

11262

14



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina División de Estudios de Posgrado e Investigación, Subdivisión de Maestrías y Doctorados Coordinación de la Maestría y el Doctorado en Ciencias Médicas (Sede Sur).

FALLA DE ORIGEN

MARCADORES GENETICOS DEL SISTEMA PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN PACIENTES CON ESPASMO MASIVO INFANTIL

T E S I S

para obtener el Grado de MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS
p r e s e n t a

ROBERTO ALFONSO SUASTEGUI ROMAN



INP

México, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1995



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

I RESUMEN.	8
II INTRODUCCION	10
1- ESPASMO MASIVO INFANTIL	10
1.1.- Antecedentes	10
1.2.- Características clínicas y clasificación	11
1.3.- Etiología	11
1.4.- Patologías y antecedentes prenatales relacionados	12
1.5.- Patologías y antecedentes perinatales relacionadas	14
1.6.- Patologías y antecedentes posnatales relacionadas	14
1.7.- Probable etiología genética del espasmo masivo infantil	14
1.8.- Hallazgos histopatológicos	20
1.9.- Tratamiento	21
1.10.- Pronóstico	22
1.11.- Diagnóstico diferencial.	22
2.-EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)	
2.1- Antecedentes	23
2.2.- Clasificación Estructura y Expresión del HLA	23
2.3.- Antígenos clase I	24
2.4- Antígenos clase II	25
2.5- Estructura genética de la región HLA	26

2.6- Antígenos del MHC nomenclatura y herencia	31
2.7.- Funciones del complejo HLA	32
3.- Papel de los linfocitos T en la respuesta inmunológica	33
4.- Mecanismos moleculares de asociación entre HLA y las enfermedades	35
5.- HLA y su participación en enfermedades neurológicas.	40
6.- Espasmo masivo infantil, otros tipos de epilepsi y HLA.	41
III.- JUSTIFICACION	46
IV.- HIPOTESIS.	46
V.- OBJETIVOS	
5.1.- Primarios	47
5.2.- Secundarios	47
VI.- METOLOGIA GENERAL.	
6.1.- Diseño del estudio	48
6.2.- Elección de pacientes	48
6.3.- Criterios de inclusión	48
6.4.- Criterios de eliminación.	49
6.5.- Evolución.	49
6.6.- Exámenes de laboratorio y gabinete.	49
6.7.- Tipificación de antígenos de HLA clase I y clase II.	52
6.8.- Estudios de gabinete	58
6.9.- Consideraciones éticas	60
6.10.- Análisis e interpretación de los resultados.	60

VII.- RESULTADOS	64
VIII.- DISCUSION.	92
IX.- CONCLUSIONES	100
X.- BIBLIOGRAFIA	102
XI.- ANEXOS..	
11.1.- Anexo 1	114
11.2.- Anexo 2.	115
11.3.- Anexo 3	115
11.4.- Anexo 4.	116
11.5.- Anexo 5	117

Este Trabajo se realizó en el Departamento de Inmunogenética del INDRE bajo la dirección de la Dra Clara Gorodezky L. Jefe del departamento de inmunogenética y en el Servicio de Neurología del INP bajo la dirección del Dr. Adalberto González Astiazarán, Jefe del servicio

AGRADECIMIENTOS

A los asesores de la Tesis

**En el Departamento de Inmunogenética
Le doy las gracias a la Dra. Gorodezky.
por su ayuda más allá de los textos y de
los tubos.**

**En la Clínica al Dr. Gonzalez-Astiazaran.
Gracias por confiar nuevamente en mí .**

**A mis compañeros de Inmunogenética
que me enseñaron el arte del laboratorio:**

**Biol. Gabriela de la Rosa
QBP. Juan Manuel Carranza
Biol. Norma Bautista
Biol. Anatasia Magaña
Tec. Antonio Sierra
Tec. Ofelia Hernandez
Tec. Gonzalo Cazares
Starla Aide Diaz.**

**Al Dr. Julio Sotelo M.
Gracias por la confianza,
sus consejos tan valiosos y su
ayuda.**

**Al Dr. José Alejandro Madrigal
Por su ejemplo y toda su ayuda.**

**Al Dr. Gerardo Gamba.
Por tu confianza y tu Ejemplo.**

DEDICATORIA

**A la memoria de mi Padre
Dr. Filiberto Suástegui Galeana
Por tu herencia Papá tu gran Corazón.**

**A mi Madre
Profa y Enf. Elvira Román Román
Todo lo bueno, mucho o poco te lo debo
a ti Mamá, Dios te bendiga siempre.**

A los cristales de mi vitral (mi vida)

**Mi compañera de toda la vida:
Psc. Mtra. Elizabeth Aveleyra O.**

**Mis hermanos:
Filiberto
Ma. Del Rosario
Enrique Omar
Wendy Esperanza**

**Mi Hija:
Wendy Fers**

A la memoria de mis amigos

**Ma. Eugenia Avalos Navarro
Aunque ya no estas físicamente
con nosotros gracias por tu ejemplo
de insuperable amiga y gran madre,
Dios de tenga a su lado**

**Abelardo Radilla Alaniz
Con tu partida nos has enseñado
a todos.**

I.- RESUMEN

El espasmo masivo infantil (EMI) es un tipo de crisis caracterizado por la contractura de la mayoría de los músculos con predominio de la línea media en forma mioclónica, de inicio súbito y naturaleza flexora, extensora o mixta. Es edad-dependiente y sintomático cuando se asocia a otras patologías o antecedentes; es criptogénico cuando hay daño neurológico o estudios de imagen alterados; e idiopático cuando solo hay EMI. El objetivo de este trabajo fue investigar la participación de marcadores genéticos del MHC en su expresión. Se seleccionaron 65 pacientes mestizos mexicanos y 5 familias: 3 con 2 miembros afectados y 2 con gemelos en una los dos estaban afectados y en la otra sólo uno de los hermanos. La consulta de pacientes con EMI constituyo el 7% del total de la consulta de epilepsia. Hay preferencia por el sexo femenino (2:1) y la edad promedio de inicio fue de 20 semanas. Predominó el tipo flexor (74%). El embarazo y parto normal se presentaron en 54%. El 72% fueron sintomáticos, el 28% criptogénicos y 5% idiopáticos. La hipoxia perinatal fue el antecedente mas importante (17%) y disgenesias cerebrales (17%) fueron la patología asociada mas importante. EL patrón de crisis más frecuente el mixto (67%). El perfil genético de antígenos HLA clase I y clase II de los 65 pacientes se comparó contra 229 sujetos aparentemente sanos. En las familias se hizo un análisis de segregación intrafamiliar. No se encontró ninguna discrepancia en la frecuencia de los antígenos de los loci A, B, C. Sin embargo hubo un incremento del DR17 en los pacientes ($P_c < 0.01$) con un riesgo relativo de 3.60 y una fracción etiológica de 0.20. El DR17 también se asocia a los sintomáticos, en los que tenían otro tipo de crisis además del EMI y en los que manifiestan crisis convulsivas tónico clónicas generalizadas. El DQ6 está significativamente disminuido en los pacientes ($P_c < 0.0025$) con una fracción preventiva de 0.37. Este antígenos también se halla disminuido en los sintomáticos ($P < 0.0001$). No se demostró ninguna diferencia en la segregación de haplotipos entre los hermanos afectados y sanos. Sin embargo en las familias con mas de un afectado, los pacientes

II.- INTRODUCCION

1.- ESPASMO MASIVO INFANTIL

1.1 Antecedentes

EL Espasmo masivo infantil (EMI) es una de las patologías más severas en neuropediatría sin predominio de sexo, más frecuente en los blancos y con inicio en promedio a los 5.3 meses de vida (40). En algunas series representa las dos terceras partes de las epilepsias que inician durante el primer año de vida (24). El término EMI se usa para identificar un tipo particular de crisis caracterizadas por inicio súbito bilateral, simétrico y usualmente por fuertes contracturas en la mayoría a de los músculos del organismo (32) llamadas crisis flexoras "de navaja", crisis mioclónicas masivas, o crisis de Salaam (40). El síndrome de West es una variedad que consiste en un EMI con un patrón electroencefalográfico caracterizado por hipsarritmia y retraso mental (47), el cual fue descrito por West en el siglo pasado como una forma peculiar de crisis convulsivas infantiles, caracterizadas por espasmo de Salaam asociadas con retraso mental (118). En 1883 Fere lo denominó "tic de Salaam" y diseñó la primera clasificación etiológica del EMI en sintomático e idiopático (61). Lennox y Davis en 1950 describieron un patrón electroencefalográfico caracterizado por espiga onda lenta con EMI y daño cerebral en el 62% de los casos que denominaron "ataques mioclónicos masivos" (69).

La triada clínica clásica formada por este tipo de crisis, retraso mental y patrón electroencefalográfico fue descrita en 1951 y recibió el nombre de epilepsia generalizada en flexión (115). En 1954 se caracterizó el patrón electroencefalográfico con hipsarritmias y espiga onda de alto voltaje lenta en todas las áreas (42). En 1959 se inicio el tratamiento con ACTH (61). La asociación del padecimiento con un trastorno del metabolismo, la fenilcetonuria fue descrita en 1957 (76). Finalmente la liga internacional contra la epilepsia publico en 1989 la división del EMI en sintomático y criptogénico (21).

1.2.- Características clínicas y clasificación

En base a las características clínicas se han descrito básicamente 4 tipos:

a) El flexor consiste en flexionar la nuca, hombros, brazos, piernas y rodillas. Es el más común y su frecuencia varía de 34% a 70%. Es de inicio súbito y su duración es breve (40, 61).

b) El extensor es súbito de corta duración y consiste en contracción de los músculos extensores que provocan un arqueado de la espalda, extensión de las extremidades y frecuentemente se confunde con crisis tónicas o postura tónica. Representa del 21 al 23% de los EMI (40, 61).

c) El mixto tiene componentes de flexión y de extensión. Flexión de las extremidades superiores y extensión de las inferiores. Representa del 16 al 42%

d) El "arresto aquinético" es el menos frecuente y sólo se puede identificar por medio de electroencefalograma y videofilmación. Se caracteriza por la ausencia súbita de toda la actividad motora y los movimientos se restringen a la cabeza. Se le denomina espasmo de balanceo o de inclinación (40, 61).

Los espasmos habitualmente ocurren en racimos o trenes de 30 a 50 espasmos o más con duración entre 1 a 15 segundos; pueden acompañarse de llanto, mirada de miedo, respiración irregular y manifestaciones autonómicas. El promedio de edad de inicio es 5.3 meses con intervalos de 1 semana a 14 meses. Los síntomas pueden ir acompañados de crisis focales y generalizadas que se asocian comúnmente a daño mental o motor. También puede haber cambios en las características de las crisis propias del espasmo inicial (32).

1.3 Etiología

Es una manifestación de daño cerebral, frecuentemente difusa y severa. El daño cerebral puede no estar asociado a ningún agente causal identificable (32). Se han descrito dos grupos: a) El criptogénico que representa entre el 36 y el 57% (40, 75), y cuya causa no está relación con ninguna otra patología; la exploración puede no revelar

alteraciones y el cuadro se inicia con espasmo y posteriormente se desarrolla retraso mental. b) En el sintomático hay antecedentes de factores desencadenantes o de una enfermedad asociada como neuroinfección, enfermedades congénitas y metabólicas o insulto cerebral durante la gestación, desarrollando inicialmente retardado y después el EMI. Se pueden encontrar deformidades físicas y signos clínicos de la enfermedad o de la lesión. Ocurre en un 43% de los casos (61).

