFR2 es importante para el desarrollo craneofacial, su mutación o deleción puede traer consigo alteraciones en la formación craneofacial como microtia o labio paladar hendido, no solo por la ausencia sino también por su sobreexpresión, es decir que tanto la activación como la inhibición del receptor de FGF puede causar retraso en el desarrollo del paladar y en la elevación de crestas palatinas, por lo cual es fundamental considerar que las variaciones fenotípicas están relacionadas con la isoforma de receptores FGFR2 . (Lee, 2018)

El gen del factor regulador de interferón IRF 6, codifica una familia de nueve factores de transcripción reguladores IRF, que se unen a secuencias de ADN específicas y regulan la expresión génica. Varios estudios han demostrado que IRF6 se expresa a lo largo del borde medial de la fusión del paladar, se cree está involucrado en la vía de señalización de TGF-β y FGF. Las mutaciones en este gen pueden causar labio paladar hendido ligado al cromosoma X. Un Estudio en la población europea mostró a IRF6 como el principal gen causante del síndrome de Van der Woude, síndrome que se caracteriza por presentar labio paladar hendido bilateral completo y además mutaciones en IRF6 estaban asociadas con un riesgo de 4% a 6% mayor de tener un hijo con labio y paladar hendido. (Mehrotra y col, 2015) (Deshpande y col, 2019)

El Gen homeobox Msx1 se expresa en los primordios faciales y se encarga de regular el crecimiento de las prominencias maxilares y controlar la angiogénesis durante el desarrollo facial. Este juega un papel fundamental en la expresión proteica, regula otros genes y regula positivamente a la ciclina D1, por ello inhibe la diferenciación celular mediante la regulación del ciclo celular. Msx1 se requiere para la expresión de Bmp2 y Bmp4 en el mesénquima palatino y Shh en el epitelio del borde medial, se ha visto en estudios animales que el déficit de Msx1 produce una hendidura completa del paladar secundario, desarrollo maxilar anormal y ausencia de procesos alveolares, lo cual podría estar relacionado con el papel de la angiogénesis producida por Msx1 el cual, al inhibirse traería consigo prominencias maxilares acortadas, reflejo de la disminución de aporte de oxígeno y nutrientes necesarios en la formación (Mehrotra y col, 2015; Deshpande y col, 2019)

En un estudio se encontró la asociación entre polimorfismos de MSX1 y paladar hendido no sindrómico. En un estudio se analizaron cuatro alelos de MSX1 en donde se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que portaban alelo 3 y labio paladar hendido. El alelo 4 (forma heterocigota y homocigota) fue el más frecuente en

pacientes con LPH obteniéndose como resultados, mayor frecuencia del alelo 4 en el grupo afectado el cual, fue significativamente mayor que en los controles. (Mehrotra y col, 2015)

T-box TBX1, se ha demostrado que es esencial para la elongación y elevación normal de las crestas palatinas, los murinos con carencia de este factor, presentan paladar hendido, con crestas palatinas cortas que no pueden alargarse y elevarse para lograr su fusión. Se ha relacionado alteraciones del factor TBX1 con el mantenimiento de la integridad epitelial en el paladar posterior, lo cual impide la fusión de las crestas. (Deshpande y col, 2019)

El Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y sus formas Pdgfc y Pdgfa se expresan en el epitelio palatino, sus receptores PDGFRa y PDGFRB participan en la proliferación, supervivencia y migración celular, estudios en murinos con mutaciones en Pdgfc y Pdgfa fueron relacionados con la presencia de hendiduras, defectos esqueléticos y vasculares, en el caso de carencia de Pdgfa mostraron fenotipos de paladar hendido severo, por otro lado se ha evidenciado cómo la mutación en sus receptores PDGFRa provocan defectos en el proceso frontonasal y generarán paladar hendido, mientras que murinos Pdgfrc nulos presentan crestas palatinas hipoplásicas y fusión inadecuada por falla en la elevación de las crestas. (Deshpande y col, 2019)

El factor de crecimiento endotelial vascular VEGF, está involucrado en la angiogénesis y la osificación, por lo cual desempeña un papel relevante en la formación facial y en estructuras como el paladar. La eliminación del VEGF en células de la cresta palatinas genera paladar hendido en murinos por la reducción en el tamaño de las crestas palatinas, las cuales no pueden alargarse y elevarse por encima de la lengua, como también presentaron menor osificación en los huesos palatino. (Deshpande y col, 2019)

Los BMP son factores de crecimiento que pertenecen a la familia de los TGF-beta (TGF-β), la cual es una súper familia de proteínas con la capacidad de inducir fuertemente la formación del tejido óseo, cartilaginoso y conjuntivo. Son ahora reconocidas como factores de

crecimiento multifuncionales que median una gran variedad de funciones biológicas esenciales para la gastrulación, organogénesis, crecimiento embrionario y crecimiento postnatal. Estas proteínas son fundamentales para la regulación de procesos como: proliferación celular, apoptosis, diferenciación y morfogénesis. Se expresan en mayor proporción en los procesos faciales, en el epitelio y en el mesénquima de la región anterior de los procesos palatinos en desarrollo. (Liu *y col*, 2005)

Se ha determinado que las BMPs están involucradas en el desarrollo y formación de una serie de elementos craneofaciales que incluyen la cresta neural, el primordio facial, los dientes, los labios y el paladar. Cualquier alteración en la señalización producida por BMPs puede afectar el desarrollo corporal del embrión. (Liu *y col*, 2005).

La proteína morfogénica ósea Bmp4 se expresa dentro del mesénquima y el epitelio de la cresta palatina, se ha visto como mutaciones de BMP4 se asocia con paladar hendido. (Liu *y col,* 2005)

La proteína BMP-2 promueve la diferenciación de osteoblastos al estimular Runx2 en un proceso mediado por proteínas Smad y por la activación de la vía de señalización de β-catenina. Curiosamente, la activación endógena de β-catenina induce la expresión de ARNm sin embargo, BMP-2 debe estar presente para que la señalización de β-catenina induzca también la expresión de osteocalcina, por lo tanto, los procesos de diferenciación dependientes de β-catenina probablemente requieren BMP-2 para promover las etapas posteriores de la diferenciación de osteoblastos. Por ello esta proteína es fundamental para el proceso de palatogénesis ya que como se mencionó anteriormente BMP2 se expresa en el paladar de mamíferos tanto en el epitelio como en el mesénquima antes, durante y después de la fusión de procesos palatinos permitiendo el cierre del labio superior y paladar primario. (Mossaad y col, 2019; Saket *y col,* 2016)

La haploinsuficiencia de BMP2 se propuso recientemente para desempeñar un papel crucial en la formación del paladar hendido. Se afirmó que dos individuos con defectos de hendidura tenían microdeleciones que abarcaban solo BMP2. Se han informado microdeleciones asociadas con hendiduras en algunos estudios donde se elimina BMP2. (Saket *y col,* 2016)

Un estudio iraní de casos y controles en el 2016 buscó la asociación entre dos polimorfismos comunes de los genes candidatos, BMP2 y BMP4, con el riesgo de LPH no sindrómico. El genotipo BMP2 fue significativamente mayor en el grupo caso (59.8%) que el grupo control (33.3%). El alelo T rs235768 BMP2 fue significativamente mayor en el grupo caso (38.3%) que en el grupo control (22.0%), lo que indicó que el alelo T era un factor de riesgo para LPH. (Saket y col, 2016)

En este estudio iraní se comprobó que el LPH es un trastorno genéticamente complejo, en donde el riesgo de desarrollar esta anomalía en familiares de primer grado de consanguinidad aumenta 32 veces en comparación a las personas sin antecedentes, lo que indica que el LPH tiene una mayor tasa de recurrencia familiar. Los genes que se contribuyen al LPH no sindrómico se han investigado mediante análisis de reordenamientos genómicos, genes candidatos y estudios de asociación de todo el genoma, en donde se ha encontrado asociación entre esta anomalía y las mutaciones de diferentes genes. Saket en el 2016 estudió la asociación entre el polimorfismo del gen BMP2 en donde evidencio que el alelo T era un factor de riesgo. Esta investigación ha sido una de las primeras en mostrar la asociación de BMP2 rs235768 y la presencia de LPH, los resultados obtenidos en este estudio demostraron que el polimorfismo de BMP2 se asocia con el riesgo de presentar fisura labio palatina (Saket y col, 2016)

Otro estudio realizado en Letonia en 2013 en el que se tomaron muestra de pacientes con LPH y pacientes sanos se evidencio una expresión de BMP 2/4 en todos los casos. BMP 2/4 marcó un número variable de endoteliocitos y células de músculo liso vascular en las

muestras de tejido. En este mismo estudio los autores afirmaron que la expresión de Bmp2-5 en epitelios palatinos y mesénquima es crucial durante las múltiples etapas de la patogénesis debido a que la señalización de BMP también se conserva en el desarrollo del esqueleto craneofacial, los cambios en la expresión resultan en alteraciones de estas estructuras. Sin embargo la expresión de esta Proteína debe ser regulada por la familia Cordina, Nogina, Twisted y Cerberu. (Krivicka y col, 2013)

Para la expresión de Bmp4 y / o Bmp2 es importante el estímulo de MSX1. En ratones, la pérdida de la función del receptor Bmp tipo I (Bmpr1a) en los primordios craneofaciales resultó en la presencia de labio y paladar hendido, mientras que la deficiencia de Bmp4 resultó en labio hendido exclusivamente; esto muestra que la señalización de Bmp tiene funciones distintas en el desarrollo del labio frente al paladar secundario. En el contexto de la deficiencia de Bmp4, todos los embriones mutantes de Bmp4 exhibieron labio hendido bilateral. Estas observaciones son paralelas a los hallazgos de que las mutaciones en BMP4 pueden subyacer a un subconjunto de casos de subepitelial, microforma y labio hendido en humanos. (Gajera *y col*, 2019)

Investigaciones coinciden en afirmar la importancia en el aumento del mRNA de BMP2 y BMP4 en el paladar tanto en el epitelio como en la mesénquima, antes, durante y después de la fusión de las prolongaciones palatinas. La relevancia de estos factores en la palatogénesis se empezó a evidenciar mediante modelos de investigación con ratones a los que se les inducía hendidura palatina mediante aplicación de ácido retinoico y se asoció con expresión disminuida de BMP2, se encontró que este gen media la proliferación mesenquimal.(Gajera y col, 2019)

Samadi y col. en 2018 realizaron una investigación donde se evaluó el efecto de interacción de los polimorfismos de Rsal y BamHI de TGFα y BMP2 y se demostró que dichos polimorfismos no muestran una asociación significativa en la aparición de LPH.

La evidencia afirma que la expresión de BMP2 en células mesenquimales adyacentes a la línea media durante la fusión del paladar juega un papel importante en el proceso de la palatogénesis. Debido a la importancia que BMP2 tiene en el proceso de patogénesis y dado que no hay reportes en la literatura que establezcan si las alteraciones en la secuencia nucleotídica del gen BMP2 podrían estar asociadas con la presencia de hendiduras orofaciales en humanos, se pretende con la presente investigación encontrar la asociación entre la mutación del gen BMP2 y la presencia del labio y paladar hendido.

3. Planteamiento del problema

Durante el desarrollo del complejo craneofacial se pueden presentar alteraciones que traen consigo anomalías que abarcan estructuras orofaciales, dentro de las que se encuentra con mayor frecuencia el labio y paladar hendido (LPH).

El conocimiento actual indica que el LPH ocurre en aproximadamente 1 de cada 700 nacidos vivos, y que se esperan 3200 nuevos casos por año con el crecimiento de la población mundial (Yılmaz *y col,* 2019). En Colombia, la prevalencia de esta anomalía es de 1 en 500, a 1 en 1000 de acuerdo con la zona geográfica (Serrano y col*,* 2009). Según el ENSAB IV la prevalencia en Colombia es de 0.07% en donde el 0.04% corresponde a hendidura del labio y el 0.02% corresponde a hendidura del paladar.

Esta malformación puede presentarse de forma aislada o no sindrómica caracterizado por no asociarse a anomalías o síndromes de base que involucren otras estructuras corporales y a su vez puede estar relacionado con la susceptibilidad del paciente a factores medioambientales o genéticos. Otra manifestación de LPH es la asociada con síndromes, que se caracteriza por la afectación de otras estructuras a parte del labio y el paladar. Estas dos formas se caracterizan por ser de origen multifactorial, siendo el componente genético el más relacionado. (Mehrotra y col, 2015).

El LPH disminuye la calidad de vida de los pacientes y su familia, ya que afecta negativamente el habla, la salud oral y la salud mental de los pacientes. Las personas que padecen esta alteración son susceptibles a una serie de complicaciones que afectan su desarrollo como la deficiencia en el peso, la incompatibilidad labial, trastornos de succión y de deglución, maloclusión, problemas para la fonación, para la respiración, a nivel dental ocurren hipoplasias del esmalte, caries dental, dilaceración de los incisivos laterales, anodoncia en relación con el lugar de la hendidura, erupción ectópica, retraso de la erupción, gingivitis y

periodontitis, también presentan defectos intraorales como frenillo corto, torus y anquiloglosia, entre otros (Samadi y col, 2018).

Dentro de los factores etiológicos del LPH se destacan los ambientales como: la disminución de nutrientes, el consumo de alcohol, tabaco, la obesidad y la diabetes mellitus en el periodo gestacional. Diferentes investigaciones han demostrado que dichos factores tienen un efecto disruptivo en las células de la cresta neural, lo que impide el correcto crecimiento y desarrollo de las estructuras craneofaciales durante el periodo embrionario (Burg, 2016).

Investigaciones han realizado estudios en murinos con el fin de identificar los genes asociados con esta anomalía, dentro de los que se han destacado: IRF6, MSX1, TGFB3, FOXE1, FGFR1, FGFR2, FGF8, MSX2, TBX10, TBX22, GLI2,LHX8, SKI y SPRY2 y BMP 2 Y 4. (Infante, 2009; Dixon y col, 2011)

Por su parte, el gen BMP es fuertemente asociado con la inducción de formación del tejido óseo, cartilaginoso y conjuntivo. El BMP 2 Y 4 desempeñan un papel importante en la osteogénesis y la condrogénesis e inducen la regeneración del tejido duro. Estos genes se expresan en las células epiteliales y mesenquimales de los procesos palatinos y hacen posible la patogénesis y la morfogénesis de los tejidos faciales y orales (Samadi *y col,* 2018).

El gen BMP4 permite la fusión de labio y el paladar y sus polimorfismos se han asociado con el desarrollo de LPH. Por otro lado, el gen BMP2 también se ha asociado con esta alteración y su mutación puede desencadenar la presencia de fisuras orales (Saket *y col,* 2016; Samadi y col, 2018; Smane y col, 2018).

Un estudio realizado en murinos encontró que la pérdida de la función del receptor de Bmp2 en los primordios craneofaciales desencadena la presencia tanto de labio como de paladar

hendido, mientras que la deficiencia de Bmp4 resultó en labio fisurado. Esto muestra que la señalización mediada por Bmp tiene funciones distintas en el desarrollo del labio frente al paladar secundario y la importancia de su adecuado funcionamiento. (Dixon *y col,* 2011).

Sahoo y col en 2011 afirmaron que se requiere el gen MSX1 para la expresión BMP4 y BMP2. La deficiencia de Msx1 trae como consecuencia el paladar hendido secundario y agenesia dental en ratones. De manera similar, la deficiencia de MSX1 causa paladar hendido no sindrómico con agenesia dental en humanos. Además de esto, también se asoció una deleción genética que abarcaba al BMP2 en los tres pacientes con LPH involucrados en este estudio.

En la experimentación con ratones, como la realizada por Lu, Jin, y Tipoe, se ha visto que ratones en gestación expresan niveles de BMP-2,4,5 en las crestas palatinas y estos niveles disminuyeron en ratones que fueron expuestos a ácido retinoico, lo cual resultó en la falta de fusión en los procesos palatino. Por lo tanto, se puede concluir que BMP es fundamental para la correcta fusión del paladar, pero se necesitan más estudios en humanos que puedan comprobar lo anterior (Lu *y col,* 2000).

Conte *et al*, en el 2016, seleccionaron 312 muestras genéticas de pacientes con LPH y paladar hendido con el fin de determinar cuáles eran los genes que se eliminaban o eran duplicados en los pacientes con presencia de LPH. Dentro de los resultados de este estudio, se encontró *SATB2* y *MEIS2 como genes causantes del LPH*, pero también se encontraron que varios genes están involucrados en varias vías de señalización importantes para el proceso de formación facial, como RAC1, BMP 2 -4 y MAPK.

Debido a la importante participación de BMP2 en la patogénesis y a que en la actualidad hay poca evidencia sobre la asociación de las mutaciones en este gen y la presencia del labio y paladar hendido, es importante realizar investigaciones que permitan determinar si dichas mutaciones pueden estar involucradas en la generación de esta patología. La literatura

existente sobre esta asociación es muy debatida y no existe suficiente claridad sobre este tema. Además, es relevante encontrar la asociación genética entre los pacientes con LPH y sus parientes en primera línea de consanguinidad que presentan anomalías menores, ya que este tipo de asociación entre parientes no se ha reportado en los estudios y puede determinar una importante ruta que nos guíe hacia una predisposición genética.

Igualmente, este tipo de investigaciones no se ha realizado en Colombia, por lo tanto, es importante evaluar genéticamente a esta población, con el fin de determinar alteraciones en el gen BMP2 que puedan estar asociadas con presencia de LPH y/o anomalías menores en población colombiana.

Con este trabajo se busca ampliar el conocimiento actual de las alteraciones genéticas asociadas al LPH y los parientes cercanos de estos pacientes, con el fin de brindar un diagnóstico genético. De acuerdo con lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo establecer una posible asociación entre la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 en individuos con LPH y sus parientes en primer grado de consanguinidad que tengan anomalías menores.

Pregunta de investigación: ¿Existe asociación entre la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 y la formación de labio y paladar hendido o anomalías craneofaciales menores en pacientes con secuela de la hendidura y/o en los parientes en primer grado de consanguinidad?

4.Justificación

En el desarrollo del LPH se han visto involucrados gran variedad de genes que, en algún momento de la formación del paladar, sufren una mutación y por esto no se produce una fusión adecuada del paladar y/o labio superior. Genes como Shh, Fgf10, Msx1, Pax9 y BMP han sido fuertemente asociados a esta patología, pero en investigaciones más recientes se ha evidenciado que BMP 2 tiene un papel relevante durante la formación del paladar, ya que se expresa en el mesénquima de la línea media palatina durante la palatogénesis, y se ha evidenciado que la ausencia de esta proteína, produce LPH.

Uno de los primeros estudios que se han enfocado en el polimorfismo del Gen BMP2 y la asociación con el LPH es el de Saket en el 2016 en población iraní, en donde evidenciaron que El genotipo BMP2 rs235768 AT fue significativamente mayor en pacientes con fisura labio palatina. Sin embargo, existen algunas investigaciones que refutan este hecho, ya que no encuentran una asociación directa entre LPH y alteraciones en el gen BMP2. En la actualidad hay muy pocos estudios que desarrollen este tema, y las investigaciones existentes tienen tamaños de muestra reducidos que pueden alterar los resultados. Dado que este gen participa de forma importante en la proliferación y fusión de las prolongaciones palatinas, es importante determinar si alteraciones en su secuencia nucleotídica puede estar contribuyendo a la inducción de patologías completas y de alta incidencia como lo es LPH.

Adicionalmente, es importante, encontrar una relación genética entre los pacientes con LPH y sus parientes en primer grado de consanguinidad que presenten anomalías menores, ya que de esta forma se podrá mejorar la evaluación y el diagnóstico genético- hereditario de los pacientes y sus familiares, y también se ampliará el conocimiento científico actual abriendo las posibilidades a futuras investigaciones de este tipo en Colombia. Es de gran importancia realizar este tipo de estudios en nuestro país debido a que hasta la fecha no se han realizado investigaciones con este enfoque y los pocos artículos que se encuentran disponibles son de poblaciones que difieren de la nuestra.

5. Situación Actual

Cada paso de la palatogénesis, desde su inicio hasta la finalización, está sujeto a un control molecular estricto que se rige principalmente por interacciones epitelio-mesenquimales. La regulación molecular rigurosa es sumamente importante, ya que se ha evidenciado que la pérdida de la función de una sola proteína puede generar malformaciones como LPH. En los últimos años se han realizado estudios con el fin de implementar tratamientos multidisciplinarios que eviten complicaciones adicionales a largo plazo. Sin embargo, un mejor conocimiento de la etiopatogenia permitiría instaurar terapéuticas aún más efectivas.

La mayoría de los casos de LPH no son sindrómicos y presentan una contribución genética estimada de 20 a 50% (Marazita, 2002). Estos pueden ocurrir como parte de una herencia mendeliana de alelos en un solo locus genético, mientras que en otros casos se puede presentar debido a reordenamientos cromosómicos recurrentes. Gritli-Linde en una revisión sistemática realizada en el 2007 presentó las ideas actuales sobre los mecanismos moleculares y celulares que regulan el desarrollo palatino y afirmó que, efectivamente, alteraciones como LPH son consecuencia de la alteración en los mecanismos represores o activadores mediados genéticamente, y señala la importancia del equilibrio y control espacio-temporal de las señales moleculares, ya que tanto las deficiencias como las sobreactivaciones, obstaculizan el desarrollo adecuado del paladar y la eliminación de un solo factor específico puede conducir a defectos importantes (Gritli, 2007).

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) han sido implicadas en el desarrollo del paladar de mamíferos, incluidos Bmp2, Bmp4 y Bmp7, que se expresan en los primordios palatinos de murinos en desarrollo y pueden inducir la proliferación celular en el mesénquima palatino anterior.

A su vez, estas proteínas requieren antagonistas que modulen la actividad de señalización como lo son Noggin, Chordin y Folistatin, los cuales se unen preferentemente a BMP2 y evita

su señalización. Se ha evidenciado que los murinos carentes de Noggin exhiben defectos durante la organogénesis, especialmente defectos craneofaciales acompañados de una regulación positiva de las actividades BMP2. He et al, en 2010, concluyeron que la represión de la señalizacion de BMP2 mediada por Noggin en el epitelio palatino es necesaria para el desarrollo normal del paladar (He y col, 2010**).**

Diferentes estudios en los últimos años han afirmado que, el gen BMP2 cumple una función crucial durante el proceso de palatogénesis, porque es uno de los principales subtipos expresados en condrocitos hipertróficos que inducen la formación ósea. Algunas de esas investigaciones han encontrado que sus mutaciones pueden predisponer la presencia de LPH, ya que en murinos con deficiencia de este gen se presenta una reducción significativa del volumen óseo lo cual conlleva a una formación ósea suprimida. Adicionalmente se sabe que este gen es crucial para el desarrollo del esqueleto craneofacial, cardiaco y neural, los cambios en su expresión resultan en alteraciones de estas estructuras. Sin embargo, muchos de los estudios enfocados en la alteración del gen BMP2 y su repercusión en la morfogénesis palatina han tenido éxito limitado. En un estudio clínico realizado por Sahoo en 2011 se observó la presencia de hendidura labial en una paciente con deleción en 20p12p13 del gen BMP2. También se encontró una asociación causal entre la haploinsuficiencia de BMP2 y diferentes síndromes que generan fisuras labiales. Sin embargo, se afirma que las mutaciones de BMP2 pueden mostrar penetrancia incompleta para este tipo de anomalías y que la mutación de este gen en combinación con otros factores genéticos y ambientales generan un mayor riesgo (Sahoo *y col,* 2011).