A pesar de que la Liga Internacional Contra la Epilepsia (21) no incluye a un tercer subgrupo en el EMI, diversos autores lo han sugerido y se ha denominado idiopático. En este, no se reconoce ninguna etiología, no hay sospecha de alguna causa relacionada, pues los estudios se hallan dentro de la normalidad y la exploración neurológica previa a la epilepsia durante y después también se hallan dentro de la normalidad. En este grupo se han incluido los casos con una posible predisposición genética. Con esta reclasificación algunos autores encontraron que el 55% de los que se incluían como criptogénicos el 55% son realmente idiopático (116). Se han sugerido en la etiología como posibles factores desencadenantes a los prenatales, perinatales o postnatales, los cuales se describen a continuación (32).

1.4.-Patologías y antecedentes prenatales relacionados

Las posibles causas prenatales se han visto hasta en 42.8 % de los casos (91). Predominan los diversos tipos de anoxia con sangrado uterino durante el embarazo; otros indicadores de daño prenatal incluyen historia de náuseas y vómitos continuos durante el embarazo, evidencia de infección materna e hipoplasia placentaria con cordón pequeño (32). También se han incluido algunas enfermedades genéticas (91) y antecedentes de neoplasias (17, 82, 100). Crichton encontró que el 12.6% de los niños con bajo peso al nacimiento desarrollan EMI y 84% son sintomáticos, sugiriendo que el riesgo de estos niños es e veces mayor (23). Se ha descrito el EMI con hidranencefalia, ausencia de hemisferios cerebrales, cuerpo estriado, meninges, elementos gliales y tálamos con

presencia de las estructuras de la fosa posterior. Al nacerl a cabeza es alargada, hay facies de retraso, ceguera, hipoplasia de los nervios opticos y cuadriparesia espástica (89). A pesar de la ausencia de hemisferios cerebrales los pacientes presentan EMI, por lo que se ha sugerido que su origen está en estructuras del tallo cerebral (61). Se ha asociado también a otras malformaciones cerebrales como la agiria cerebral (51).

En 1990 se describió a una pareja de hermanos con EMI con síndrome de pulgar ancho con antecedente de consanguinidad de sus progenitores y con microcefalia, bajo peso al nacimiento, hipertelorismo, nariz picuda, micrognatia, fontanela amplia, catarata bilateral, cardiomiopatía a hipertrófica, hidrocele bilateral y agenesia del cuerpo caloso (25).

Hay algunos trastornos del metabolismo que también cursan con EMI. Tal es el caso de la enfermedad de Leigh, la encefalomiopatía sub-aguda necrotizante, que es progresiva, degenerativa y que está relacionada con la deficiencia de tiamina (62). En pacientes con síndrome de Down, donde el EMI se ha observado con una frecuencia del 4.5 al 8.6%, al administrar 5 hidroxitriptamina (5HT) aumenta la frecuencia de EMI hasta en un 15%. Se sabe que la administración de difenilhidantoinato (DFH) puede aumentar la frecuencia y severidad de los espasmos. En estos pacientes las concentraciones de 5HT se hallan aumentadas, por lo que se sospecha que tienen un defecto en el metabolismo de la piridoxina y de la 5HT. Más aún, este medicamento se utilizó para mejorar la hipertonia y las disquinesias orolinguales (19, 20).

Se han asociado varias aminoacidurias con la epilepsia. La histidinemia se asocia con otro tipo de crisis, con el EMI y con electroencefalograma con patrón de hipsarrítmia (33). El EMI se presenta en la lipodosis cerebral, la acidemia arginosuccínica, las hiperamonemias o el síndrome Sturge-Weber (61).

La participación o asociación de algunas enfermedades con un componente genético establecido con el EMI, se tratarán más adelante dada su importancia para este estudio.

1.5.- Patologías y antecedentes perinatales relacionados

Entre el 13.9% y 64% de los espasmos sintomáticos se asocian con antecedentes de posible daño perinatal. El daño cerebral puede ser ocasionado por neuroinfección bacteriana, viral o parasitaria, trauma obstétrico, encefalopatía a secundaria a daño sistémico, deshidratación, hipoglucemia, infarto cerebral, hemorragias intraventriculares o parenquimatosa y kernicterus (40, 61, 91).

1.6.- Patologías y antecedentes posnatales relacionadas

Entre las causas del establecimiento del EMI relacionadas con el periodo posnatal se han descrito la vacunación contra la tosiera (10, 16), el daño severo al cerebro por hipoxia prolongada debido a ahogamiento en inmersión en el agua (56).

1.7.- Probable etiología genética del espasmo infantil

En la última década ha crecido enormemente el interés en análisis de los aspectos genéticos de la epilepsia, debido a que los hallazgos de segregación en familias y los datos epidemiológicos han demostrado claramente que algunas formas de epilepsia se heredan y ya se han localizado algunos genes o loci participantes (3, 4, 5, 112). La epilepsia *per se* parece como multifactorial con probable de predisposición genética, ya que de un 10 a 25% de los descendientes de padres epilépticos padecen la enfermedad (74). Actualmente se conocen tres tipos de epilepsia relacionados con un gen determinado:

a).- La epilepsia progresiva mioclónica del tipo Unverricht-Lundborg que pertenece al grupo que abarca a la enfermedad de Lafora, Lipofuscinosis-Ceroide, desordenes mitocondriales (MERRF) (síndrome de epilepsia mioclónica de fibras rojo-ragadas) y la sialidosis. En la enfermedad de Unverricht-Lundborg se ha identificado ligamiento estrecho con 3 marcadores localizados en la porción distal del brazo largo del cromosoma # 21, cuyos genes se hallan en 21q 22.3. Aparece predominantemente entre los 6 y los 15 años y se trasmite en forma autosómica recesiva. Se ha demostrado que el

ligamiento genético es fuerte, pues el valor de lod para la frecuencia de recombinación >3 es de 10.08. (12, 68, 112).

b).- La epilepsia mioclónica juvenil (Epilepsia mioclónicas de Janz), inicia en la adolescencia entre los 13 y 19 años. Las crisis se caracterizan por mioclonias breves y en salvas. Afectan principalmente a los miembros superiores sin alteración de la conciencia, predominan al despertar, después de un sueño acortado o un brusco despertar y en el EEG se observa polipuntas ondas. En esta patología se ha localizado un gen responsable en el brazo corto del cromosoma 6 en base al ligamiento entre el marcador BF de clase III del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en el humano (complejo HLA). Recientemente Greenberg y Delgado-Escueta demostraron ligamiento con el GLO-1 que se halla en extremo centromérico de dicho cromosoma muy cerca de la región de clase II, lo que indica que es muy probable que los verdaderos genes de susceptibilidad están localizados dentro de esta región polimórfica (31, 48, 49, 112).

c).- El tercer tipo de epilepsia donde se ha identificado un gen son las convulsiones neonatales familiares benignas que se caracterizan por ser un padecimiento autosómico dominante. Las crisis son usualmente breves con recurrencia frecuente e inician en el tercer día de vida o después y remiten a los 6 meses de edad (15). Su desarrollo neurológico es normal y sin alteraciones en los hallazgos de laboratorio. El ligamiento genético se encontró a partir de un estudio familiar con 4 generaciones y 19 miembros afectados. Se identificaron 2 marcadores localizados en el brazo largo del cromosoma 20 con un valor de Lod de 5.4. En otras familias no se confirmó el ligamiento. Lewis y col. encontraron un ligamiento en este padecimiento con un valor de Lod de 4.43 con marcadores del cromosoma 8, con lo que demostraron la participación de un nuevo locus y confirmaron la heterogeneidad de esta epilepsia (70, 72, 87, 112).

Existen otras epilepsias en las que si bien no se ha identificado aun un gen causante, muestran un patrón de herencia Mendeliana. Estas incluyen a la epilepsia de ausencias juvenil e infantil (95), la epilepsia infantil benigna con espigas centro-temporales

y la epilepsia infantil con paroxismos occipitales (18, 54), la enfermedad de Lafora y la sialidosis que se asocia con una deficiencia de alfa N-acetylneuraminidasa. Estas dos últimas pertenecen al grupo de la epilepsia mioclónica tónica progresiva (12).

Además de los síndromes de epilepsias genéticas idiopáticas, existen un número importante de enfermedades neurológicas en las que el riesgo a padecer crisis se incrementa como resultado de una gran diversidad de anomalías metabólicas, formaciones tumorales o daño del crecimiento o formación del cerebro. Anderson y col. han identificado 141 alteraciones en las que existe un riesgo elevado de crisis que pueden ser ocasionadas por alteraciones monogénicas (3, 4, 5). Dichas crisis son consecuencia incidental del daño cerebral y no necesariamente ocurren en cualquier individuo afectado. Por lo tanto, el estudio de los síndromes hereditarios de estas anomalías, será de gran ayuda para entender los mecanismos de predisposición desencadenantes de la epilepsia (112).

Las anomalías cromosómicas asociadas con un incremento en el riesgo para desarrollar crisis también pueden ser muy útiles para conocer los mecanismos responsables de la epilepsia. Existe un pequeño riesgo de desarrollar crisis en pacientes con síndrome de Down que se incrementa con la edad (110, 112). Las convulsiones se presentan en un 20 a 25% en pacientes que tienen trisomías en los cromosomas 13, 18, 22, y en un 70% en el síndrome de Wolf que fenotípicamente es muy parecido a la trisomía 13 (13) y que se debe a una delección en el cromosoma 4. También se ha descrito epilepsia en pacientes con anillos del cromosoma 14 y 20 (66, 101). Otra anomalía cromosómica asociada a la epilepsia es una duplicación invertida del cromosoma 15 en la que se presentan crisis pero no anomalías físicas (78, 102, 122). Las crisis convulsivas han logrado reproducirlas en animales de experimentación que tienen un fondo genético apropiado y se han descrito un número de mutaciones espontáneas en diferentes cromosomas en el ratón capaces de ocasionar convulsiones con una actividad electroencefalográfica similar al fenotipo

humano (98). En el cuadro 1 se muestran los loci en las que se han localizados mutaciones en ratones que desarrollan epilepsia espontánea.

En el EMI parece haber predisposición racial ya que la frecuencia varía de acuerdo al grupo étnico. Así, la enfermedad es más común en los caucásicos (85%) que en los negros (8%), o que en los indígenas de EUA (4%) o en los asiáticos (3%) (40) se propone la participación de factores genéticos en la expresión del EMI, ya que se puede presentar asociado a enfermedades que tienen patrón autosómico dominante como la esclerosis tuberosa (91), los síndromes neurocutáneos como nevus de Jadasson (79) y la neurofibromatosis (59). El EMI se presenta asociado con enfermedades que tienen un patrón hereditario autosómico recesivo como son algunas leucodistrofias (4, 5, 14, 96), la enfermedad de Leigh (62), la deficiencia de piridoxina (39) y algunas aminoacidopatías, incluyendo a la fenilcetonuria. También se ha asociado con anomalías como la translocación, el síndrome de Miller Diker (102), el síndrome de Angelman (8, 114), y con síndromes que muestran un patrón hereditario ligado al cromosoma X como el síndrome de Aicardi (1, 2, 71) o la incontinencia pigmentaria (105). Aicardi (1) describió la agenesia del cuerpo caloso como causa de EMI en un síndrome con espasmos flexores, agenesia del cuerpo caloso y anomalías coriorretinianas. Eran pacientes femeninos y el electroencefalograma mostraba una marcada asimetría (2, 22, 28, 29).

El síndrome de Angelman cursa en ocasiones con EMI y su sintomatología consiste en retraso mental severo, ausencia de lenguaje, ataxia, movimientos de sacudidas, hipotonía, microcefalia, braquicefalia, macrostomía, protusión de la lengua y prognatismo. Aquí se halla una delección en un gen del brazo largo del cromosoma 15q (11.2-12). La recurrencia en los hermanos es de 25% y tienen alteraciones electroencefalográficas características como un ritmo persistente de 4 a 6 ciclos por segundo de ondas de alta amplitud, trenes prologados de ritmo de 2 a 3 ciclos por segundo de 20 a 500 microvolt,

espigas mixtas de 3 a 4 ciclos de predominio en regiones posteriores, facilitados con los ojos cerrados (8, 114).