Otros hallazgos como los observados por Williams en 2012 en el estudio sobre la microdeleción del gen BMP2 y la presencia del LPH, proporcionan evidencia adicional del papel de BMP2 en formas sindrómicas del paladar hendido. En este estudio se informó la gran relación que existe entre la presencia de hendiduras y las microdeleciones asociadas con este gen. Aunque estudios anteriores sobre sus deleciones no describen el paladar hendido en los individuos afectados, en este estudio se reportó el caso de un niño que

presentaba paladar hendido sindrómico debido a una deleción paterna heredada del cromosoma 20p12.3 del gen BMP2. Esto proporciona evidencia adicional de la haploinsuficiencia de BMP2 en la formación de paladar hendido (Williams y col; *2012).*

Es bien sabido que el gen BMP2 desempeña un papel crítico en la formación ósea, además de estar implicado en una amplia gama de funciones en la morfogénesis, incluida la morfogénesis del paladar. En el año 2016 Amasdl y col. reportaron el caso de un paciente marroquí que presentaba retraso psicomotor y hendidura palatina en el que se identificó una deleción de novo del gen BMP2, pudiendo considerarse como un factor etiológico del paladar hendido sindrómico (Amasdl y col, *2016).*

Muchas de las investigaciones realizadas se han enfocado en el LPH asociado a síndromes, sin embargo, Mitra en 2016 realizó un estudio con el fin de evaluar la asociación entre los polimorfismos de BMP2 con el LPH no sindrómico para aclarar el papel potencial de este gen en la etiología de dicha alteración en la población iraní. Los resultados indicaron que los polimorfismos BMP2 se asocian con un mayor riesgo de presentar LPH no sindrómico. Para este estudio se incluyeron 107 recién nacidos con LPH no sindrómico y 186 controles nacidos entre el 2013 y 2015 a quienes se les realizó un análisis de sus muestras sanguíneas extrayendo el DNA, los resultados fueron analizados aplicando la prueba Chi cuadrado, donde se encontró que de los 107 recién nacidos con labio y paladar hendido no sindrómico, 59 niños y 48 niñas la variación en BMP2 rs2335768 AT fueron significativamente mayores (59.8%) que en el grupo control (33.3%) (Saket *y col,* 2016).

En un estudio que tuvo como objetivo evaluar los niveles de expresión de factores de remodelación de matriz extracelular en el tejido facial de los niños con LPH llevado a cabo en el 2018 por Smane en 2018, recogieron muestras de tejido durante la osteoplastia alveolar con el fin de realizar análisis de inmunohistoquímica para evaluar los niveles de proteínas morfogenéticas óseas 2 y 4 (BMP2 / 4). Se evidenció la importancia de la expresión de BMP-

2 tanto en los gérmenes dentales como en los tejidos mandibulares durante la morfogénesis de estas estructuras. En este estudio se observó una presencia significativamente disminuida de BMP2 en niños con LPH lo cual evidencia la importancia de esta proteína en la regulación de la función tisular normal y del proceso de regeneración y remodelación ósea alveolar. (Smane y col, 2018.)

Como ya se ha mencionado, BMP2 es uno de los subgrupos principales de la superfamilia BMP que juega un papel importante en la regulación de la osteogénesis y la condrogénesis. Samadi en 2018 en su estudio de casos y controles de 120 niños con labio y paladar hendido no sindrómico y 215 niños sanos nacidos en el Hospital Mofid de 2013 a 2016 de los cuales se obtuvo muestras de sangre a la cual se le extrajo el ADN genómico y se realizó la amplificación de las secuencias objetivo dentro de los que se encontraba el BMP2. Se encontró en este estudio una frecuencia de los genotipos BMP2 entre 70 y 59.8% mayor en pacientes con LPH en comparación con los valores en el grupo control lo cual indica una correlación positiva entre las variantes de este gen y la aparición de esta alteración en la población iraní. De esta manera se confirmó que el polimorfismo de BMP2 se relaciona con la aparición de LPH. (Samadi y col, 2018)

Dentro de los factores que más comúnmente se han involucrado con la presencia de LPH se incluyen factores de señalización extracelular, factores de transcripción y moléculas de adhesión celular, aunque existen otras proteínas que se asociación con esta alteración. Deshpande en 2019 proporcionaron una revisión de las vías más comúnmente implicadas, en donde afirman que las mutaciones de BMP2 se han asociado con el paladar hendido, igualmente informan que la pérdida de TgfβR3 conduce a la expresión atípica de las vías de señalización de BMP dentro de las crestas palatinas. Tgfβ3 se expresa en las células epiteliales del borde medial, está involucrado en múltiples procesos celulares, incluida la transformación epitelio-mesénquima y la muerte celular programada del epitelio del borde medial del paladar. Otro factor importante en la regulación de la proteína morfogenética ósea BMP 2 en el mesénquima palatino, es el gen SHH. El mal funcionamiento de esta vía de

señalización puede provocar mutaciones de BMP2 lo cual se relaciona con el labio y paladar hendido. (Deshpande y col, 2019)

6. Objetivos

6.1 Objetivo general:

Determinar la presencia de un Polimorfismo del gen BMP2 en individuos con Labio y paladar hendido y sus parientes en primer grado de consanguinidad que presenten anomalías craneofaciales menores.

6.2 Objetivos específicos:

- Determinar la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 en pacientes con labio paladar hendido
- Determinar la presencia de un polimorfismo del gen BMP2 en familiares en primera línea de consanguinidad de los pacientes de LPH, que presenten anomalías craneofaciales menores.
- Establecer posible asociación entre un polimorfismo del gen BMP2 y la presencia de labio y paladar hendido.
- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo de BMP2.

7. Metodología del proyecto

7.1 Tipo de estudio:

Estudio observacional de corte transversal.

7.2 Población y muestra:

Población: Pacientes con LPH completo que asisten a FISULAB y sus parientes en 1er grado de consanguinidad

Muestra:

- 120 pacientes con LPH completo con anomalías menores
- 120 parientes en 1er grado de consanguinidad con anomalías menores

Técnica de muestreo:

- No probabilístico

Criterios de inclusión:

- Individuos que presenten LPH no sindrómico que asistan a la institución FISULAB, se tendrá en cuenta el sexo y el tipo de hendidura en los participantes.

Criterios de inclusión de familiares

- Familiares en primera línea de consanguinidad de los individuos que presentaran LPH, que presenten anomalías craneofaciales menores.

Criterios de exclusión

- Individuos que no aceptaran las condiciones del estudio
- Individuos con LPH diagnosticados como sindrómicos

- Individuos con antecedentes sistémicos de importancia como diabetes no controlada y hemofilia
- Pacientes positivos para Covid-19 en el momento de la toma de la muestra

7.3 Métodos y técnicas para la recolección de la información:

La población evaluada corresponde a los individuos que asisten a los centros integrales de tratamiento de malformaciones craneofaciales en la ciudad de Bogotá (FISULAB). Para seleccionar los pacientes participantes se aplican los criterios de inclusión. Se tomará la población posterior a la aprobación de comité de ética**.**

A cada individuo se le explica el objetivo y finalidad del estudio, y se tendrá que firmar los consentimientos y asentimientos informados para los menores de edad.

7.4 Obtención de las muestras:

A los individuos se les realizará la extracción de DNA a partir de muestras de saliva, en donde se obtendrá aproximadamente 2 ml de saliva de cada uno de los pacientes. A partir de las muestras de saliva recolectadas se obtendrá el ADN de cada uno de los individuos con el fin de realizar análisis genéticos de alteraciones en genes frecuentemente asociados con la presencia de LPH y especialmente se indagará sobre la asociación del gen BMP2 y esta alteración, con el fin de proporcionar mayor evidencia y de esta manera establecer diagnósticos precisos y planes de tratamiento adecuados. Los pacientes y los padres de los pacientes que decidan hacer parte de esta investigación deberán cumplir las citas asignadas para llevar a cabo los procedimientos y ciertas condiciones a la hora de la toma, previamente debe haber firmado el consentimiento informado, después de la obtención de los resultados los pacientes podrán tener acceso a la información.

A) Extracción de DNA:

Para la toma de muestras de saliva se utiliza el kit Oragene DNA OG-500 de dna genotek, y la toma se realiza de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y siguiendo los protocolos de Bioseguridad vigentes actualmente en FISULAB para la atención clínica de pacientes que incluyen los de protección para COVID, la extracción de ADN se realizará a partir de muestras de saliva utilizando el kit "Pure Link Genomic DNA Kits" de Invitrogen. En breve, la lisis celular se realizará utilizando tampón de lisis, proteinasa K y ARNasa A. La mezcla se incubará a 55 o C para promover la digestión de proteínas, y luego se agregará etanol al 100% y se centrifugará a 10,000 g en una columna de unión del ADN.

Posteriormente, se agregará tampón de lavado de etanol, se centrifugará a máximavelocidad y se eluirá el ADN utilizando 50µl de tampón de elución. El ADN obtenido se cuantificará mediante espectrofotometría a 260nm y 280nm para determinar su cantidad y calidad. Se almacenarán las muestras de ADN que los pacientes autoricen durante dos años, para futuros estudios que hagan referencia al mismo tema de investigación.

B) Cuantificación de DNA:

El DNA obtenido de cada muestra de saliva se cuantificará mediante espectrofotometría a 260nm y 280nm para determinar su cantidad y su calidad.

C) Primers para determinación del SNP de BMP2

Los primer que serán usados son:

Secuencia de primers 5´-3´: GAAACGAGTGGGAAAACAACC

GAGACACCTTGTTTCTCCTCCA

Estos primers generan un amplicón de 165pb que contiene el polimorfismo previamente reportado de BMP2 rs235768 A > T (Saket et al, 2016).

D) Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas del SNP

Después de obtener y purificar el DNA, los genotipos para el gen Osr2 se obtendrán por la técnica de PCR TaqMan, según lo reportado previamente (Beloso y col, 2018) (Assmann y col, 2014). El protocolo se basa en la amplificación de una región del DNA usando un par de primers específicos que están cercanos al sitio polimórfico de interés en donde hibridizan las dos sondas TaqMan, las cuales están diseñadas cada una con el nucleótido complementario para la posición polimórfica y también marcadas con un reportero fluorescente diferente.

La amplificación y detección se hará en el equipo CFX-1000 de BioRad usando el sistema Platinum Quantititaive PCR SuperMix-UDG de Invitrogen. Una vez obtenidos los datos, se registrarán las tablas de genotipos y alelos para los análisis de correlación correspondientes.

Para la determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas utilizaremos las siguientes formulas:

$$\textbf{Frecuencias alélicas} \quad \frac{\textbf{n° de copias del alelo}}{\textbf{n° de copias de todos los alelos en el locus}}$$

$$\textbf{Frecuencias genotípicas} \quad \frac{\textbf{n° de individuos con determinado genotipo}}{\textbf{n° total de individuos estudiados}}$$

E) Análisis estadístico:

Los resultados de los polimorfismos se digitarán en una base de datos en Microsoft Excel 2016. Posteriormente se analizará en el programa estadístico Stata versión 10.0. Para evaluar la significancia al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre los dos grupos se utilizará una prueba de Chi cuadrado o test exacto de fisher con un valor de significancia de 0.05.

Las distribuciones genotípicas en la población control serán evaluadas por el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante un Chi cuadrado con un valor de $p < 0.05$.

Para evaluar el riesgo se calcularán las razones de riesgo odds ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95%, considerando significancia estadística si el valor de p obtenido es menor de 0.05.

8. Consideraciones Éticas

a. Sustento Legal:

NUR: 2018-67. La presente investigación se llevará a cabo bajo los principios de beneficencia, no maleficencia, justicia y autonomía y según las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud según la resolución Nº008430 de 1993 del Ministerio de Salud, con previa aprobación del comité de ética de la Universidad el Bosque. Los pacientes y sus representantes legales firmarán asentimiento y consentimiento informado. El artículo 11 de dicha resolución clasifica esta investigación como riesgo mínimo la cual presenta las siguientes características: Son estudios prospectivos que emplean el registro de datos a través de procedimientos comunes consistentes en: exámenes físicos o sicológicos de diagnóstico o tratamientos rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, electrocardiogramas, pruebas de agudeza auditiva, termografías, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, recolección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes decídales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimientos profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas sicológicas a grupos o individuos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico y registrados en este Ministerio o su autoridad delegada, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos que se definen en el artículo 55 de esta resolución. (Ver anexo 1)

b. Consentimiento y Asentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA SUJETOS DE INVESTIGACIÓN DE 14AÑOS A 17 AÑOS

Parte 1: Información acerca de la Investigación.