La esclerosis tuberosa es autosómica dominante con penetrancia variable, se diagnostica en el 10 y 29% de los casos con EMI (40, 91), aún como otros trastornos del metabolismo con patrones genéticos determinados como la fenilcetonuria (40, 76, 91), acidemia arginosuccínica y la enfermedad de orina de miel de maple (40).

CUADRO 1
MUTACIONES DE LOCI MONOGENICOS EN RATONES CON
EPILEPSIA ESPONTANEA

FENOTIPO	CROMOSOMA	MODO DE HERENCIA
Cribiforme	9	Recesivo
Letal-Diluido	9	Recesivo
Pato	4	Recesivo
Inquieto	10	Recesivo
Nervioso	X	Recesivo
Delgado	8	Recesivo
Letargico	2	Recesivo
Moca 2j	10	Recesivo
Tembloroso	17	Recesivo
Observador	15	Recesivo
Tambaleante	8	Recesivo
Tembloroso	11	Dominante
Tejedor	16	Recesivo

Tomado de (112)

En ocasiones se asocian con otras epilepsias. Druckman y Chao encontraron que el 30% de los pacientes con EMI tienen algún familiar epiléptico, y el 83% son parientes de primer grado (32). El síndrome de convulsiones neonatales familiares benignas, (15) tiene un patrón de herencia autosómico dominante y todos los miembros de la familia padecen este tipo de crisis. Mori describió una familia donde el padre y 2 hermanos habían sido epilépticos y a otros miembros tenían crisis febriles; uno de ellos desarrollo EMI (87).

La frecuencia de EMI idiopático en más de un miembro familiar se observa en forma variable 2.5%, 3.8 %, 6.2% y 4% (56, 61, 97, 99, 117). Se estima que el riesgo de recurrencia en un hermano es <1% (34). Otros informan que el riesgo relativo de padecer EMI entre hermanos es de 12-18 y de 2-12/1000 (38). Sin embargo, la expresión de la enfermedad en una pareja de gemelos monocigóticos (93), apoya la participación genética.

1.2.- Hallazgos histopatológicos

Se han encontrado anomalías en algunos casos, como los estudios del desarrollo dentrítico con la técnica de Golgi (60). En material de necropsia, se han informado lesiones destructivas de encefalomalasia quístico-gliótico y cambios displásicos de grado variable, hallazgos similares a los de esclerosis tuberosa (53). En pacientes sometidos a cirugía, se observa, heterotopias, nódulos microgliales, gliosis focal, neuronas heterotópicas en sustancia blanca, displasia cortical diseminada con predominio en bulo parietal, displasia a cortical severa, hamartomas de la oligodendróglia, polimicrogiria multifocal, quistes glióticos multifocales y quistes gliales (52).

1.9.- Tratamiento

El tratamiento en la mayoría de los casos es difícil debido a que el control de las crisis es muy pobre. Inicia con benzodiazepinas con resultados deficientes. Sorel y Dusaucy-Bauloye obtuvieron resultados satisfactorios con el ACTH y la clorpromazina. Posteriormente se demostró la eficacia de la prednisona, la cortisona, la hidrocortisona y la dexametasona (61). El nitrazepan (Mogadon) es efectivos en algunos casos, aunque menos que la terapia esteroidea. El diazepam y el clordiazepóxido pueden emplearse en el mantenimiento de las terapia (40). La dosis y la duración de la aplicación es variable cuando se emplea ACTH (41). El valproato es eficaz, con una reducción en el número de los espasmos en un 40 a 70% en casos con monoterapia o con la combinación de otros anticonvulsivantes (9, 36, 104). Los medicamentos antiepilépticos como el fenobarbital, fenitoin y succinimidas son ineficaces (40).

El tratamiento quirúrgico se ha empleado en algunos casos con buenos resultados. En un principio sólo se intervenían pacientes donde se identificaba perfectamente la zona anormal, como quistes o tumores (82, 92, 100, 113). Sin embargo, en los últimos 2 años se han sometido a cirugía a pacientes intratables en los que se ha comprobado por medio de estudios de resonancia magnética, tomografía por emisión de positrones, electroencefalo y electrocorticograma, lesiones que no son muy evidentes ante la imagen, pero que son focales desde el punto de vista funcional. Los resultados han sido alentadores (52). En el EMI criptogénico los resultados son menos exitosos que en el sintomático. Los pacientes presentan mejoría tanto en los electroencefalogramas como en el desarrollo sin que desaparezcan por completo las crisis (94). Un inhibidor de la GABA-transaminasa como el vigabatrin ha tenido buenos resultados en EMI y en otros tipos de epilepsia a dosis entre 1 y 2 gr. al día (73, 77).

1.10.-Pronóstico

El diagnóstico de EMI, es *per se* de mal pronóstico. Entre el 65 y 90% tiene retraso mental al momento del diagnóstico (61), y sólomente el 9.5% logra un desarrollo normal (89), lo cual se asocia con la presencia de la lesión en el sistema nervioso. El pronóstico es menos malo en el grupo criptogénico. Aproximadamente el 49% tienen un desarrollo mental normal y libre de crisis a largo plazo, mientras que en los sintomático el pronóstico es más pobre (80). Entre el 55 y el 60% de los niños con EMI desarrollan otro tipo de crisis y del 23 al 50% síndrome de Lennox-Gastaut (75, 80). Con un seguimiento de 5 años se encontro un coeficiente intelectual normal en el 16.6%, retraso leve en 17.8%, moderado en 23.2% y severo en 42.%. con una mortalidad de 13.8%. (85). La mortalidad oscila entre 9.4% y 20% (2, 40).

1.11.-Diagnóstico diferencial

Podría haber confusión con el reflejo de moro sólo en pacientes menores de 4 meses de edad, pero este se diferencia del EMI en que el reflejo se desencadena por ruido en la mayoría a de los casos y se presenta con otros estímulos externos. La flexión acompañada de llanto puede ser secundaria a dolor abdominal. Las crisis tónica son de mayor duración y ocurren en ocasiones durante el sueño. La epilepsia mioclónica de la infancia que inicia en edad mas tardía alrededor de los 3 y medio años puede ir acompañada de ausencias y retraso mental severo (61, 32).

2.3.- Antígenos Clase I

Las moléculas de clase I se expresan en la membrana celular y constan de una glicoproteína de 45,000 KD (cadena α) unida no covalentemente a un polipéptido de 12,000 DK (B2 microglobulina). La cadena α contiene 3 dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, una región transmembranal y una citoplasmática. La región de unión del péptido corresponde a los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$, localizados en la parte superior de la molécula. El extremo del N-terminal de cada uno de estos dominios forma una hebra antiparalela de estructura β plegada en un único plano y las 8 estructuras de cada hebra forman la plataforma los 2 dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$. En el extremo C-terminal, los 2 dominios forman 2 α hélices paralelas, enrolladas y largas. El polimorfismo genético se mantiene por la enorme variabilidad de secuencias concentrada en estos dos dominios que da lugar a la expresión de los aloantígenos que tiene cada sujeto. El dominio $\alpha 3$ y la $\beta 2$ microglobulina, tienen una estructura muy similar a la región constante de la cadena pesada de las inmunoglobulinas. Consecuentemente pertenecen a una "superfamilia de supergenes" que tienen un ancestro común las siguientes proteínas: clase I, clase II, TCR, CD2, CD3, CD4, CD8, las inmunoglobulinas y la molécula de adhesión de células neuronales (N-MAC) están filogenéticamente relacionadas (84).

Los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ forman un surco que siempre está ocupado por péptidos. Los estudios de su estructura secundaria han mostrado similitudes con la HSP70, por lo que estos 2 dominios se originaron por evolución divergente a partir de esta familia. (84, 109).

Las moléculas llamadas antígenos clásicos de clase I HLA-A, -B, -C, son muy polimórficos y se expresan en la membrana de todas las células excepto en eritrocitos y espermatozoides y su densidad es muy alta en linfocitos T y B. Los genes no clásicos HLA-E, -F y -G, -H. HLA-G se expresan en la membrana del trofoblasto, mientras que HLA-E y HLA-F se hallan en el interior. Los no clásicos difieren de los clásicos en su baja

variabilidad, expresión selectiva y función. Los A, B y C fetales inducen una respuesta en la madre por el reconocimiento del haplotipo paterno que está ausente en la madre por lo cual el feto es un semi-aloinjerto. Sin embargo, su expresión en el trofoblasto se suprime en la fase materna de la placenta evitando el ataque inmunológico contra feto. Los G, son aloantígenos pobres por su polimorfismo escaso. Protegen al feto de bacterias y virus induciendo una respuesta inmunológica eficiente contra ellos (84).

2.4.- Antígenos clase II

Las moléculas de clase II expresadas sobre la membrana celular están formadas por 2 glicoproteínas, la cadena α (pm 33,000-35,000) y la cadena β (27,000-29,000) unidas entre sí en forma no covalente. La α está compuesta por los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ una región transmembranal y una intracitoplasmática. El sitio de unión del péptido corresponde a los dominios $\alpha 1$, $\beta 1$, localizados en la parte superior de la molécula. El polimorfismo de los antígenos clase II que da lugar a todas las variantes, está en el dominio $\beta 1$ (así como en el dominio $\alpha 1$ de la cadena en el caso de HLA-DQ). Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ tienen estructuras similares a las inmunoglobulinas y corresponden a la misma familia de supergenes. Un tercer componente de clase II es la cadena invariable (cadena Ii) de 33 kd y el gen que la codifica se localiza en el cromosoma 5 (84, 108). Esta cadena es reemplazada por los péptidos alogénicos intracelularmente y ocupa el nicho de clase II mientras este fenómeno ocurre (84, 108). Las moléculas clase I y II se formaron a partir de combinación que de los dominios de la familia de los supergenes de las inmunoglobulinas en las que los dominios alfa y beta se generaron por divergencia de la familia de HPs.

Hay tres tipos de antígenos clase II, DR, DQ y DP. Además existen cuatro nuevos antígenos de los loci de clase II, llamados DNA, DMA, DMB y DOB recientemente descubiertos por clonación y secuenciación del DNA. Sin embargo sus productos no se han identificado ni bioquímicamente ni serológicamente. Los HLA-D pueden demostrarse mediante cultivo mixto de linfocitos (CML). Sin embargo un HLA-D no significa un

antígeno particular sino la presencia de un epítopo del antígeno -D que está formado tanto por un antígeno DR como por un DQ. Estos están situados muy cerca uno del otro por lo que están en desequilibrio de enlace, de tal manera que la expresión de antígenos -DR, -DQ y -D correlacionan perfectamente y se manifiesta en forma de combinaciones características. Los genes HLA-DP están localizados en el área más cercana al centrómero y existe una zona de alta recombinación entre los genes DP y DQ, por lo que hay una correlación débil entre la expresión de aloantígenos DP y la de DR o DQ (84).

Una diferencia importante entre los antígenos clase I y clase II es que estos últimos se expresan en algunas estirpes de células como son las células presentadoras de antígenos (CPA) como los macrófagos, monocitos, linfocitos B, células de Langerhans, células dendríticas, y también están en células T activadas y Th. Se expresan en células del epitelio tímico así como por algunos fibroblastos, células endoteliales, del epitelio y células tumorales (como en melanoma maligno). Los antígenos clase II están ausentes de neutrófilos, eritrocitos y células plasmáticas. Se hallan en células indiferenciadas mieloides después de la incubación con granulocitos/macrófagos con factor formador de unidades de colonias y con factor formador de unidades de eritrocitos, lo cual sugiere que los antígenos clase II juegan algún papel en el desarrollo y diferenciación celular. (84, 107)

2.5.- Estructura genética de la región HLA.