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y Paladar Hendido y sus padres".

NÚMERO DE PROTOCOLO

NOMBRE DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga,

Ortodoncista, perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores: Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Instituciones participantes: UMIMC-Universidad el Bosque, FISULAB con el apoyo de Smile Train

INTRODUCCIÓN: Te queremos invitar a hacer parte de una investigación donde pretendemos conocer más sobre cómo se produce el labio y paladar hendido y la relación que puede existir entre algunoscambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres, conocidos como anomalías menores o asimetrías faciales fluctuantes, con la presencia del labio y paladar hendidos en sus hijos y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que puedenpresentarse en parte del material que lleva la información sobre cómo es nuestro aspecto o decómo nos vemos físicamente, este material se conoce como genes. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores

herramientas para prevenir y manejarde forma más adecuada y temprana el labio y paladar hendidos.

Para decidir si deseas colaborar con la investigación, recibirás una explicación detallada de miparte. Si no entiendes alguna palabra o procedimiento que se va a realizar con gusto estaré atenta a resolver cualquier duda, o puedes tomarte tu tiempo para averiguar y ampliar la información hasta que quedes satisfecho con la explicación.

Acta 015-2021 del 10 de agosto de 2021

1. ¿POR QUÉ SE ESTÁ HACIENDO ESTA INVESTIGACIÓN?

El objetivo de este estudio es determinar la posible relación entre algunos cambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres (conocidos como anomalías menores o asimetrías faciales fluctuantes) con la presencia de labio y paladar hendidos en sus hijos, y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que pueden presentarse en parte del material genético. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientas para prevenir y manejar de forma más adecuada y temprana el labio y paladar hendidos.

2. ¿EN QUÉ CONSISTE ESTA INVESTIGACIÓN?

Los individuos serán evaluados clínicamente por los investigadores, todos especialistas en FISULAB. La valoración se realizará en el consultorio odontológico de FISULAB y es similar a la que se realiza para la historia clínica, se examinan la cara, la cabeza y la boca, Adicionalmente, se tomarán fotos en detalle de algunas partes de la cara o cabeza donde se presenten pequeñas anomalías e imágenes con un scanner o cámara especial para analizar geométricamente diferentes partes de la cara y la cabeza. Finalmente, se le va a pedir que escupa para tomar una muestra de saliva a partir de la cual será analizado el material genético en el laboratorio, todo esto no se demora más de 2 horas, y puede hacerse

en una o dos sesiones, las cuales se programan de común acuerdo contigo y tu padre o madre. Dentro del horario normal de atención en FISULAB.

3. ¿QUÉ TENGO QUE HACER SI PARTICIPO EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Si decides participar voluntariamente debes aceptar que te realicen 4 cosas: 1. Una valoración de la cara y la cabeza como las que se hacen normalmente en la consulta de primera vez. 2. Toma de unas fotos de partes de la cara o cabeza que presente alguna diferencia. 3. Toma de una imagen con un aparato especializado que se llama scanner facial que funciona como una cámara que toma muchas fotografías por segundo, donde laimagen de su cara y cabeza se ve como una serie de puntos o figuras geométricas (triángulos de puntos) y esto permite analizar la forma detallada las partes de la cara y la cabeza. Y 4. Finalmente te van a dar las indicaciones para escupir en un recipiente especialpara tomar una muestra de saliva que permita analizar los posibles cambios en el materialconocido como gen, que se obtendrán de tu saliva. Al final recibirás un informe personalizado sobre tus resultados, si usted lo solicita.

4. ¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN EN ESTA INVESTIGACIÓN?

En la investigación participarán 124 individuos con secuela de labio y paladar hendido y 124 padres o madres de los individuos con secuela de labio y paladar hendidos.

5. ¿CUÁNTO TIEMPO ESTARÉ EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Solo debes autorizar que te realicen la evaluación clínica, fotos/imágenes y que te tomen la muestra de saliva, posteriormente el investigador se encargará de todo. Este proceso tomaen total 2 horas, que se programan de acuerdo con tu disponibilidad de tiempo, en una o dos sesiones.

6. ¿PUEDO RETIRARME DE LA INVESTIGACIÓN DE MANERA VOLUNTARIA EN CUALQUIER MOMENTO?

Puedes retirarte de la investigación en cualquier momento. Estás de acuerdo en que tu participación en este estudio es completamente voluntaria y que puedes retirarte del mismoen cualquier momento, avisando con tiempo a los investigadores. Esta decisión no afectaráen el presente o futuro del tratamiento que estás recibiendo.

7. ¿QUÉ PASA SI ME RETIRO DE LA INVESTIGACIÓN?

No hay ningún inconveniente si decides retirarte de la investigación, el tratamiento de la condición de labio y paladar hendidos se continuará realizando y no va a verse afectado por tu decisión respecto a tu participación en el estudio.

8. ¿CUÁLES SON LOS RIESGOS O INCOMODIDADES ASOCIADOS A ESTA INVESTIGACIÓN?

La incomodidad que se puede presentar es la misma que se puede generar durante un examen odontológico, ningún procedimiento genera molestias o dolor.

9. ¿OBTENDRÉ ALGÚN BENEFICIO AL PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN?

El beneficio directo es conocer un poco más sobre la condición de labio y paladar hendidos. Tu participación nos ayuda a entender si es posible predecir el riesgo de desarrollar labio y paladar hendidos a través de algunas características faciales, fortaleciendo así el diagnóstico temprano. No recibirán ningún pago o beneficio adicional, esta investigación es independiente del tratamiento que vienes recibiendo en el programa con Fisulab.

10. ¿QUÉ BENEFICIOS OBTENDRÁ LA COMUNIDAD DE ESTA INVESTIGACIÓN?

Mediante esta investigación podremos comprender más aspectos importantes de la condición del labio y paladar hendidos y mejorar el diagnóstico temprano, lo cual ayuda a toda la comunidad afectada por labio y paladar hendidos y a sus familias. Por este motivo los resultados van a ser socializados en eventos académicos y se publicarán en revistas científicas, sin que esto te afecte, tu identidad no va a ser revelada.

11. ¿QUÉ OTRAS OPCIONES TENGO ADEMÁS DE PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Puedes rechazar participar en la investigación. Tu participación en este estudio es completamente voluntaria, por lo que esta decisión no afectará en el presente o futuro tu tratamiento.

12. ¿CÓMO SE VA A MANEJAR LA PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD DE MIS DATOS PERSONALES?

Debes entender que toda la información obtenida en este estudio se mantendrá estrictamente confidencial, con la excepción de que la ley requiera la información. En ningún caso serás identificado por tu nombre, o las fotos o imágenes van a permitir que seas identificado, los resultados para la investigación se marcan mediante un código de identificación, así como en las publicaciones que de ella se deriven. Si existe alguna publicación como resultado de este estudio, no serás identificado por tu nombre, ni serán mostradas las fotos que permitan identificarte. Son manejados por los investigadores manteniendo la confidencialidad. Se mantendrán en un computador con clave y en el archivo de historias. La saliva que no sea utilizada en la prueba inicial se guardará por si serequiere repetir más adelante o por si se requieren pruebas adicionales.

13. ¿QUÉ SUCEDERÍA SI NO SE RESPETA LA CONFIDENCIALIDAD DE MISDATOS?

En ninguna circunstancia serás identificado por tu nombre, sino mediante un código de identificación, durante el desarrollo de esta investigación y en las publicaciones que de ella se deriven. Los resultados de la valoración, las fotos en detalle no permiten que se identifique la persona, muestran solo una parte de la cara según se requiera y del examen de saliva pueden ser socializadas en eventos académicos y en publicaciones científicas. En caso de requerirse presentar alguna de las fotos se editarán para mantener protegida la identidad. En caso de necesitar mostrar la cara completa se te contactará previamente para que lo autorices. Si no lo autorizas no se mostrarán en ningún caso. En caso de que exista una violación de algún aspecto de privacidad y confidencialidad se pueden contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

14. ¿MI PARTICIPACIÓN EN ESTA INVESTIGACIÓN IMPLICA QUE VOY A RECIBIR ALGÚN TIPO DE TERAPIA?

No, esta investigación no implica ningún tipo de terapia, solo se te realizará la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes y de la muestra de saliva.

15. ¿TIENE ALGÚN COSTO MI PARTICIPACIÓN EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Tu participación en esta investigación no tiene ningún costo.

16. ¿RECIBIRÉ ALGÚN TIPO DE COMPENSACIÓN O PAGO?

Participar en esta investigación no te representará ninguna retribución económica.

17. ¿CUÁLES SON MIS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Has tenido la oportunidad de preguntar acerca de este estudio y de tu participación en él. Tienes derecho a que tus preguntas se respondan a tu completa satisfacción. Debes hacer tus preguntas ahora, antes de firmar este documento o en cualquier momento después de firmarlo. Si deseas alguna otra información o tienes preguntas acerca de los derechos de una persona que participa en investigación, puedes contactar a los investigadores de la Universidad El Bosque en cualquier momento a los números de teléfono que se encuentran en la primera página de este documento.

18. ¿CÓMO Y EN QUÉ MOMENTO VOY A CONOCER LOS DATOS FINALES DE LA INVESTIGACIÓN?

Los resultados del mismo serán entregados únicamente a los pacientes que los soliciten y de forma individualizada.

19. ¿QUÉ HAGO SI TENGO ALGUNA PREGUNTA O PROBLEMA?

Puedes llamar a los investigadores en caso de presentar alguna pregunta. También puedes contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

20. Deseo que los resultados del estudio de la muestra de saliva se guarden pordos años y sea usada para otros estudios relacionados con este tema de investigación y no solamente para esta investigación:

SI NO

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Nombre del investigador principal: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga, Ortodoncista,perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores:
Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Parte 2: Formulario de Firmas.

He sido invitado(a) a participar en el estudio "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y paladar Hendido y sus padres". Entiendo que mi participación consistirá en autorizarque me realicen la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes y la toma de la muestra de saliva. Y los resultados pueden ser socializados en eventos académicos o publicaciones por los investigadores y-o las instituciones que representan sin que esto signifique que se va a violar la confidencialidad sobre mi información o identidad.

He leído y entendido este documento de Consentimiento Informado o el mismo se me ha leído o explicado. Todas mis preguntas han sido contestadas claramente y he tenido el tiempo suficiente para pensar acerca de mi decisión. No tengo ninguna duda sobre mi participación, por lo que estoy de acuerdo en hacer parte de esta investigación. Cuando firme este documento de Consentimiento Informado recibiré una copia del mismo (partes 1y 2).

Autorizo el uso de mi muestra de saliva, así como del resultado del examen clínico en

investigaciones futuras.

Nombre del Participante	Firma del Participante y Fecha

Autorizo el uso y la divulgación de mi información a las entidades mencionadas en este Consentimiento Informado para los propósitos descritos anteriormente.
Acepto voluntariamente participar y sé que tengo el derecho de terminar mi participación encualquier momento. Al firmar esta hoja de Consentimiento Informado no he renunciado a ninguno de mis derechos legales.

Nombre del Participante	Firma del Participante y Fecha
Investigador principal	Firma del Investigador y Fecha
Nombre testigo I	Firma testigo I

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES COMO SUJETOS DEINVESTIGACIÓN

Parte 1: Información acerca de la Investigación.

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y Paladar Hendido y sus padres".

NÚMERO DE PROTOCOLO

NOMBRE DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga,

Ortodoncista, perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores: Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Instituciones participantes: UMIMC-Universidad el Bosque, FISULAB con el apoyo de Smile Train

INTRODUCCIÓN: Te queremos invitar a hacer parte de una investigación donde pretendemos conocer más sobre cómo se produce el labio y paladar hendido y la relación que puede existir entre algunoscambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres, conocidos como anomalías menores o asimetrías faciales fluctuantes, con la presencia del labio y paladar hendidos en sus hijos y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que puedenpresentarse en parte del material que lleva la información sobre cómo es nuestro aspecto o decómo nos vemos físicamente, este material se conoce como genes. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientas para prevenir y manejarde forma más adecuada y temprana el labio y paladar hendidos.

Para decidir si deseas colaborar con la investigación, recibirás una explicación detallada de miparte. Si no entiendes alguna palabra o procedimiento que se va a realizar con gusto estaré atenta a resolver cualquier duda, o puedes tomarte tu tiempo para averiguar y ampliar la información hasta que quedes satisfecho con la explicación.

Acta 015-2021 del 10 de agosto de 2021

1. ¿POR QUÉ SE ESTÁ HACIENDO ESTA INVESTIGACIÓN?

El objetivo de este estudio es determinar la posible relación entre algunos cambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres (conocidos como anomalías menores o asimetrías faciales fluctuantes) con la presencia de labio y paladar hendidos en sus hijos, y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que pueden presentarse en parte del material genético. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientas para prevenir y manejar de forma más adecuada y temprana el labio y paladar hendidos.

2. ¿EN QUÉ CONSISTE ESTA INVESTIGACIÓN?

Los individuos serán evaluados clínicamente por los investigadores, todos especialistas en FISULAB. La valoración se realizará en el consultorio odontológico de FISULAB y es similar a la que se realiza para la historia clínica, se examinan la cara, la cabeza y la boca, Adicionalmente, se tomarán fotos en detalle de algunas partes de la cara o cabeza donde se presenten pequeñas anomalías e imágenes con un scanner o cámara especial para analizar geométricamente diferentes partes de la cara y la cabeza. Finalmente, se le va a pedir que escupa para tomar una muestra de saliva a partir de la cual será analizado el material genético en el laboratorio, todo esto no se demora más de 2 horas, y puede hacerse en una o dos sesiones, las cuales se programan de común acuerdo contigo y tu padre o madre. Dentro del horario normal de atención en FISULAB.

3. ¿QUÉ TENGO QUE HACER SI PARTICIPO EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Si decides participar voluntariamente debes aceptar que te realicen 4 cosas: 1. Una valoración de la cara y la cabeza como las que se hacen normalmente en la consulta de primera vez. 2. Toma de unas fotos de partes de la cara o cabeza que presente alguna diferencia. 3. Toma de una imagen con un aparato especializado que se llama scanner facial que funciona como una cámara que toma muchas fotografías por segundo, donde laimagen

de su cara y cabeza se ve como una serie de puntos o figuras geométricas (triángulos de puntos) y esto permite analizar la forma detallada las partes de la cara y la cabeza. Y 4. Finalmente te van a dar las indicaciones para escupir en un recipiente especialpara tomar una muestra de saliva que permita analizar los posibles cambios en el materialconocido como gen, que se obtendrán de tu saliva. Al final recibirás un informe personalizado sobre tus resultados, si usted lo solicita.

4. ¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN EN ESTA INVESTIGACIÓN?

En la investigación participarán 124 individuos con secuela de labio y paladar hendido y 124 padres o madres de los individuos con secuela de labio y paladar hendidos.

5. ¿CUÁNTO TIEMPO ESTARÉ EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Solo debes autorizar que te realicen la evaluación clínica, fotos/imágenes y que te tomen la muestra de saliva, posteriormente el investigador se encargará de todo. Este proceso tomaen total 2 horas, que se programan de acuerdo con tu disponibilidad de tiempo, en una o dos sesiones.

6. ¿PUEDO RETIRARME DE LA INVESTIGACIÓN DE MANERA VOLUNTARIA EN CUALQUIER MOMENTO?

Puedes retirarte de la investigación en cualquier momento. Estás de acuerdo en que tu participación en este estudio es completamente voluntaria y que puedes retirarte del mismoen cualquier momento, avisando con tiempo a los investigadores. Esta decisión no afectaráen el presente o futuro del tratamiento que estás recibiendo.

7. ¿QUÉ PASA SI ME RETIRO DE LA INVESTIGACIÓN?

No hay ningún inconveniente si decides retirarte de la investigación, el tratamiento de la condición de labio y paladar hendidos se continuará realizando y no va a verse afectado por tu decisión respecto a tu participación en el estudio.

8. ¿CUÁLES SON LOS RIESGOS O INCOMODIDADES ASOCIADOS A ESTA INVESTIGACIÓN?

La incomodidad que se puede presentar es la misma que se puede generar durante un examen odontológico, ningún procedimiento genera molestias o dolor.

9. ¿OBTENDRÉ ALGÚN BENEFICIO AL PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN?

El beneficio directo es conocer un poco más sobre la condición de labio y paladar hendidos. Tu participación nos ayuda a entender si es posible predecir el riesgo de desarrollar labio y paladar hendidos a través de algunas características faciales, fortaleciendo así el diagnóstico temprano. No recibirán ningún pago o beneficio adicional, esta investigación es independiente del tratamiento que vienes recibiendo en el programa con Fisulab.

10. ¿QUÉ BENEFICIOS OBTENDRÁ LA COMUNIDAD DE ESTA INVESTIGACIÓN?

Mediante esta investigación podremos comprender más aspectos importantes de la condición del labio y paladar hendidos y mejorar el diagnóstico temprano, lo cual ayuda a toda la comunidad afectada por labio y paladar hendidos y a sus familias. Por este motivo los resultados van a ser socializados en eventos académicos y se publicarán en revistas científicas, sin que esto te afecte, tu identidad no va a ser revelada.

11. ¿QUÉ OTRAS OPCIONES TENGO ADEMÁS DE PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Puedes rechazar participar en la investigación. Tu participación en este estudio es completamente voluntaria, por lo que esta decisión no afectará en el presente o futuro tu tratamiento.

12. ¿CÓMO SE VA A MANEJAR LA PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD DE MIS DATOS PERSONALES?

Debes entender que toda la información obtenida en este estudio se mantendrá estrictamente confidencial, con la excepción de que la ley requiera la información. En ningún caso serás identificado por tu nombre, o las fotos o imágenes van a permitir que seas identificado, los resultados para la investigación se marcan mediante un código de identificación, así como en las publicaciones que de ella se deriven. Si existe alguna publicación como resultado de este estudio, no serás identificado por tu nombre, ni serán mostradas las fotos que permitan identificarte. Son manejados por los investigadores manteniendo la confidencialidad. Se mantendrán en un computador con clave y en el archivo de historias. La saliva que no sea utilizada en la prueba inicial se guardará por si serequiere repetir más adelante o por si se requieren pruebas adicionales.

13. ¿QUÉ SUCEDERÍA SI NO SE RESPETA LA CONFIDENCIALIDAD DE MISDATOS?

En ninguna circunstancia serás identificado por tu nombre, sino mediante un código de identificación, durante el desarrollo de esta investigación y en las publicaciones que de ella se deriven. Los resultados de la valoración, las fotos en detalle no permiten que se identifique la persona, muestran solo una parte de la cara según se requiera y del examen de saliva pueden ser socializadas en eventos académicos y en publicaciones científicas. En

caso de requerirse presentar alguna de las fotos se editarán para mantener protegida la identidad. En caso de necesitar mostrar la cara completa se te contactará previamente para que lo autorices. Si no lo autorizas no se mostrarán en ningún caso. En caso de que exista una violación de algún aspecto de privacidad y confidencialidad se pueden contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

14. ¿MI PARTICIPACIÓN EN ESTA INVESTIGACIÓN IMPLICA QUE VOY A RECIBIR ALGÚN TIPO DE TERAPIA?

No, esta investigación no implica ningún tipo de terapia, solo se te realizará la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes y de la muestra de saliva.

15. ¿TIENE ALGÚN COSTO MI PARTICIPACIÓN EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Tu participación en esta investigación no tiene ningún costo.

16. ¿RECIBIRÉ ALGÚN TIPO DE COMPENSACIÓN O PAGO?

Participar en esta investigación no te representará ninguna retribución económica.

17. ¿CUÁLES SON MIS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Has tenido la oportunidad de preguntar acerca de este estudio y de tu participación en él. Tienes derecho a que tus preguntas se respondan a tu completa satisfacción. Debes hacer tus preguntas ahora, antes de firmar este documento o en cualquier momento después de firmarlo. Si deseas alguna otra información o tienes preguntas acerca de los derechos de una persona que participa en investigación, puedes contactar a los investigadores de la

Universidad El Bosque en cualquier momento a los números de teléfono que se encuentran en la primera página de este documento.

18. ¿CÓMO Y EN QUÉ MOMENTO VOY A CONOCER LOS DATOS FINALES DE LA INVESTIGACIÓN?

Los resultados del mismo serán entregados únicamente a los pacientes que los soliciten y de forma individualizada.

19. ¿QUÉ HAGO SI TENGO ALGUNA PREGUNTA O PROBLEMA?

Puedes llamar a los investigadores en caso de presentar alguna pregunta. También puedes contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

20. Deseo que los resultados del estudio de la muestra de saliva se guarden pordos años y sea usada para otros estudios relacionados con este tema de investigación y no solamente para esta investigación:

SI NO

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Nombre del investigador principal: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga, Ortodoncista,perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores:
Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Parte 2: Formulario de Firmas.

He sido invitado(a) a participar en el estudio "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y paladar Hendido y sus padres". Entiendo que mi participación consistirá en autorizarque me realicen la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes y la toma de la muestra de saliva. Y los resultados pueden ser socializados en eventos académicos o publicacionespor los investigadores y-o las instituciones que representan sin que esto signifique que se va a violar la confidencialidad sobre mi información o identidad.

He leído y entendido este documento de Consentimiento Informado o el mismo se me ha leído o explicado. Todas mis preguntas han sido contestadas claramente y he tenido el tiempo suficiente para pensar acerca de mi decisión. No tengo ninguna duda sobre mi participación, por lo que estoy de acuerdo en hacer parte de esta investigación. Cuando firme este documento de Consentimiento Informado recibiré una copia de este (partes 1y 2).

Autorizo el uso de mi muestra de saliva, así como del resultado del examen clínico en investigaciones futuras.

_____ _____

Nombre del Participante Firma del Participante y Fecha

Autorizo el uso y la divulgación de mi información a las entidades mencionadas en este Consentimiento Informado para los propósitos descritos anteriormente.

Acepto voluntariamente participar y sé que tengo el derecho de terminar mi participación

encualquier momento. Al firmar esta hoja de Consentimiento Informado no he renunciado a ninguno de mis derechos legales.

_____	_____
Nombre del Participante	Firma del Participante y Fecha
_____	_____
Investigador principal	Firma del Investigador y Fecha
_____	_____
Nombre testigo I	Firma testigo I

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES COMO REPRESENTANTELEGAL DEL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

Parte 1: Información acerca de la Investigación.

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y Paladar Hendido y sus padres".

NÚMERO DE PROTOCOLO

NOMBRE DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga, Ortodoncista, perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores: Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Instituciones participantes: UMIMC-Universidad el Bosque, FISULAB con el apoyo de Smile Train

INTRODUCCIÓN

Su hijo(a) ha sido elegido(a) para participar en una investigación donde pretendemos conocermás sobre cómo se produce el labio y paladar hendido y la relación que puede existir entre algunos cambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres, conocidos como anomalíasmenores o asimetrías faciales fluctuantes, con la presencia del labio y paladar hendidos ensus hijos y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que puedenpresentarse en parte del material que lleva la información sobre cómo es nuestro aspecto o decómo nos vemos físicamente, este material se conoce como genes (en este caso un polimorfismo del gen BMP2, que significa una variación en la secuencia de este gen). Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientaspara prevenir y manejar de forma más adecuada y temprana el labio y paladar hendidos.

Para decidir si desea colaborar con la investigación usted recibirá una explicación detallada de mi parte. Si no entiende alguna palabra o procedimiento que se va a realizar con gusto estaré atenta a resolver cualquier duda, o puede tomarse su tiempo para averiguar y ampliar la información hasta que quede satisfecho con la explicación.