En el humano el MHC está localizado en brazo corto del cromosoma 6 y abarca una longitud de 4000 kb cuya secuencia se originó por duplicación y conversión génica. El tamaño de esta región es igual al del genoma de E. coli. La región de clase I del MHC abarca aproximadamente 1500 kb. La región de clase II es aproximadamente de 1000 kb lo que resta esta ocupado por la región de clase III, que contiene genes que codifican para ciertos factores del complemento (C2 y C4 de la vía clásica y el factor BF de la vía alterna) y genes que codifican para la síntesis de la enzima 21 hidroxilasa. Sin embargo no todos los genes localizados en la región HLA se conocen con precisión. Entre la región de

clase I y clase III existe un espacio de 400 kb que está totalmente clonado y en el que existen cuando menos 20 genes HLA con una función no relacionada con ellos incluyendo el factor de necrosis tumoral alfa y beta (TNF α y β), las proteínas de choque térmico 70 (HSP-70) y algunas asociadas con la transcripción de genes HLA-B (123, 124). En la fig. 1 se muestra un esquema del mapa actual del MHC (125).

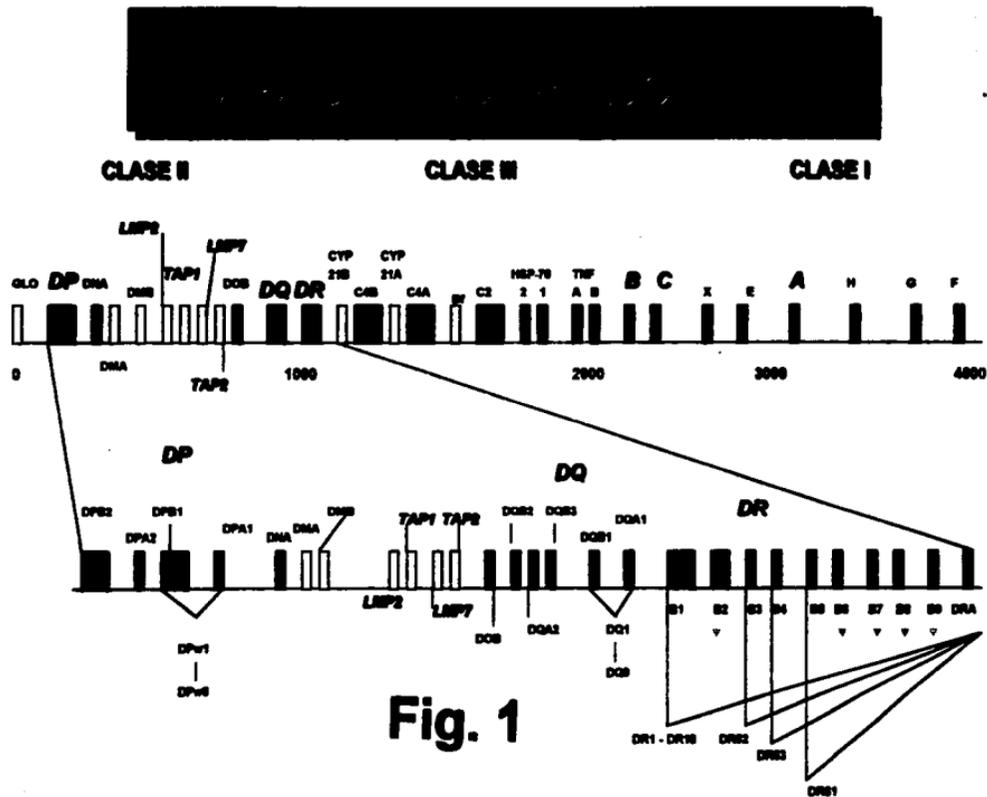


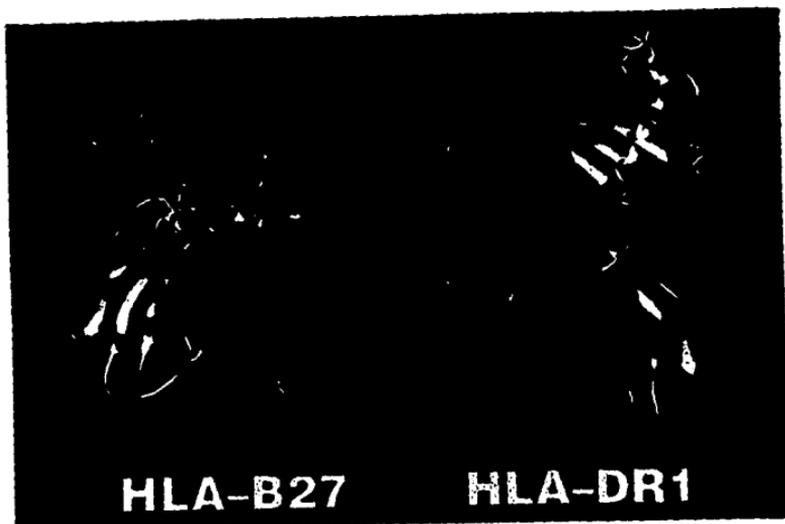
Fig. 1

Los antígenos clase I llamados clásicos (HLA-A, B, C) están codificados por los genes de esas regiones, por lo que cada gen tiene una especificidad serológica que le corresponde a cada antígeno clase I. Existen otros genes reconocidos debido su gran homología a con los anteriores, como genes no clásicos de clase I. Fueron designados como HLA-E, F y G, que incluyendo 12 pseudogenes hacen un total de 18 genes identificados en la región n de clase I (126, 127, 128).

La región MHC de clase II contiene en el orden de cercanía a del centrómero a los genes DP, DNA, DMA, DMB, DOB, DQ y DR, apesar que no se conocen productos de DNA y DOB se ha demostrado la presencia de RNA.

Los nuevos genes DMA (antes RING 6) y DMB (antes RING 7) se hallan entre las regiones de los genes DOB y DNA. Los productos de estos genes interfieren en forma relevante en la presentación de antígenos por clase II, en la etapa en que la cadena invariable cubre al surco o nicho del clase II (129, 130). A diferencia de clase I cada antígeno de clase II es codificado por 2 genes uno que codifica la cadena alfa y otro codifica la cadena beta. El polimorfismo de los antígenos HLA-DR sólo radica en las cadena beta (codificada por los genes DRB1 y /o B3; B4 y B5), el antígeno consta de uno de dos posibles heterodímeros procedentes de dos cromosomas. En contraste, como el polimorfismo de DQ está en las cadenas alfa (gen DQAI) y beta (gen DQBI), existe uno de cuatro posibles heterodímeros que se originan de la combinación en cis y trans de los genes DQAI y DQBI procedentes de los dos cromosomas paternos. Los haplotipos DR3, DR5 y DR6 tienen un 100% de correlación con producto DRB3 llamado DR52 y el DR4, DR7 y DR9 tienen un 100% de correlación con el producto DRB4 o sea del DR53. Estos hallazgos se explican por la diferencia de composición génica en los diferentes haplotipos (84).

FIGURA 2
ESTRUCTURA CRISTALOGRAFICA DE LOS ANTIGENOS CLASE
I Y CLASE II: HLA-B27 Y DR1



Tomado de Bjorkman y col. (133) y Brown y col. (132)

El antígeno clase I está conformado por las regiones $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$. $\alpha 1$ y $\alpha 2$ son una estructura de doble hélice que rodea a una plataforma β -plegada. En este surco se une el péptido y en esta zona radica todo el polimorfismo de la molécula clase I.

El antígeno clase II es similar, pero el surco de unión al péptido está formado por las α -hélices de dos dominios polimórficos $\alpha 1$ y $\beta 1$ que unen a la estructura β -plegada. Los dominios constantes son $\alpha 2$ y $\beta 2$.

2.6.- Antígenos del MHC, nomenclatura y herencia

Actualmente existen 158 antígenos definidos por métodos serológicos y celulares: 27 antígenos HLA-A, 59 antígenos HLA-B, 10 HLA-C, 26 antígenos HLA-D, 24 antígenos HLA-DR, 9 antígenos HLA-DQ y 6 antígenos HLA-DP, dando como resultado un gran polimorfismo. Con las técnicas moleculares se han identificado 423 variantes alélicas, llevando a un micropolimorfismo impresionante que lo hace el sistema más polimórfico identificado hasta el momento. La nomenclatura de estas microvariantes se deriva de la nomenclatura estándar del antígeno original y se designan con un asterisco que indica que el alelo ha sido definido molecularmente (11). Se agrega luego un número que indica la variante establecida. Por ejemplo para el antígeno B27 existen 9 variantes alélicas llamadas B*2701 al B*2709. Para el locus HLA-DP hay 6 antígenos y el micropolimorfismo indica que hay 61 variantes alélicas (108, 111)

Los alelos HLA se transmiten en forma mendeliana simple codominante y cada individuo hereda un haplotipo HLA de cada progenitor. Los estudios familiares permiten identificar los alelos del padre y de la madre y seguir su segregación en una genealogía. Todos los hijos comparten un haplotipo paterno y uno materno y la probabilidad de que dos hermanos hereden los mismo haplotipos es de un 25%; la probabilidad de que compartan uno sólo es de un 50%, y la probabilidad de que sean completamente diferentes es de un 25% (108).

Si los genes en las poblaciones se distribuyeran en forma independiente, la frecuencia con la que se combinaría cualquier par de antígenos relacionados, codificados en loci diferentes dentro de un haplotipo sería el producto de su frecuencia en la población. Sin embargo, algunos antígenos se asocian con mucho mayor frecuencia que la esperada por el azar. Por ejemplo, el HLA-A1 y el HLA-B8 se asocian con una

frecuencia de 6 a 21 veces más de lo esperado por la frecuencia de sus genes. Este fenómeno se denomina "desequilibrio de enlace" o de ligamiento y es una característica muy importante del MHC (108).

2.7.- Función del MHC.

El enorme polimorfismo de la región de HLA esta esencialmente dirigido a la discriminación de lo propio de lo no propio puesto que las moléculas MHC reconoce antígenos extraños en el contexto de los productos del MHC del huésped. Los linfocitos T requieren que los péptidos estén permanentemente asociados a los nichos clase I o II para que su TCR (receptor del linfocito T) lo reconozca y se pueda activar. Existe un surco profundo entre las regiones de las alfa hélices conformados por una estructura beta plegada en la molécula de HLA. Cuando el surco está ocupado por un péptido antigénico se presenta a los linfocitos T (modelo de hot dog). Hoy se conoce con exactitud los aminoácidos que anclan al péptido y las cadenas laterales que son reconocidas por los linfocitos T asociado al complejo HLA-antígeno (131, 132, 133, 134). La formación del complejo trimolecular HLA-péptido/TCR es esencial para el reconocimiento de antígenos extraños por lo linfocitos T. Una molécula propia también puede presentarse por este mismo mecanismo, pero en condiciones normales no hay una respuesta alterada, aunque en algunos sujetos por diversos mecanismos, esto desencadena una enfermedad autoinmune (135).

Los péptidos derivados de la síntesis endógena son generalmente presentados por moléculas HLA clase I y los péptidos derivados de antígenos solubles exógenos son generalmente presentados por moléculas HLA clase II. El complejo HLA clase I-péptido es reconocido por linfocitos T citotóxicos CD8+ y el HLA clase II-péptido es reconocido por linfocitos T cooperadores CD4+. Hay evidencias de que el complejo HLA-DQ-péptido también activa a los linfocitos T que ejercen supresión. El tamaño de los péptidos

que se presentan por los HLA clase I es de 8-9 aminoácidos; el nicho de clase II es más flexible pues capta péptidos de 10-22 aminoácidos (135).

3.- PAPEL DE LOS LINFOCITOS T EN LA RESPUESTA INMUNOLOGICA

Los linfocitos T reconocen a los antígenos extraños presentados por los HLA de la siguiente manera:

A).- El antígeno en el clase I o II es reconocido por los TCRs, que están compuestos por una cadena alfa, una beta (TCR- 2), una gama y una delta (TCR-1), asociados a un soporte formado por 5 cadenas de proteínas (γ , δ , ϵ , ζ , η) llamado complejo CD3 que reconoce directamente al complejo HLA-péptido. Igual que las inmunoglobulinas, las cadenas alfa, beta, gama, delta tienen una región variable (V) y una región constante (C). La región V de alfa está codificada por los genes V y J y la región V de la cadena beta está codificada por los genes V, J y D. El enorme repertorio del reconocimiento de los TCRs se debe a la recombinación y rearreglo de estos genes, que existen a lo largo del genoma. La región V contiene 3 o 4 regiones hipervariables que forman una región complementaria determinante llamada CDR1a la cual se une al complejo HLA-péptido. El CD3 transmite la señal de la activación de los linfocitos T. Después de que la cadena alfa y beta del TCR se unen al complejo HLA-péptido, las moléculas CD4 y CD8 se unen a la región constante de la molécula de HLA, reforzando la unión entre el TCR y el complejo HLA-péptido la cual se hace más sólida al unirse a las moléculas de adhesión celular, molécula I (ICAM-1) así como el antígeno asociado al funcionamiento de linfocitos (LFA-1), LFA-3 y LFA-2 (CD2), los que facilitan la interacción y adhesión entre las CPA y los linfocitos T. Varias tirosin-cinasas, son enzimas fosforiladas interactúan con un sustrato y las proteínas de membrana, importantes en la transducción de la señal en los procesos de activación de los linfocitos T. Después de que el TCR reconoce al complejo MHC-antígeno, las tirosin-cinasas (lck y fyn) son fosforiladas y

se activan por la tirosin-fosfatasa del CD4+ la que foforila a varios sustratos intracelulares mediando la señal de transducción que resulta en la degradación y activación del fofaditilnocol y protein cinasa C (PKC) que redunda en la activación del linfocito T (84, 136, 137, 138).

B).- Inducción de la citotoxicidad mediada por linfocitos T citotoxicos (Tc). La activación de los Tc requiere de la participación de linfocitos T cooperadores (Th) y del complejo HLA clase II-péptido presentado por las CPA. La presentación del complejo HLA clase I-péptido a las precursoras de Tc induce la expresión de receptores para Interleucina 2 (IL2) en estas células. Sin embargo su crecimiento y diferenciación requiere de la ayuda de los linfocitos Th que reconocen al complejo HLA clase II-péptido sobre de la CPA. El precursor de Tc es estimulado por la IL2 es liberada de los Th1 al ser éstos activados por CPA lo cual produce la diferenciación a los Tc precursoras en Tc con actividad asesina. Los linfocitos Th1 producen IL2 e interferon gama por medio de la transducción de la señal mediada por proteínas-cinasa A después de ser activados por el complejo HLA clase II- péptido (84, 139, 140).

C).- Activación de los linfocitos B. Los linfocitos Th también están involucrados en la activación de los linfocitos B. Cuando los Th2 reconocen el complejo HLA clase II-péptido sobre las CPA, estos producen IL-4, IL-5 e IL-6 y estimulan a los linfocitos B a dividirse y diferenciándose en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Estos anticuerpos son específicos contra antígenos exógenos que se eliminan mediante la activación del complemento y activan a células K dependientes de anticuerpos. Estos Th2 tiene receptores para IL-1 y se activa a través de la proteinacinasa C (PKC) para producir IL-4, 5 y 6 (84).

D).- Reconocimiento de aloantígenos del MHC. Los antígenos no propios MHC que inducen la respuesta inmunológica más intensa. La respuesta de estos antígenos es poderosa en el rechazo de aloingertos e involucran la eliminación de antígenos exógenos solubles por mecanismos similares a los ya descritos. En el mecanismo clásico, las

moléculas alogénicas de clase I se unen a las clase II en las CPA y forman complejos clase II-aloantígeno el cual presenta a los aloantígenos a los linfocitos Th CD4+. En el segundo mecanismo los aloantígenos extraños o de clase I son directamente reconocidos por los linfocitos Th CD8+ sin la mediación de las CPA o de las moléculas HLA clase II. Los linfocitos Th CD8+ participan en forma exclusiva en la respuesta alogénica en contra de las moléculas clase I y contra ciertos antígenos virales. El reconocimiento alogénico de los clase II es a través de los Th CD4+. Estos mecanismos son responsables del rechazo intenso de aloinjertos y son determinantes importantes en el pronóstico de trasplante clínico (84, 141, 142, 143, 144, 145, 146).

4.- MECANISMOS MOLECULARES DE ASOCIACION ENTRE HLA Y LAS ENFERMEDADES.

El MHC juega un papel central en la patogénesis de las enfermedades con participación inmunológica. Se sabe que existen genes HLA particulares relacionados con un riesgo alto de desarrollar ciertas enfermedades, y se han postulado 3 teorías para explicar esta relación (84).

A).- Los diferentes alelos HLA tienen una capacidad diferente o alterada para presentar antígenos extraños y generar el reconocimiento por los linfocitos T. Estas diferencias, resultan en algunas ocasiones en la inducción ya sea de una respuesta inmunológica excesiva o insuficiente ocasionando la enfermedad. El análisis de las secuencias de los genes clase II en los pacientes con diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID) indica que la herencia de ciertos alelos DQA y DQB pueden ser importantes en la predisposición a esta enfermedad, que se debe a una respuesta autoinmune modulada por células T contra antígenos de los islotes pancreáticos. La resistencia a la DMID se asocia en forma notable con la presencia de ácido aspártico en la posición 57 de la cadena DQ beta. Por el contrario, cuando el ácido aspártico está ausente en la posición 57 y la

arginina está en la posición 52 de la cadena DQ alfa, sobre todo en individuos DR3 o DR4, existe un riesgo mayor de padecer DMID. El residuo DQB-57 está situado en uno de los extremos del surco y la porción DQA-52 está en el otro extremo de la cadena DQ α del HLA-DQ. Además Gorodezky y col. encontraron una contribución importante de la posición DRB-74 que en poblaciones de origen mestizo, y ahora sabemos que en otras también son esenciales para el desencadenamiento DMIDI. De esta manera los aminoácidos en DRB-74, DQA-52 y DQB-57 influyen en grado variable en la unión del péptido para presentarlo al receptor de la célula T al clase II para despertar una respuesta autoinmune contra los antígenos de los islotes pancreáticos (81, 86, 109, 111, 147, 148, 149, 162). La artritis reumatoide es otro ejemplo similar pues la presencia de residuos básicos en DRB-70, arginina en 71, residuos ácidos en 74 y valina o glicina en 86 están relacionados con la susceptibilidad o resistencia de la enfermedad (148, 163). En la narcolepsia la asociación con ciertas variantes del DR2 es absoluta en población japonesa y caucasoide. Existe un fenómeno similar y es esencial la presencia de en DRB-30 y 37 (84) al igual que el péñfigo vulgar donde el ácido aspártico DRB1-57 juega un papel central en la protección (150).

B).- Los genes HLA pueden ser solamente un marcador genético y los verdaderos genes de susceptibilidad o resistencia, pueden localizarse cerca de ellos por lo que entrarán en desequilibrio de enlace. En este caso las anomalías en los genes o ciertas alteraciones pueden inducir la enfermedad y pareciera que si el gen no HLA pudiera codificar para una proteína biológicamente importante. Así una delección como es el caso de la hiperplasia suprarrenal congénita la cual es ligada al HLA-B47 se debe a una delección en el gen funcional CYP21B que codifica para la síntesis de la 21 hidroxilasa, localizado en la región de clase III (151).

C).- La homología de secuencias de aminoácidos entre HLA y algunos antígenos extraños puede inducen la formación de anticuerpos o de linfocitos Tc dirigidos contra antígenos propios HLA en otros, debido a la reactividad cruzada (mimetismo molecular)

desencadenando una enfermedad autoinmune. Esta hipótesis se basa en la premisa que los antígenos extraños difieren lo suficiente de los HLA como para que no exista la tolerancia inmunológica contra ellos, pero son lo suficientemente similares como para producir reacción cruzada. En la espondilitis anquilosante que tiene asociación indudable con el HLA-B27, hay homología entre ciertas secuencias de la nitrogenasa de *Klebsiella pneumoniae* y cualquier variante B27 lo sugiere que ciertos componentes bacterianos pueden ser responsables del desarrollo de la enfermedad en el hospedero B27+ (64, 152). Entre ellas las enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso diseminado, la artritis reumatoide del adulto, la diabetes mellitus tipo I la enfermedad celiaca entre otras.

Hay mas de 500 entidades clínicas que se han asociado al MHC y se ejemplifican las más clásicas. En el cuadro 2 (153).

CUADRO 2

HLA Y ENFERMEDAD

PATOLOGIA	HLA ASOCIADO	RIESGO RELATIVO
HEMATO ONCOLOGICAS		
Leucemia linfocitica aguda	DP5	7
Enfermedad de Hodgkin	A1	2
Cancer Nasofaringeo	B46	2
Deficiencia de IgA	A11	3
Sarcoma de Kaposi	DR5	4
SIDA	DR5	3
Seminoma	DR5	3
Sarcoma	A2	6
Cancer de Tiroides	DR7	4
Leucemia HTLV1	DQ3	4
Purpura autoinmune	DR3	78
REUMATOLOGICAS		
Espondilitis anquilosante	B27	88
Sindrome de Reiter	B27	37
Artritis reactiva	B27	38
Poliarteritis reumatoidea	DR4	4
Artritis Juvenil	DR8	7
NEFROLOGICAS		
Sidrome nefrótico infantil	DR7	7
Forma Cortico-Sensible	DR3	3
Forma Cortico-Resistente	DR3	5
Sindrome Goodpasture	DR2	16
Glomeronefritis extramembranosa	DR3	124
OFTALMOLOGICAS		
Uveitis Anterior	B27	10
Retinopatía	A29	50

CUADRO 2 (CONTINUA)
HLA Y ENFERMEDAD

PATOLOGIA	HLA ASOCIADO	RIESGO RELATIVO
ENDOCRINOLOGICAS		
Deficiencia de 21-OH		
Forma neonatal	B47	16
Forma tardía	B14	40
Diabetes mellitus insulino dependiente	DR3/4	47
Tiroiditis de Hashimoto	DR3	3
Enfermedad de Basedow	DR3	4
Enfermedad Addison	DR3	6
Miastenia grave	DR3	3
Tiroiditis de Quervain	B35	14
Síndrome de Sjögren	DR3	10
Dermatomiositis	DR3	4
Lupus eritematoso sistémico	DR3	6
DIGESTIVAS		
Hemocromatosis	A3	8
Cirrosis Biliar Primaria	DR3	8
Hepatitis crónica activa	DR3	2
DERMATOLOGICAS		
Psoriasis	Cw6	13
Penfigo	DR4	13
Dermatitis Herpetiforme	DR3	15
Enfermedad de Bencet	B51	6

Algunas parasitosis y otras enfermedades infecciosas, también muestran una relación con el complejo HLA y operan como genes de resistencia o de susceptibilidad, como la neurocisticercosis o la lepra tuberculoide, entre otras (30, 43, 64).

También hay enfermedades metabólicas claramente ligadas a haplotipos HLA específicos, demostrando los efectos de un gen anormal en el cromosoma 6. La hemocromatosis idiopática que es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por absorción excesiva de hierro de la dieta segrega con el haplotipo A3-B14, DR1-DQ5 (65).

5.- HLA Y SU PARTICIPACIÓN EN ENFERMEDADES NEUROLOGICAS

La participación de los genes HLA en algunas enfermedades neurológicas también es determinante. Tal es el caso de la esclerosis múltiple (63, 111) o la parálisis de Bell en el que existen antecedentes familiares en un 46% de los casos. En mexicanos la parálisis de Bell se asocia al DR13, sugiriendo que este antígeno confiere susceptibilidad y el DR4 probablemente participa en la resistencia a la enfermedad. Además, en la fase aguda están incrementados los linfocitos CD8 con una disminución discreta de los CD4 (44).