Acta 015-2021 del 10 de agosto de 2021

1. POR QUÉ SE ESTÁ HACIENDO ESTA INVESTIGACIÓN?

El objetivo de este estudio es determinar la posible relación entre algunos cambios muy pequeños en la cara o cabeza de los padres (conocidos como anomalías menores o asimetrías faciales) con la presencia de labio y paladar hendidos en sus hijos, y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que pueden presentarse en parte del material genético. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientas para prevenir y manejar de forma más adecuada y

temprana el labio y paladar hendidos.

2. ¿EN QUÉ CONSISTE ESTA INVESTIGACIÓN?

A su hijo(a) se le realizará una evaluación clínica por parte de los investigadores, todos especialistas de FISULAB. La valoración se realizará en el consultorio odontológico de FISULAB y es similar a la que se realiza para la historia clínica, será igual a la que se le vaa realizar a usted, se va a realizar un evaluación de la cabeza, la cara y la boca, se van a observar si hay diferencias en el cráneo, cara, ojos, nariz, pabellón auricular, boca y dientes. Adicionalmente, se tomarán fotos de algunas partes de la cara o cabeza donde sepresenten estas pequeñas anomalías y se tomarán imágenes con un scaner o cámara especial para analizar geométricamente diferentes partes de la cara y la cabeza. Finalmente, se le va a pedir que escupa para tomar una muestra de saliva a partir de la cualserá analizado el material genético (ADN).

3. ¿QUÉ TIENE QUE HACER MI HIJO(A) SI PARTICIPA EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Usted solo debe autorizar que le realicen a su hijo(a) estos 4 pasos: 1. Valoración clínica a su hijo(a) (para evaluar la presencia de pequeñas anomalías en cara y cabeza) y que le tomen las fotos e imágenes con el scanner, así como la muestra de saliva. Todo el procesose demora máximo 2 horas, puede realizarse en una sola sesión o en diferentes momentos según usted lo solicite. La cita para este proceso será acordada con usted previamente. Es importante que sepa que se va a contar con la autorización de su hijo(a) para la participación, si el no acepta participar, no se realizarán estos procedimientos.

4. ¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN EN ESTA INVESTIGACIÓN?

En la investigación participarán 124 individuos con secuela de labio y paladar hendido y 124 padres o madres de las personas con secuela de labio y paladar hendidos.

5. ¿CUÁNTO TIEMPO ESTARÁ MI HIJO(A) EN ESTA INVESTIGACIÓN?

Usted solo debe autorizar que le realicen la evaluación clínica a su hijo(a), fotos/imágenes y que le tomen la muestra de saliva, posteriormente el investigador se encargará de todo. Este proceso toma en total 2 horas, que se programan de acuerdo con su disponibilidad de tiempo.

6. ¿PUEDO RETIRAR A MI HIJO(A) DE LA INVESTIGACIÓN DE MANERA VOLUNTARIA EN CUALQUIER MOMENTO?

Usted puede decidir retirar a su hijo(a) de la investigación en cualquier momento. Usted está de acuerdo con que la participación de su hijo(a) en este estudio es completamente voluntaria y que puede retirarse del mismo en cualquier momento, avisando con tiempo a los investigadores. Esta decisión no afectará en el presente o futuro el tratamiento que está recibiendo su hijo(a).

7. QUÉ PASA SI RETIRO A MI HIJO(A) DE LA INVESTIGACIÓN?

No hay ningún inconveniente si usted decide retirar a su hijo(a) de la investigación, el tratamiento de la condición de labio y paladar hendidos se continuará realizando y no vaa verse afectado por su decisión respecto a su participación en el estudio.

8. ¿CUÁLES SON LOS RIESGOS O INCOMODIDADES ASOCIADOS A ESTA INVESTIGACIÓN?

La incomodidad que se puede presentar es la misma que se puede generar durante un examen odontológico, ningún procedimiento genera molestias o dolor.

9. ¿MI HIJO(A) OBTENDRÁ ALGÚN BENEFICIO AL PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN?

El beneficio directo es conocer un poco más sobre la condición de labio y paladar hendidos. La participación de su hijo(a) nos ayuda a entender si es posible predecir el riesgo de desarrollar labio y paladar hendidos a través de algunas características faciales, fortaleciendo así el diagnóstico temprano.

10. ¿QUÉ BENEFICIOS OBTENDRÁ LA COMUNIDAD DE ESTA INVESTIGACIÓN

Mediante esta investigación podremos comprender más aspectos importantes de la condición del labio y paladar hendidos y mejorar el diagnóstico temprano, lo cual ayuda a toda la comunidad afectada por labio y paladar hendidos y a sus familias.

11. ¿QUÉ OTRAS OPCIONES TIENE MI HIJO(A) ADEMÁS DE PARTICIPAR ENESTA INVESTIGACIÓN?

Usted puede rechazar la participación de su hijo(a) en la investigación. Su participación en este estudio es completamente voluntaria, por lo que esta decisión no afectará en el presente o futuro el tratamiento de su hijo(a).

12. ¿CÓMO SE VA A MANEJAR LA PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS PERSONALES DE MI HIJO(A)?

Usted debe entender que toda la información obtenida en este estudio se mantendrá estrictamente confidencial, con la excepción de que la ley requiera la información. En ningún caso su hijo(a) será identificado(a) por su nombre, sino mediante un código de identificación, durante el desarrollo de esta investigación y en las publicaciones o socialización en eventos académicos que de ella se deriven. Si existe alguna publicación como resultado de este estudio, su hijo(a) no será identificado(a) por su nombre, ni serán mostradas las fotos que permitan identificarlo(a). Toda la información se mantendrá en el

computador bajo clave a cargo de los investigadores.

13. ¿QUÉ SUCEDERÍA SI NO SE RESPETA LA CONFIDENCIALIDAD DE LOSDATOS DE MI HIJO(A)?

En ninguna circunstancia su hijo(a) será identificado(a) por su nombre, sino mediante un código de identificación, durante el desarrollo de esta investigación y en las publicaciones que de ella se deriven. Los resultados de la valoración, las fotos son en detalles de partes de la cara o cabeza y del examen de saliva pueden ser socializados en eventos académicosy en publicaciones científicas por parte de los investigadores y de las instituciones que representan. En caso de requerirse presentar alguna de las fotos se editará para mantener protegida la identidad. En caso de necesitar mostrar la cara completa de su hijo(a) se le contactará previamente para que usted y él lo autoricen. Si no lo autoriza no se mostrarán en ningún caso. En caso de que exista una violación de algún aspecto de privacidad y confidencialidad se pueden contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

14. ¿LA PARTICIPACIÓN DE MI HIJO(A) EN ESTA INVESTIGACIÓN IMPLICA QUEVA A RECIBIR ALGÚN TIPO DE TERAPIA?

No, esta investigación no implica ningún tipo de terapia, a su hijo(a) solo se le realizará la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes y de la muestra de saliva. Estos procedimientos son independientes del tratamiento que viene recibiendo.

15. ¿TIENE ALGÚN COSTO LA PARTICIPACIÓN DE MI HIJO(A) EN ESTA INVESTIGACIÓN?

La participación de su hijo(a) en esta investigación no tiene ningún costo.

16. ¿MI HIJO RECIBIRÁ ALGÚN TIPO DE COMPENSACIÓN O PAGO?

Participar en esta investigación no le representará ninguna retribución económica a su hijo(a).

17. ¿CUÁLES SON LOS DERECHOS DE MI HIJO(A) COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Usted ha tenido la oportunidad de preguntar acerca de este estudio y la participación de su hijo(a) en él. Tiene derecho a que sus preguntas se respondan a su completa satisfacción. Usted debe hacer sus preguntas ahora, antes de firmar este documento o en cualquier momento después de firmarlo. Si usted desea alguna otra información o tiene preguntas acerca de los derechos de una persona que participa en investigación, puede contactar a los investigadores de la Universidad El Bosque en cualquier momento a los números de teléfono que se encuentran en la primera página de este documento.

18. ¿CÓMO Y EN QUÉ MOMENTO VOY A CONOCER LOS DATOS FINALES DE LA INVESTIGACIÓN?

Los resultados del mismo serán entregados a los pacientes de forma individualizada una vez se finalice el estudio y ustedes soliciten conocerlos.

19. ¿QUÉ HAGO SI TENGO ALGUNA PREGUNTA O PROBLEMA?

Usted puede llamar a los investigadores en caso de presentársele alguna pregunta. También puede contactar con el Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520, comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Comité Institucional de Ética en Investigación, 6489000 extensión 1520,

comiteetica@unbosque.edu.co, Calle 132 No.7A-63.

INFORMACIÓN DE CONTACTO DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Nombre del investigador principal: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga, Ortodoncista, perteneciente al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores:

Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Parte 2: Formulario de Firmas.

Mi hijo(a) ha sido invitado(a) a participar en el estudio "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y paladar Hendido y sus padres". Entiendo que mi participación consistirá en autorizar que le realicen la evaluación clínica, la toma de fotos/imágenes, la toma de la muestra de saliva a mi hijo(a).y que los resultados del estudio puedan ser socializados en eventos académicos o publicados sin que esto lo afecte en ninguna forma, puesto que se va a mantener la confidencialidad de los datos y de la identidad. He leído y entendido este documento de Consentimiento Informado o el mismo se me ha leído o explicado. Todas mis preguntas han sido contestadas claramente y he tenido el tiempo suficiente para pensar acerca de mi decisión. No tengo ninguna duda sobre la participación de mi hijo(a), por lo que estoy de acuerdo en que haga parte de esta investigación. Cuando firme este documento de Consentimiento Informado recibiré una copia del mismo (partes 1 y 2).

Autorizo el uso de la muestra de saliva de mi hijo(a), así como del resultado del examen clínico en investigaciones futuras relacionadas con el mismo tema.

_____	_____
Nombre del Participante	Firma del Participante y Fecha

Autorizo el uso y la divulgación de la información de mi hijo(a) a las entidades mencionadas en este Consentimiento Informado para los propósitos descritos anteriormente.
Acepto voluntariamente que mi hijo(a) participe y sé que tengo el derecho de terminar su participación en cualquier momento. Al firmar esta hoja de Consentimiento Informado no herenunciado a ninguno de los derechos legales de mi hijo(a).

Nombre del Participante	Firma del Participante y Fecha
Nombre del representante legal	Firma del Participante y Fecha
Investigador principal	Firma del Investigador y Fecha
Nombre del Testigo (I)	Firma del Testigo (I) y Fecha
Nombre del Testigo (II)	Firma del Testigo (II) y Fecha

ASENTIMIENTO INFORMADO

Documento de Asentimiento Informado para niños/as de 8 a 17 años, invitados a participar en el proyecto "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y paladar Hendido y sus padres".
Investigador principal: CAROLINA TÉLLEZ CONTI. Odontóloga, Ortodoncista, perteneciente

al grupo UMIMC, Unidad de Manejo Interdisciplinario de Malformaciones Cráneofaciales, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C. Teléfono: (1) 6489000 ext. 1256.

Coinvestigadores: Lina Escobar, Zita Bendahan, María Clara González, Ingrid Mora, Martha Rojas, David Díaz

Título de la investigación: "Asociación genotipo-fenotipo en pacientes con Labio y Paladar Hendido y sus padres".

Instituciones participantes: UMIMC-Universidad el Bosque, FISULAB con el apoyo deSmile Train

PARTE I: INFORMACIÓN

Introducción

Mi nombre es:_____y mi trabajo consiste en investigar las características de individuos con labio y paladar fisurado. Quiero invitartea formar parte de este estudio, primero voy a explicarte en qué consiste y luego, puedes elegir si participas o no. Tus padres/acudientes ya saben sobre la investigacióny saben que te estamos preguntando a ti también si quieres participar. Si decides participar en la investigación, tus padres/acudientes también tienen que aceptarlo. Pero si no deseas hacer parte en la investigación, no tienes por qué hacerlo, aun cuando tus padres lo hayan aceptado. Puedes preguntar o hablar sobre cualquier temade este documento con tus padres, amigos o, cualquier otra persona con la que te sientas cómodo. Puedes decidir si participas o no después de haberlo discutido con ellos.