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad del sistema nervioso central caracterizada por múltiples episodios de inflamación y desmielinización. Las células plasmáticas están presentes dentro de las placas de la EM en la sustancia blanca en los casos avanzados. La presencia de células plasmáticas explican la síntesis continua de anticuerpos IgG oligoclonales en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Además, los linfocitos B, T y macrófagos se encuentran en las lesiones agudas al principio, y hay un aumento de células en el LCR en la fase aguda con un predominio de linfocitos T, con un incremento

en la relación CD4+/CD8+, y presencia de linfocitos T activados en áreas perivasculares. Se ha encontrado relación con DR2,DQ6, DQB1 y DP4 (DPA1 y DPB1) y sobre ensecuencias idénticas en diferentes alelos es evidente (154). Otra patología del sistema nervioso donde el HLA es relevante es la narcolepsia-cataplexia (6,50,103,121). Esta es un desorden del sueño de causa desconocida. Sufriendo con frecuencia sueño de manera involuntaria, estos pacientes pueden padecer cataplexia que es una pérdida por segundos del tono muscular que ocasionan la caída del paciente. La enfermedad presenta una fuerte asociación con HLA, en blancos y asiáticos el 98% de los individuos afectados son DR15-DR2-DQ6 y los haplotipos molecular DRB1*1501, DQA1*0102, DQB*0602 (154).

6.- ESPASMO MASIVO INFANTIL, OTROS TIPOS DE EPILEPSIA Y HLA .

Desde el punto de vista inmunológico y específicamente en el EMI hay algunas alteraciones como las descritas en 1983 por Riikonen quien encontró anticuerpos en contra del tejido cerebral (57,88, 99) sugiriendo que el EMI es resultado de una función inmunológica alterada. También se ha encontrado un incremento significativo en el número de células B activadas, sugiriendo una posible participación inmunológica en el EMI y otras epilepsias.

En algunos tipos de crisis se ha informado la participación del HLA. En 1975 Smeraldi informó una asociación entre el síndrome de Lennox Gastaut y el B27 (106). Fichsel y Kessler encontraron un incremento de A1 y B8 en epilepsia de ausencia con un patrón electroencefalográfico de 3 ciclos por segundo de punta onda (106). En las investigaciones de segregación de haplotipos clase I en 53 niños y sus familiares no se encontró ligamiento con la epilepsia. Sin embargo, encontraron una disminución de los haplotipos A1-B8 en los pacientes comparados con la población general, por lo que los autores sugieren que este haplotipo puede conferir protección. (cuadro 3) (37,153).

La localización del gen responsable de la epilepsia mioclónica juvenil (epilepsia mioclónica de Janz) y el estudio de la asociación HLA con la epilepsia han sido una aportación relevante tanto para la localización del gen como para entender su relación con otros tipos de epilepsia. Delgado Escueta y col. localizaron el gen en el brazo corto del cromosoma 6, primero demostrando asociación con HLA y posteriormente la presencia de ligamiento. Este grupo no solo demostró el ligamiento de la epilepsia mioclónica juvenil al cromosoma 6 pues aclaró además que hay otras formas de epilepsia generalizada que se presentan en las familias.

CUADRO 3
ASOCIACION DE HLA CON EPILEPSIA Y ALGUNAS
ENFERMEDADES NEUROLOGICAS

PATOLOGIA	ANTIGENO O HAPLOTIPO	REFERENCIA
Síndrome de Lennox-Gastuat	B7	106
Crisis de Ausencias	A1 B8	106
Espasmo Masivo Infantil	DR52	56
Epilepsia Mioclónica Juvenil de Janz	DR6, DR13	35, 90
Esclerosis Multiple	DR2	154
Narcolepsia	DR B1 *1501	153
Síndrome de Guillain Barre	DR3	153
Neurocisticercosis	A28	30
Parálisis de Bell	DR13	44

Los datos de ligamiento mostraron que el mismo locus es responsable de las formas que no son epilepsia mioclónica juvenil y que ocurren en los mismos familiares. Es posible que la presencia de dosis variables del alelo de susceptibilidad en el locus de la epilepsia mioclónica juvenil pueda conducir a la expresión de formas diferentes de epilepsia o tal vez hay un locus en otro cromosoma que actúa en forma epistática determinando la manifestación final (48, 49). En 1992 se publicó la asociación de DR6 con la epilepsia mioclónica Juvenil (35). Pero como el DR6 se subdivide en DR13 y DR14 sólo mediante el análisis a antígenos privados se puede documentar una asociación verdadera. Dos años después Obeid y col (35), informaron con 32 pacientes no relacionados una asociación del HLA-DR13 con la epilepsia mioclónica juvenil con un riesgo relativo de 4.85 ($p < 0.002$) (90) confirmando los hallazgos de Durner y col. En la epilepsia parcial benigna con punta-onda centrot temporal (epilepsia rolándica benigna) no se encontró ligamiento, lo que sugiere que este tipo de epilepsia es genéticamente diferente a la epilepsia mioclónica juvenil, aún cuando tienen similitudes clínicas importantes (119). El mismo autor informó ausencia de ligamiento en la epilepsia mioclónica juvenil dando lugar a la hipótesis de que existen subtipos de epilepsia mioclónica juvenil y que no en todas el gen responsable se encuentra en brazo corto del cromosoma 6 (120).

Minev y col analizaron los tipos tónico clónico generalizadas, ausencias, ambos tipos y parciales de la epilepsia en niños y no encontraron asociación con clase I, pero sí un incremento significativo del DR5. Este antígeno se subdivide en DR11 y DR12 por lo que ahora será importante analizar las microvariantes de ellos que son más de 15 para los dos antígenos (83).

En 1978 se realizó el primer estudio el EMI y sus relación con HLA. Howitz y Platz estudiaron a 21 niños criptogénicos y sintomáticos pero sólomente investigaron antígenos clase I. Tipificaron a 19 pacientes y los compararon con 1967 adultos sanos de la misma población, sin encontrar ninguna diferencia significativa (55).

Hrachovy y col. estudiaron a 29 pacientes con EMI y los compararon con un grupo de 218 individuos sanos formados por una mezcla de caucásicos, blancos, negros e hispánicos. No encontraron ninguna asociación con clase I, pero identificaron una asociación con el DR52. Además en 3 de 12 pacientes caucásicos se encontró el haplotipo B18-DR3 (DR52) que no se identificó en ninguno de los sujetos sanos de origen caucásico. Sugieren que el DR52 contribuye al mecanismo inmunológico que pueda estar involucrado en esta enfermedad (58). Sin embargo hay que tomar estos resultados con mucha cautela pues la comparación de sólo 29 pacientes puede no tener ningún valor sobre todo por que se analizaron todos los sujetos como un sólo grupo y se compararon con los datos mezclados de caucasoides, hispánicos y negros, cuyas frecuencias son muy diferentes entre una población y otra. Analisis como lo mencionados conlleva a un error estadístico muy importante.

Es importante enfatizar que hay muy pocos estudios hechos en EMI, con series muy pequeñas de pacientes, sin una rigurosa clasificación clínica y con poco rigor de selección testigos. Por otros motivos es fundamental integrar el EMI con mayor profundidad con pacientes clinicamente muy bien caracterizados y con tamaños de muestra mayor.

III JUSTIFICACION

Existe una asociación clara entre algunas enfermedades del sistema nervioso central y los antígenos HLA, tanto en las enfermedades con características autoinmunes, como en las que no se ha encontrado un patrón inmunológico claro. En el EMI se ha informado una asociación del DR52 y se ha propuesto una etiología a autoinmune, pero no se ha logrado establecer claramente la participación de patrones genéticos y se desconoce totalmente la participación del MHC en mexicanos. Por otro lado los estudios previos o están hechos con grupos muy pequeños de pacientes o están comparados con testigos de origen étnico mezclado o solo se investigaron clase I.

Este estudio también permite conocer la clasificación clínica de los pacientes del Instituto Nacional de Pediatría y el patrón genético del MHC en el EMI en mexicanos.

IV HIPOTESIS

A).- Existen un gen de susceptibilidad y/o de protección ligado a alguno de los loci del MHC en el EMI en la población estudiada.

B).- Al estudiar a las familias con cuando menos 2 miembros afectados con EMI se podrá determinar si existe o no ligamiento HLA.

C).- Con el estudio sistemático de los pacientes se podrá conocer las enfermedades que se asocian a esta patología así como las características neurológicas de la población EMI del INP.

D).- Si existe asociación del espasmo masivo y MHC será posible conocer si el MHC determina parcialmente la expresión de la enfermedad y/o la severidad del padecimiento, al hacer correlaciones HLA con todos los parámetros clínicos incorporados.

V OBJETIVOS

5.1.- Primarios

A).- Comparar la distribución de antígenos HLA de los pacientes con un grupo de sujetos sanos asintomáticos de la población general y buscar si existe correlación de la enfermedad con algún antígeno HLA

B).- Identificar los antígenos HLA clase I y clase II, en pacientes con EMI y sus familiares de primer grado en el caso de ser informativo el análisis familiar. Se efectuará un análisis de segregación de haplotipos compartidos y se buscara el modo de herencia, si que existe segregación de la enfermedad con el MHC.

5.2.- Secundarios

A).- Conocer la frecuencia de espasmo infantil en los pacientes de la clínica de neurología del Instituto Nacional de Pediatría y la frecuencia con la cual se presenta asociado a otras enfermedades conocidas (sintomático).

B).- Establecer los subgrupos de espasmo infantil.

VI METODOLOGIA GENERAL

6.1.- Diseño del estudio

El estudio es comparativo, observacional, transversal y prolectivo.

6.2.- Elección de pacientes:

Población objetivo: Ingresaron al estudio todos los pacientes que se captaron en el Servicio de Neurología del Instituto Nacional de Pediatría (INP) y que tenían el diagnóstico de EMI en el lapso comprendido de marzo de 1993 a septiembre de 1994. Estos pacientes eran de nuevo ingreso o subsecuentes e incluyeron casos sintomáticos (secundario), con etiología conocida, (ver anexo 1) o del grupo criptogénico (primario) sin etiología aun determinada (ver anexo 2). También se incluyeron a las familias de los pacientes que cumplieron con los criterios de selección. Los resultados de la tipificación de antígenos HLA de los pacientes no relacionados se compararon con los de 229 sujetos aparentemente sanos (asintomáticos) pertenecientes a la población mestiza mexicana.

6.3.- Criterios de inclusión

A.)- Se incluyeron a pacientes con el diagnóstico de *espasmo masivo infantil, con epilepsia activa o controlada, criptogénicos o sintomáticos (asociados a enfermedades conocidas), de ambos sexos.

B.)- Todos ellos eran mestizos mexicanos (hijos de padres mexicanos, sin familiar directo extranjero hasta la tercera generación de sus ancestros padres y abuelos).

C.)- Se incluyeron familias donde habían cuando menos dos hijos del mismo padre y madre con la enfermedad. También se incluyeron familias con gemelos mono o dicigóticos con uno o ambos gemelos afectados.

D.)- En todos los casos se requirió del consentimiento por escrito del padre o tutor para ingresar al protocolo (ver anexo 4)

* El diagnóstico de espasmo infantil se lleva a cabo clínicamente. Consiste en un tipo de epilepsia en la cual el paciente presenta crisis con extensión y/o flexión de las extremidades inferiores y flexión de las extremidades superiores, con contracción de los músculos abdominales y de los miembros inferiores (de flexión). Este puede ser con extensión tanto de los miembros inferiores como de los superiores (de extensión). Dichas crisis son edad dependiente y pueden iniciar desde el primer mes de vida hasta los 14 meses de edad. Es muy poco frecuente que inicien después. A medida que pasa el tiempo se pueden agregar otro tipo de crisis o inclusive pueden desaparecer las crisis de tipo espasmo y persistir otro tipo de crisis o no presentar ninguno. Por estos motivos se incluyeron pacientes que en el momento de ingreso al protocolo sólo tenían el antecedente de haber padecido crisis de EMI. El diagnóstico fue hecho por neuropediatras del INP y todos los pacientes tenían expediente en la Institución. Para el diagnóstico (en caso de tener epilepsia activa) se observaron directamente las crisis y ante la duda diagnóstica se llevó a cabo filmación de las crisis y se interpretaron en conjunto por los neurólogos pediatras del equipo de trabajo. Se excluyeron aquellos casos en los que había duda diagnóstica.