Puede que haya algunas palabras que no entiendas o cosas que quieras que te las explique mejor porque estás interesado o preocupado por ellas. Por favor, puedes pedirme que pare en cualquier momento y me tomaré el tiempo para explicártelo.

Acta 015-2021 del 10 de agosto de 2021

1. Objetivo: ¿Por qué se está haciendo este estudio?

Este estudio se realiza para conocer más sobre cómo se produce el labio y paladarhendidos y la relación que puede existir entre algunos cambios muy pequeños en lacara o cabeza de los padres con la presencia de labio y paladar hendidos en los hijos, y la asociación entre estos cambios con algunas modificaciones que pueden presentarse en alguna parte del material que lleva la información sobre cómo es nuestro aspecto o de cómo nos vemos físicamente, este material se conoce como genes. Queremos estudiar esta relación, para que en un futuro podamos tener mejores herramientas para prevenir y manejar en forma más adecuada y tempranael labio y paladar hendidos.

2. Elección de participantes: ¿Por qué me pides a mí?

Porque tienes secuela de labio y paladar hendidos y puedes ayudarnos a saber si esto tiene relación con algunos cambios en tu padre o madre, así como en alguna parte de uno de los genes que llevan el material con la información para el desarrollode la cara.

3. Tu participación es voluntaria: ¿Tengo que hacer esto?

No tienes por qué participar en este estudio si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no en la investigación, está bien y no cambiará nada. Incluso si dices "sí" ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien.
He preguntado al niño/a y entiende que su participación es voluntaria _____

4. Sobre los procedimientos ¿Qué me va a suceder?

Si decides que quieres participar solo debes aceptar que te realicen 4 cosas: 1. Una valoración de la cara y la cabeza como las que se hacen normalmente en la consulta de primera vez. 2. También se van a tomar unas fotos de partes de la cara o cabezaque presente alguna diferencia. 3. Te van a tomar Una imagen con un scanner facialque funciona como una cámara especial donde la imagen de tu cara y cabeza se ve como una serie de puntos

o figuras geométricas (triángulos de puntos) y esto permite analizar la forma de las partes de la cara y la cabeza. Y 4. Finalmente te van a dar las indicaciones para escupir en un recipiente especial para tomar una muestra de saliva que permita analizar los posibles cambios en el material conocidocomo gen.

Todos los procedimientos se realizan en el consultorio de FISULAB y son programados previamente de acuerdo con el tiempo que tengan y tus padres. Si serealizan en una sola cita no demoran más de 2 horas.

He preguntado al niño/a y entiende los procedimientos _____

5. Riesgos: ¿Es esto malo o peligroso para mí?

Lo que vamos a hacer no es malo ni peligroso, no vas a sentir dolor, ni molestia, los procedimientos son muy parecidos a los de rutina que ya conoces, sin embargo, tomaremos todas las precauciones necesarias para que te sientas cómodo en todo momento. Los 4 procedimientos en total no toman más de 2 horas y se pueden hacer en diferentes momentos permitiendo que descanses entre ellos.

6. Molestias: ¿Dolerá?

No. Ninguno de los procedimientos causa dolor, molestias o tiene riesgos diferentesa los de cualquier valoración o examen clínico de la boca, o a la toma de una fotografía de rutina, tomaremos todas las precauciones necesarias para que te sientas cómodo en todo momento.

He preguntado al niño/a y entiende los riesgos y molestias _____

7. Beneficios: ¿Hay algo bueno que vaya a ocurrirme?

El mayor beneficio que obtienes si participas en este estudio es que ayudarás a conocer más sobre el labio y paladar hendidos y los cambios que puedes presentaren el gen que vamos a estudiar.

He preguntado al niño/a y entiende los beneficios _____

8. Incentivos: ¿Obtengo algo por participar en la investigación?

Ni tu ni tus padres recibirán dinero por tu participación en este estudio. Tú y tus padres conocerán los resultados de tu valoración, así como de los análisis que te realicen en el laboratorio, una vez se tengan los resultados y ustedes soliciten conocerlos. Para esto, nos estaremos comunicando para entregarles la informaciónen forma personalizada.

9. Confidencialidad: ¿Van a saber todos acerca de esto?

Las muestras, los resultados de la valoración, y las imágenes solo serán manejadaspor los investigadores a cargo, se guardarán en bases de datos seguras de tal formaque no puedan otras personas acceder a tu identificación. No diremos a otras personas que estás participando en este estudio y no compartiremos información sobre ti a nadie que no trabaje en el estudio. Cuando el estudio finalice, lainformación recogida sobre ti será retirada y nadie, aparte de los investigadores, podrá verla. Cualquier información tuya tendrá un número en vez de tu nombre. Sólolos investigadores sabrán cuál es su número y se guardará la información con llaveo claves. Se reserva la privacidad de tu identidad en todo momento. La muestra desaliva que no se use en la primera evaluación se guardara por si es necesario repetiralguna prueba o realizar evaluaciones complementarias.
Los resultados del trabajo serán compartidos para enseñar a estudiantes de la saludy nunca se mostrarán a personas con otros intereses. Cuando salgan los resultadosdel estudio los investigadores no van a permitir que seas reconocido o puedas afectarte de alguna manera.

10. Compartir los resultados: ¿Me informará de los resultados?

Si deseas conocer los resultados de este estudio, me puedes preguntar cuando lo terminemos y con gusto te los explicaré a ti y a tus padres. Esto se realizará en forma personalizada contigo o tus padres.

11. Derecho a negarse o a retirarse de la investigación. ¿Puedo elegir no participar en el estudio? ¿Puedo cambiar de idea?

No tienes por qué participar en este estudio si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no en el estudio; está bien y no cambiará nada. Incluso si dices "sí" ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien todavía.

12. A quién contactar: ¿Con quién puedo hablar para hacerpreguntas?

Puedes hacerme preguntas ahora o más tarde. Tengo un número de teléfono y unadirección donde tú o tus padres/acudientes pueden encontrarnos.

13. ¿Puedo decidir si quiero que la muestra de saliva se guarde pordos años y se utilice para otros estudios?

Si, existe la opción de que aceptes o no utilizar tu muestra de saliva para otros estudios relacionados con este tema de investigación. Si elegiste ser parte de esta investigación, también te daré una copia de esta información para ti. Puedes pedir a tus padres que lo examinen si quieres.

PARTE 2: FORMULARIO DE ASENTIMIENTO

Entiendo que esta investigación quiere estudiar algunos aspectos sobre cómo se produce el labio y paladar hendidos y la relación que puede existir entre algunos cambios muy pequeños en la cara o cabeza de mis padres con la presencia de labioy paladar hendidos en mí, y la asociación entre estos cambios con algunasmodificaciones que pueden presentarse en alguna parte del material que lleva la información sobre cómo debe ser mi aspecto físico (genes).

Además, entiendo que los resultados de las evaluaciones, de mi muestra de saliva,y las imágenes y fotos pueden ser usadas en investigaciones futuras y los resultados pueden

mostrarse en reuniones académicas o en publicaciones científicas sin que se reconozca mi cara o se sepa que soy yo.

"Sé que puedo elegir participar en el estudio o no hacerlo. Sé que puedo retirarme cuando quiera. He leído esta información (o se me ha leído la información) y la entiendo. Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde si las tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo".

"Acepto participar en la investigación".Ó

"Yo no deseo participar en la investigación y no he firmado el asentimiento que sigue".

_____ (iniciales del niño/menor)

Sólo si el niño/a asiente:

Nombre del niño/a _____

Firma del niño/a: _____

Fecha: _____

Sólo si el niño/a acepta guardar y usar su saliva en estudios posterioresrelacionados con este tema:

Nombre del niño/a _____

Firma del niño/a:_____

Fecha: _____

Si es analfabeto:

Una persona que sepa leer y escribir debe firmar (si es posible, esta persona debería ser seleccionada por el participante, no ser uno de los padres, y no deberíatener conexión con el equipo de investigación). Los niños analfabetas deberían incluir su huella dactilar también.

"He sido testigo de la lectura exacta del documento de asentimiento al participante

potencial y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmo que ha dado su asentimiento libremente".

Nombre del testigo (diferente de los padres) _____

Huella dactilar del niño/menor

Firma del testigo _____

Fecha _____

Copia dada al participante_____(iniciales del investigador/asistente)

El padre/madre/apoderado ha firmado un consentimiento informado _Si _No (iniciales del investigador/asistente)_____.

Información:

Carolina Téllez Conti
Investigadora principal
Unidad de Manejo Integral de Malformaciones Cráneofaciales (UMIMC)
Contacto 6489000 extensión 1256.
tellezcarolina@unbosque.edu.co
Universidad El Bosque

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN.
Contacto: 648900 ext. 1520, comiteetica@unbosque.edu.co,
Calle 132 No.7A-63 piso 2 y 3.
Universidad El Bosque.

9. Resultados

9.1 Calibración anomalías menores en pacientes con labio y paladar fisurado y padres en 1er grado de consanguineidad:

Se realizó una calibración inter e intraexaminador en donde:

- Se recibe una charla virtual en la cual la Dra. Carolina Téllez realiza una explicación minuciosa sobre las anomalías menores asociadas al LPH las cuales podremos encontrar en los pacientes que asisten a FISULAB y sus familiares en primer grado de consanguinidad.
- Se realiza una explicación clínica en la cual toma mediciones antropométricas en 3 pacientes asistentes a FISULAB y se analizan anomalías menores como: Ptosis palpebral, apéndices auriculares, implantación baja del cabello y las orejas, asimetrías faciales entre otras.
- Se realizó la calibración inter examinador a ciego sobre 5 pacientes de FISULAB previa firma de consentimiento informado. Se toman mediciones antropométricas, se evalúa la presencia de anomalías menores por parte de la Dra. Carolina Téllez, Daniela Castillo y Laura Díaz. La presencia de anomalías se registra con el Numero 1, la ausencia de anomalías se registra con el número 0. Como instrumentos de medición se usó regla Protactor, regla flexible, seda dental y baja lenguas se registraron los datos en el formato correspondiente para cada paciente para posteriormente realizar el análisis estadístico con base a los datos registrados. (Ver anexo 2)
- El Gold estándar para esta calibración fue la Dra. Carolina Téllez.
- A los 15 días se repitieron las mediciones con los mismos participantes que asistieron a FISULAB
- Con los datos obtenidos se realizó el análisis de la calibración inter e intra-examinador
- Los datos fueron consignados en una plantilla elaborada en Microsoft Excel Base.

Tabla 1: Resultado calibración. Medidas cualitativas

	interexaminador		intraexaminador	
	E1	E2	E1	E2
Poliosis_GS	1	1	1,000	1
Implantación baja_GS	1	1	1	1
Calvicie frontal_GS	1	1	1	1
Cabello en forma de Pico de viuda_GS	1	1	1	1
Linea de cabello en parte anterior GS	1	1	1	1
Asimetria facial GS	0,545	0,545	0,615	1,000
Depresión metópica_GS	1	1	1	1
Cresta metópica prominente_GS	1	1	1	1
Ectropión_GS	1	1	1	1
Asimetria ocular - GS	1	1	1	1
Coloboma ocular_GS	1	1	1	1
Blefarofimosis_GS	1	1	1	1
Tposis palpebral_GS	1	1	1	1
Pliegues Epicantales_GS	1	1	1	0,615
Exoftalmos_GS	1	1	1	1
Displasia frontonasal_GS	1	1	1	1
Desviación del tabique y punta nasal no (trauma)_GS	1	1	1	1
Asimetría de narinas_GS	0	0,545	0	1
Implantacion baja - GS	1	1	1	1
Asimetria en orejas-GS	1	1	1	1
Apendices auriculares _GS	1	1	1	1
Orejas en pantalla-GS	1	1	1	1
Hoyuelos Preauricular_GS	1	1	1	0
Asimetria labio superior-GS	1	1	0,615	1
Asimetria Labio inferior-GS	1	1	1	1
Hoyuelos en mejillas -GS	1	1	1	1
Hoyuelo en menton-GS	1	1	1	1
Uvula Bifida-GS	1	1	1	1
Lengua	1	1	1	1
Tamaño-GS	1	1	1	1
Numero-GS	1	1	1	1
Forma-GS	1	1	1	1
Mordida cruzada-GS	1	1	1	1

Los datos arrojados para la calibración de medidas cualitativas tuvieron un Kappa de 1.0. Las medidas de asimetría facial, asimetría en narinas, asimetría del labio superior y presencia de pliegues epicantales, requirieron un reentrenamiento por parte de las examinadoras 1 y 2, lo cual se realizó antes de iniciar la recolección de las muestras.