6.4.- Criterios de eliminación

A).- Aquellos que voluntariamente decidieron salir del protocolo, decisión que fue tomada por el padre o tutor del paciente .

6.5.- Evolución:

A todos los pacientes de nuevo ingreso se les realizó historia clínica de acuerdo al formato del Instituto Nacional de Pediatría y se llenó una hoja de recolección de datos del protocolo (ver anexo 5) Los datos recabados fueron corroborados dentro de las siguientes 24 hs por el Dr. Gonzáles Jefe del Servicio de Neurología. Ante la duda de los antecedentes genéticos, se les citó nuevamente para verificación.

6.6.- Exámenes de laboratorio y gabinete

Exámenes generales: A los pacientes de nuevo ingreso se les efectuó al ingreso, exámenes de laboratorio y gabinete y a los pacientes que ya contaban con expediente y con todos estos estudios se completaron en citas posteriores. Dichos estudios se señalan en el cuadro 4.

CUADRO 4

ESTUDIOS REALIZADOS A LOS PACIENTES

LABORATORIO:

- a) **Biometría a hemática**
 - Hemoglobina
 - Hematocrito
 - Leucocitos y diferencial
 - Eritrocitos
 - Plaquetas

- b) **Velocidad de sedimentación n globular.**

- c) **Química sanguínea:**
 - Glucosa
 - Úrea
 - Creatinina

- d) **Pruebas de funcionamiento hepático tico**
 - Proteínas totales
 - Albumina
 - Globulina
 - Transaminasa glutámico pirúvica
 - Transaminasa glutámico oxalacética
 - Fostatasa alcalina
 - Tiempo de protombina

- e) **Tamiz metabólico**

- f) **Examen general de orina**

GABINETE:

- a) **Electroencefalograma**
- b) **Tomografía Axial Computarizada simple y contrastada**
- c) **Electrovideencefalograma ***

* Sólo en aquellos casos donde existía duda diagnóstica

6.7.- Tipificación de antígenos HLA clase I y clase II

Después de ingresar al protocolo (en otra fecha diferente a la toma de muestras de laboratorio) se tomaron 20 ml de sangre venosa con heparina a los pacientes y en los casos en los que contaban con un familiar potencialmente informativo también se tomaron muestras de los padres y los hermanos para la determinación de antígenos HLA A, B, C, DR y DQ. Estas determinaciones se realizaron en el Departamento de Inmunogenética del INDRE. La tipificación se llevó a cabo sobre linfocitos T para antígenos clase I y sobre linfocitos B para antígenos clase II como se describe a continuación.

Para el análisis genético de los antígenos HLA clase I y clase II se incluyeron a 229 sujetos aparentemente sanos y a los 65 pacientes que ingresaron al protocolo se tipificaron los antígenos HLA-A, B, C, DR y DQ, mediante las técnicas estándar de microdifusividad.

I.- Obtención de linfocitos totales a partir de sangre periférica (46).

Reactivos:

1.- Solución de ficoll-hypaque:

Ficoll 9% en agua destilada 12 partes

Hypaque 34% en agua 5 partes

El hypaque es una diatrizoato de sodio en presentación n al 50% y al 50% y 75%. En el primer caso se diluye 1:1.47 (10 ml de hypaque al 50% y 4.7 ml. de agua destilada) en el segundo caso se diluye 1: 1.2 (10 ml de hypaque al 75% y 11 ml de agua destilada). La densidad de la mezcla deberá ser de 1.076-1.077. Se puede utilizar Lymphoprep o cualquier otro reactivo comercial equivalente.

2.- Solución de Hanks normal

3.- Medio RPMI 1640 o TC 199

METODO:

- 1.- Se toman 20 ml de sangre venosa, con heparina (1000 UI/ml). o con ACD.
- 2.- Se Diluye la sangre con un volumen igual de solución de Hanks normal.
- 3.- Se colocan en varios tubos 2.5 ml de la solución de ficoll-hypaque o de

Lymphoprep

4.- Se estratifica cuidadosamente la sangre diluida (7.5 ml aprox) sobre la solución de ficoll-hypaque, o de Lymphoprep y se centrifuga a 1500 rpm durante 30 a 35 minutos a temperatura ambiente.

5.- Después de la centrifugación se aspiran los linfocitos que forman un anillo blanco sobre la interfase, con una pipeta Pasteur y se colocan en otro tubo.

6.- El paquete se diluye con solución de Hanks, se centrifuga 10 min. a 1200 rpm se decanta y se distribuye en tubos Fisher.

7.- Se lavan 4 veces más con Hanks y se centrifuga a 1000 g durante 1 minuto. Se verifican en la cámara de Neubauer que no haya plaquetas.

8.- El paquete resuspende en 1.0 ml de medio RPMI.

9.- Las células se cuentan y se ajusta la suspensión a la concentración de células requeridas, usando el medio RPMI.

II.- Separación de Linfocitos T y B por columna de nylon (46).

REACTIVOS:

1.- Fibra de nylon .

Preparación de la columna de nylon;

1.- Se pesan 70-90 mg de nylon peinado y se sumergen en 5 ml o más de solución de Hanks normal.

2.- Se corta un popote común a una altura de 10 cm. aproximadamente y se cierra a la flama en ángulo de 45 grados.

3.- La lana bien peinada se empaca en el popote uniformemente y en forma laxa, ocupando una altura aproximada de 5 cm, Cuidando que no llegue al extremo cerrado. Se hace un orificio en el extremo cerrado del popote para permitir la salida del líquido. Se lava una vez con medio TC precalentado a 37°C (con suero de ternera fetal al 5%) y se incubaba durante 30 min. en forma horizontal. Se saca la columna y se elimina todo el medio.
Separación de linfocitos B y T en la columna (46)

METODO:

1.- Las células mononucleares purificados. Se resuspenden en 1.0 ml de medio y se pasan a la columna hasta que todo el líquido penetra a la lana. Inmediatamente después se coloca la columna en forma horizontal y se le agrega suficiente medio para evitar la evaporación (con la precaución de que no que aire en la lana y el medio)

2.- Se incubaba horizontalmente durante 30 min. a 37° C.

3.- Se coloca la columna sobre un tubo marcado como linfocitos T y se deja escurrir el contenido.

4.- Se lava 3 veces con alícuotas de 5 ml de medio RPMI con suero de ternera fetal al 5% calentado a 37° C. las células T se cuenta y ajustan a 2.5×10^6 /ml.

5.- Los linfocitos B que se han adherido al nylon se recuperan en otro tubo marcado como linfocitos B, presionando y exprimiendo el nylon.

6.- Se repite el procedimiento 2 a 3 veces con alícuotas de 5 ml de medio frío, que contiene 0.5% de suero de ternera fetal o suero AB, se lava una vez con medio.

7.- Se centrifugan las células T y B a 1500 rpm durante 5 min. Se tira el sobrenadante y se ajusta a 2.5×10^6 /ml con medio completo simple (26, 46).

TECNICA DE MICROLINFOCITOTOXICIDAD PARA LOS ANTIGENOS CODIFICADOS POR LOS LOCUS A, B, C y DR (46).

REACTIVOS:

1.- Pipetas Pasteur

monoclonales) que identifican a 78 antígenos : 22 del locus A de acuerdo a los datos oficiales del último taller (XI Workshop internacional, 1991) (1, 2, 3, 9, 10, 11, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 43, 66, 68, 69, 74); 50 antígenos del locus B (5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 27, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 70, 71, 73, 75, 76, 77 78 y los supertípicos Bw4, Bw6). Para el locus C estudiarán 10 antígenos (1 al 10). Los productos para clase II se definieron con 2 placas que contenían antisueros y anticuerpos monoclonales para identificar un total de 29 antígenos: 21 antígenos del locus DR (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, y los supertípicos DR51, 52, 53). Del locus DQ se definieron a los 9 antígenos (DQ1, al DQ9) Estos reactivos pertenecen al Banco de sueros del Departamento de Inmunogenética del INDRE. Son reactivos obtenidos y definidos localmente que forman la batería local de antisueros los cuales se enriquecen y renovan continuamente. Además de los antisueros propios, hay sueros provenientes de intercambio internacional. El total de reactivos utilizados para cada tipificación fue de 420.

En las microplacas que contienen antisueros específicos para los productos de los loci A, B y C se siembran las muestras de linfocitos T y en las microplacas con antisueros para los loci DR y DQ se colocan la muestra de linfocitos B.

1.- Se colocan de 1 a 2 ul de la suspensión de linfocitos ajustada a 2×10^6 células en cada una de las excavaciones de la microplaca que contienen los antisueros correspondiente de clase I o clase II. Se agita unos segundos en vortex.

2.- Las cajas con antisueros para los loci A, B y C se incuban durante 30 min. 37° C. Las cajas con antisueros para locus DR se incuban a igual temperatura que las anteriores por 60 min.

3.- Se agregan 5 ul de complemento. Acada subpoblación se le agrega el complemento correspondiente para T o B.

4.- Las placas con anti-clase I se incuban durante 1hr. a temperatura ambiente. Las placas con anti/clase II se incuban durante 2 hs a la misma temperatura.

5.- Posteriormente se agregan 5 ul de solución de eosina al 5% (5g en 100ml de agua dest) pH 7.2

6.- Se agita y se deja reposar durante 5 min.

7.- Se agrega 5 ul de formol pH 7.2

8.- Se elimina el sobrenadante.

9.- Sede deja sedimentar durante 10 min. y se decanta el sobredanante. Se puede guardar en refrigeración toda la noche sellado para evitar la evaporación en frío.

10.- Se leen en un microscopio invertido de 250 aumentos bajo contraste de fase. Se calcula el número de células vivas y muertas. Los linfocitos vivos son refringentes y pequeños y los muertos son opacos y oscuros.

11.- Los resultados se informan de la siguiente manera

0 al 10% de mortalidad	-	(1)
11 al 20% de mortalidad	-/+	(2)
21 al 30% de mortalidad	+/-	(4)
31 al 80% de mortalidad	+++	(6)
81 al 100% de mortalidad	++++	(8)

6.8.- Estudios de gabinete:

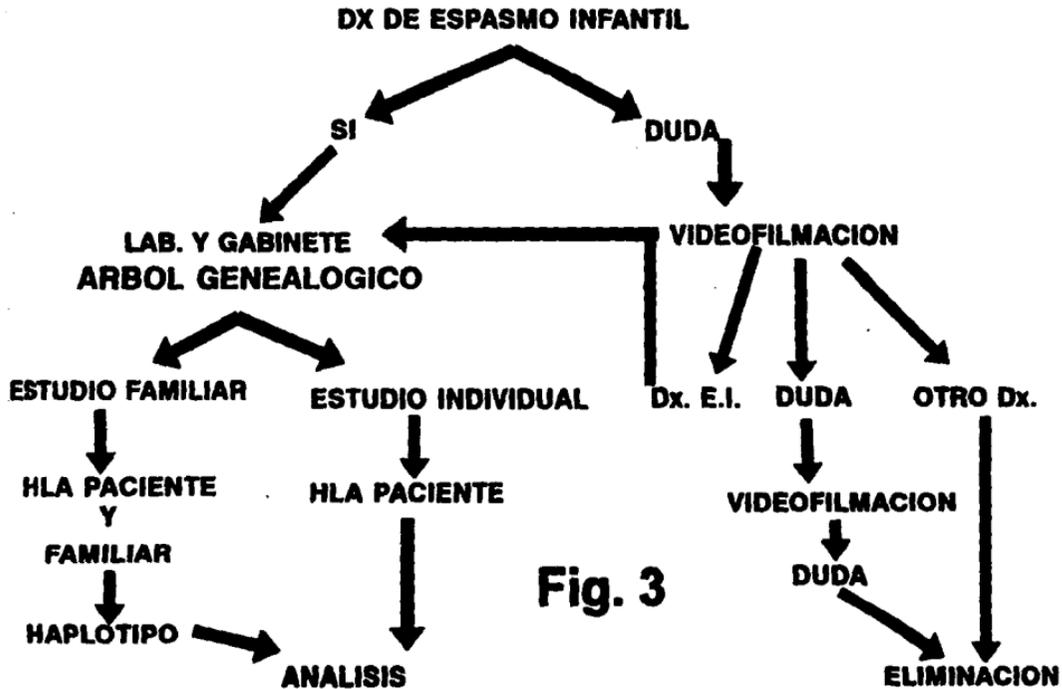
Electroencefalograma: Se les efectuó en la primer semana de ingreso al protocolo.