Tabla 2: Resultado calibración. Medidas cuantitativas

	Interexaminador		Intraexaminador	
Gl- Op-GS	0,903	0,8	0,973	0,914
Bi temporal	0,876	1	0,939	0,924
Gl-Me-GS	0,973	0,989	0,987	0,987
indice facial-GS	0,907	0,924	0,92	0,97
Ancho bicigomatico-GS	0,878	0,925	0,852	0,857
Eu-Eu-GS	0,851	0,947	0,871	0,851
Indice craneal-GS	0,78	0,888	0,991	0,984
Distancia intercantal externa-GS	0,989	0,995	0,996	0,989
Distancia intercantal interna-GS	0,8	0,684	0,818	0,883

Los datos arrojados para la calibración de medidas cuantitativas tuvieron un índice de correlación Intraclase de 0.8 aproximadamente, lo cual representa una calibración buena. La medida de distancia intercantal interna requirió un reentrenamiento por parte del examinador, lo cual se realizó antes de iniciar la recolección de las muestras.

9.2 Escáner facial y recolección muestras de saliva:

El 19 de abril de 2022 se realizó la primera prueba del escáner facial con la Dra. Carolina Téllez, en donde se tomó los registros faciales en una de las asistentes de la fundación FISULAB. Se realizó la explicación por parte de la Dra. Téllez sobre el funcionamiento y procesamiento de las imágenes obtenidas. También se establecieron parámetros importantes para tener en cuenta para llevar a cabo el escaneo en los pacientes que harán parte del estudio. Dentro de estos parámetros se estableció, una distancia de 30cm entre el escáner y la superficie facial de los pacientes, no se deben usar accesorios como aretes durante el escaneo y se debe recoger el cabello en caso de presentar cabello largo, se utilizó una silla giratoria para que el paciente girara sobre ella y así obtener una imagen más precisa,

y se estableció que el lugar donde se realiza el escaneo no debe tener mucha iluminación, ya que esta afecta la calidad del escaneo.

Este proceso fue perfeccionado mediante la practica entre la investigadora principal del estudio y las estudias de posgrado.

El escáner utilizado en este estudio fue Calibry, el cual ofrece una alta precisión para obtener imágenes en 3D. Una vez se haya escaneado la cara de los participantes, las imágenes fueron procesadas por el software Calibry Nest, en donde pasaba de una nube de puntos a una imagen tridimensional, gracias a la texturización de las imágenes.

Se definió, en conjunto con la investigadora principal, que los escaneos obtenidos serán guardados en archivo .PLY en el computador de última generación que permanece en FISULAB. Estas imágenes fueron guardadas en Documentos con el nombre completo del participante y la fecha de la toma de dicho escaner.

Además de esto, todos los datos de identificación y contacto de los participantes fueron guardados en un archivo en Drive que fue compartido con la Dra. Carolina Téllez y la Dra. Lina Escobar. Hasta junio del 2022 se recolectaron 64 escaneos, de los cuales 32 pertenecen a pacientes con LPH y 32 a parientes en primer grado de consanguinidad.

Esta base de datos deberá ser completada en una etapa posterior de la investigación, para procesar la totalidad de la muestra y obtener los resultados de este estudio.

Muestras de saliva

Se realizó una charla virtual con la Dra. Lina Escobar con el fin de establecer los parámetros necesarios para la recolección de muestras de saliva. Dentro de estos parámetros se estableció pedirles a los pacientes enjuagar la boca primero antes de depositar la muestra, hacer un masaje a nivel del musculo masetero para estimular la secreción de saliva y entregar

estas muestras en el mejor tiempo posible en el laboratorio de UIBO. Para la recolección de estas muestras se utilizó el kit Saliva Collection Tube de Bioneer.

Hasta junio del 2022 recogieron 64 muestras de saliva, de las cuales 32 pertenecen a pacientes con LPH y 32 a parientes en primer grado de consanguinidad. Estas muestras fueron marcadas con el nombre completo del participante, fecha y edad. Así mismo se registraron estos datos en la base de datos.

Actualmente estas muestras permanecen en los laboratorios de UIBO bajo la custodia de la Dra Lina Escobar.

10. Referencias bibliograficas

1. Amasdl S, Natiq A, Sbiti A, Zerkaoui M, Lyahyai J, Amzazi S, et al. 20p12.3 deletion is rare cause of syndromic cleft palate: case report and review of literature. BMC Res Notes. 2016 Jan 2. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4698322/)
2. Burg ML, Chai Y, Yao CA, Magee W, Figueiredo JC. Epidemiology, Etiology, and Treatment of Isolated Cleft Palate. Front Physiol. 2016;7:67.
3. Conte F, Oti M, Dixon J, Carels CEL, Rubini M, Zhou H. Systematic analysis of copy number variants of a large cohort of orofacial cleft patients identifies candidate genes for orofacial clefts. Hum Genet. 2016 Jan;135(1):41–59.)
4. Deshpande AS, Goudy SL. Cellular and molecular mechanisms of cleft palate development. Laryngoscope Investig Otolaryngol. 2018 Nov 15;4(1):160–4.
5. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. Nat Rev Genet. marzo de 2011;12(3):167-78.
6. Escobar LM, Prada-Arismendy J, Téllez C, Castellanos J. Genetic basis of orofacial cleft formation in humans. 2013;(1):11.
7. Gajera M, Desai N, Suzuki A, Li A, Zhang M, Jun G, et al. MicroRNA-655-3p and microRNA-497-5p inhibit cell proliferation in cultured human lip cells through the regulation of genes related to human cleft lip. BMC Medical Genomics. 2019 May 23;12(1):70.
8. Gritli-Linde A. Molecular control of secondary palate development. Dev Biol. 2007 Jan 15;301(2):309–26.
9. Hammond NL, Brookes KJ, Dixon MJ. Ectopic Hedgehog Signaling Causes Cleft Palate and Defective Osteogenesis. J Dent Res. 2018;97(13):1485–93.)
10. He F, Xiong W, Wang Y, Matsui M, Yu X, Chai Y, et al. Modulation of BMP signaling by Noggin is required for the maintenance of palatal epithelial integrity during palatogenesis. Dev Biol. 2010 Nov 1;347(1):109–21

11. Infante Contreras C,. Repositorio institucional UN [Internet]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2009 Available from: http://bdigital.unal.edu.co/634/

12. Krivicka B, Pilmane M, Akota I. Expression of growth factors and growth factor receptors in human cleft-affected tissue. 2013;15(4):8

13. Lee K, Overexpression of Gfgr2c causes craneofacial bone hipoplasia and ameliorates craniosynostosis in the crouzon mouse, 2018, Dis model Mech, Nov, 1;11(11)

14. Liu W, Sun X, Braut A, Mishina Y, Behringer RR, Mina M, et al. Distinct functions for Bmp signaling in lip and palate fusion in mice. Development. 2005 Mar 15;132(6):1453–61.

15. Lu H, Jin Y, Tipoe GL. Alteration in the expression of bone morphogenetic protein-2,3,4,5 mRNA during pathogenesis of cleft palate in BALB/c mice. Arch Oral Biol. 2000 Feb;45(2):133–40

16. Mehrotra D. Genomic expression in non syndromic cleft lip and palate patients: A review. J Oral Biol Craniofac Res. 2015 Aug;5(2):86–91.

17. Rodríguez MB, González LGV. Labio Y Paladar Hendido: Tendencias Actuales En El Manejo Exitoso. Archivos de Medicina (Col). 2012;12(1):107–19.)

18. Samadi S, Ebadifar A, Khorram Khorshid HR, Kamali K, Badiee M. Interaction Effect of RsaI and BamHI Polymorphisms of TGFα, BMP2 and BMP4 on the Occurrence of Non-Syndromic Cleft Lip and Palate in Iranian Patients. Avicenna J Med Biotechnol. 2018 Dec;10(4):248–52.

19. Sahoo T, Theisen A, Sanchez-Lara PA, Marble M, Schweitzer DN, Torchia BS, et al. Microdeletion 20p12.3 involving BMP2 contributes to syndromic forms of cleft palate. Am J Med Genet A. 2011 Jul;155(7):1646–53.

20. Saket M, Saliminejad K, Kamali K, Moghadam FA, Anvar NE, Khorram Khorshid HR. BMP2 and BMP4 variations and risk of non-syndromic cleft lip and palate. Arch Oral Biol. 2016 Dec;72:134–7.

21. Setó-Salvia N, Stanier P. Genetics of cleft lip and/or cleft palate: association with other common anomalies. Eur J Med Genet. 2014 Aug;57(8):381–93.

22. Mossaad A, Badry TE, Abdelrahaman M, Abdelazim A, Ghanem W, Hassan S, et al. Alveolar Cleft Reconstruction Using Different Grafting Techniques. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Apr 29;7(8):1369–73.
23. Smane L, Pilmane M. Evaluation of the presence of MMP-2, TIMP-2, BMP2/4, and TGFβ3 in the facial tissue of children with cleft lip and palate. Acta Med Litu. 2018;25(2):86–94.
24. Serrano P. CA, Ruiz R. JM, Quiceno B. LF, Rodríguez G. MJ. LABIO Y/O PALADAR HENDIDO: UNA REVISIÓN. UstaSalud. 2009 Jan 1;8(1):44.
25. Williams ES, Uhas KA, Bunke BP, Garber KB, Martin CL. Cleft palate in a multigenerational family with a microdeletion of 20p12.3 involving BMP2. Am J Med Genet A. 2012 Oct;158A(10):2616–20.
26. Yılmaz HN, Özbilen EÖ, Üstün T. The Prevalence of Cleft Lip and Palate Patients: A Single-Center Experience for 17 Years. Turk J Orthod. 2019 Sep;32(3):139–44.).

11. Anexos

Anexo 1: Formato de recolección de datos. Medidas cuantitativas y cualitativas.

	E1	**E2**
Poliosis_GS		
Implantación baja_GS		
Calvicie frontal_GS		
Cabello en forma de Pico de viuda_GS		
Linea de cabello en parte anterior GS		
Asimetria facial GS		
Depresión metópica_GS		
Cresta metópica prominente_GS		
Ectropión_GS		
Asimetria ocular - GS		
Coloboma ocular_GS		
Blefarofimosis_GS		
Tposis palpebral_GS		
Pliegues Epicantales_GS		

Exoftalmos_GS		
Displasia frontonasal_GS		
Desviación del tabique y punta nasal no (trauma)_GS		
Asimetría de narinas_GS		
Implantacion baja - GS		
Asimetria en orejas-GS		
Apendices auriculares _GS		
Orejas en pantalla-GS		
Hoyuelos Preauricular_GS		
Asimetria labio superior-GS		
Asimetria Labio inferior-GS		
Hoyuelos en mejillas -GS		
Hoyuelo en menton-GS		
Uvula Bifida-GS		
Lengua		
Tamaño-GS		
Numero-GS		
Forma-GS		
Mordida cruzada-GS		
Gl- Op-GS		

Bi temporal		
Gl-Me-GS		
indice facial-GS		
Ancho bicigomatico-GS		
Eu-Eu-GS		
Indice craneal-GS		
Distancia intercantal externa-GS		
Distancia intercantal interna-GS		