Tomografía a Axial Computarizada (TAC). A los pacientes de recién ingreso que no tenían TAC ésta se llevó a cabo en el transcurso de los primeros tres meses de haber ingresado al protocolo. A todos los paciente efectuó electroencefalovideofilmación de las crisis en caso de existir duda diagnóstica de espasmo infantil, en la que se corroborara o descartara el diagnóstico. A los pacientes ya conocidos en el INP con diagnóstico de EMI (subsecuentes) se les realizaron todos los estudios necesarios que aun no tenían para completar los estudios requeridos por el protocolo.

Al final de sus estudios los niños continuaron su tratamiento y seguimiento en la clínica de epilepsia de esta misma Institución .

En resumen los paciente siguieron los estudios que se muestran en la figura 3

HLA - ESPASMO INFANTIL FLUJOGRAMA



6.9.- Consideraciones éticas.

El protocolo se sujetó a los postulados propuestos en la declaración de Helsinki adoptados por la 18a Asamblea Médica Mundial en 1964, Finlandia y revisada por la 29a Asamblea Médica Mundial en 1975 en Tokio Japón (155,156,157). Además se sujetó al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, editado por la Secretaría de Salud en 1987 (155).

6.10.- Análisis e interpretación de los resultados

Todas las variables clínicas estudiadas se sometieron a análisis. Se obtuvieron frecuencias de cada parámetro y de todos ellos para cada paciente como se observa en los cuadros en la sección de resultados.

El análisis estadístico de los antígenos HLA se llevó a cabo para la población abierta de la siguientes manera (158,159):

Frecuencias Antigénica (FA) que es la proporción de sujetos del total, portadores de un determinado antígeno. Esta se calcula en porcentaje.

La Frecuencia Génica (FG) se calcula a partir de la FA, la cual se toma en números absolutos mediante la fórmula de Haldane cuya expresión es:

$$FG = 1 - \text{menos la raíz cuadrada de } 1 - FA$$

donde FA = frecuencia antigénica.

La significancia estadística para cada antígeno se determinó usando la chi-cuadrada corregida por Yates con la siguiente fórmula:

$$X^2 = \frac{(ab-bc-N/2)^2 N}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

a= pacientes positivos para el antígeno; b= pacientes negativos;

c= tetigos positivos para el antígeno y d= tetigos negativos

El valor de la probabilidad de P se calculó con un grado de libertad y los valores de la p- corregida (Pc) se obtiene multiplicando el valor de P por el número de comparaciones hechas, es decir el número de antígenos estudiados en cada uno de los loci donde se halla la asociación .

2.- El riesgo relativo (RR), razón de momios, es una medida relativa que evalúa la intensidad de la asociación entre una enfermedad y un antígeno dado. Se calcula para aquellos antígenos que están significativamente incrementados, usando la siguiente formula según Haldane (158,159,160):

$$RR = \frac{(2a+1)(2d+1)}{(2b+1)(2c+1)}$$

Donde: a = pacientes positivos para el antígeno. b: = pacientes negativos para el antígeno. c = sujetos sanos positivos para el antígeno d = sujetos control negativos para el antígeno.

La fracción etiológica (FE) y fracción preventiva (FP) respectivamente se calculan usando las siguientes fórmulas (30,107):

$$FE = \frac{RR-1}{RR} \quad \frac{a}{a+b} \quad y$$

$$FP = \frac{(1-RR)hp}{RR(1-hp)+hp} \quad \text{Donde:}$$

$$hp = \frac{a}{a+b} \quad \text{Donde:}$$

a = pacientes positivos para el antígeno.

b = pacientes negativos para el antígeno.

La Fracción Etiológica (FE) es una medida relativa de cuanto de la asociación se debe al marcador en cuestión. Mientras más se acerca a 1 más se debe la enfermedad al marcador.

La Fracción Preventiva (FP) es una medida relativa que indica cuanto de la protección se debe al marcador, en aquellos casos en los que encuentra un antígeno significativamente disminuido .

Para el análisis comparativo entre sános y afectados no relacionados se aplico la prueba de chi-cuadrada con corrección de Yates para muestras independientes comparando cada uno de los antígenos de los pacientes con cada uno de los antígenos los testigos 229 sujetos del grupo testigo.

Para la evaluación de familias se aplico los siguientes análisis (158,159):

1. Se armaron los 4 haplotipos posibles de acuerdo a los antígenos de los padres que segregan en cada uno de los hijos. De este modo sólo es posible tener los siguientes haplotipos:

A y B, son los haplotipos paternos

C y D son los haplotipos maternos.

Las posibilidades de combinación en la descendencia son AC, AD, BC ó CD.

2. Para evaluar si la segregación de haplotipos están o no en equilibrio de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg, Penrose desarrollo un método basado en el principio de que cuando se toman pares de hermanos al azar, de una serie de familias, ciertos tipos de pares iguales serán más frecuentes, si es que existe ligamiento genético de los 2 caracteres estudiados, enfermedad y el marcador genético , (45, 161). Cudworth y Woodrow simplificaron este método, que se denomina propuesta de pares de hermanos y que es el que se emplea para el análisis de las familias integradas a este estudio, los pares de hermanos se clasifican en tres categorías :

- 1.- Los que comparten 2 haplotipos ;
- 2.- Los que comparten 1 solo haplotipo; y
- 3.- Los que tienen haplotipos diferentes.

Si la enfermedad se segrega en forma independiente de los marcadores HLA, las proporciones esperadas dentro de las tres categorías son 0.25, 0.50 y 0.25 respectivamente. Si existe ligamiento o enlace genético, las proporciones se desvían. En este caso se aplica la chi-cuadrada, para evaluar la significancia estadística de la desviación, que deberá ser menor de 0.05, para considerarla significativa aplicando la fórmula siguiente. (45):

$$X^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

Donde O = observados y E= esperados.

VII RESULTADOS

El protocolo se inició en marzo de 1993. Durante los meses de marzo a mayo se realizó el entrenamiento necesario para la tipificación serológica de los antígenos clase I y clase II mediante la técnica de microlifocitotoxicidad en el Laboratorio de Histocompatibilidad del Departamento de Inmunogenética del Instituto Nacional de Referencia Epidemiológicos (INDRE) de la SSA bajo la dirección de la Dra. Gorodezky. En junio de 1995 se inició con la consulta y selección de pacientes y familiares en el servicio de neurología del Instituto Nacional de Pediatría (INP) de la SSA, así como la tipificación de los sujetos que ingresaron al protocolo.

En el periodo comprendido entre Junio de 1993 a diciembre de 1994 se impartieron un total de 540 consultas dentro del protocolo que representaron el 7% del total de la consulta atendida por la clínica de epilepsia del servicio de neurología a del INP (total de consultas 7,300).

Se captaron a 65 pacientes no relacionados, 7 pacientes en 5 familias y 18 familiares (padres y hermanos) aparentemente sanos. Que hacen un total de 72 pacientes con EMI y 15 familiares aparentemente sanos sumando 87 sujetos. Dado que los hallazgos clínicos en los pacientes de las familias no varían significativamente del grupo de pacientes no relacionados y para su mejor análisis los resultados de ellos se han incorporados a los datos y análisis de los pacientes no relacionados haciendo un total $n=72$ pacientes. Solamente se subdividieron para analizar el complejo HLA de una manera independiente ambos grupos. Los no relacionados $n=62$ y las familias $n=25$.

De los 72 pacientes con espasmo masivo que ingresaron al protocolo el sexo femenino predominó con una relación sobre el sexo masculino de 2.2.: 1 En el cuadro 5 se muestran las características generales de los pacientes y en el cuadro 6 los antecedentes familiares, de epilepsia y de otros problemas neurológicos de los pacientes. En ningún de los progenitores de los pacientes se recabo el antecedente de consanguinidad.

CUADRO 5
CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES

	<u>INTERVALO</u>	<u>PROMEDIO DE EDAD</u>
PACIENTES	2 a. 1 m	1 s. - 15 a.
INICIO	15 s.	1 - 72 s.
EVOLUCION	26 m.	1 s. - 14 a. y 7 m.
EDAD DE LOS PADRES	26 a.	17 - 49 a.
EDAD DE LAS MADRES	23 a.	16 - 36 a.
FEMENINOS	n= 50	69%
MASCULINOS	n= 22	31%

a= años s semanas m= meses

CUADRO 6
ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

	n	%
HERMANO CON EPILEPSIA	1	1.5
HERMANO CON EMI	5	4.2
MADRE CON DERMATOMIOSITIS	1	1.5
MADRE CON ESCLEROSIS LATERAL		
AMIOTROFICA	1	1.5

En cuanto a los datos perinatales, más de la mitad de los pacientes (51%) tienen el antecedente de embarazo con desarrollo normal y una cuarta parte mostró algún antecedente, los antecedentes, Estos hallazgos se muestran en el cuadro 7.

El 68% de los pacientes tuvieron un desarrollo psicomotriz alterado antes de iniciar con el EMI y un 32% un desarrollo sin alteraciones de su inicio, clínicamente la mayoría fueron del tipo flexor como se observan en el cuadro 8 y figura 4 . La exploración clínica mostró que las anomalías más frecuentes fueron la microcefalia, el piramidismo, hipotonía y la espasticidad. Un sólo paciente presentó artrogriposis y dos de ellos manifestaron labio y paladar hendido. Con lo que respecta a enfermedades acompañantes a las crisis y después de realizar los estudios antes mencionados se se obtuvieron los resultados que se muestran en el cuadro 9.

Las crisis del EMI fueron monosintomáticas o acompañadas de otros tipos de crisis en número variable y de diferentes tipos como se muestra en el cuadro 10 y figura 5. De las crisis diferentes al EMI las más frecuentes fueron las parciales motoras (28%), tónicas (24%), tónico clónicas generalizadas (24%). Los medicamentos más utilizados fueron el valproato, fenobarbital y clonazepam. En el cuadro cuadro 11 se muestran los medicamentos empleados. Sin embargo la mayoría está bajo tratamiento con politerapia, la cual se ilustra en el cuadro 12.

El Electroencefalograma (EEG) se practicó a todos los pacientes y el ritmo de base más frecuente fue el desorganizado, seguido de hipsarritmia, bajo voltaje, enlentecimiento, rápido y con un EEG normal. La mayoría tenía algún tipo de paroxismos observándose como se muestra en el cuadro 13.

La Tomografía a Axial Computarizada (TAC) de cráneo simple y con medio de contraste se le efectuó a todos los pacientes. La atrofia corticosubcortical fue el hallazgo más frecuente seguido de las disgenesias cerebrales y de la TAC normal esta distribución como se muestra en el cuadro 14.

CUADRO 7

ANTECEDENTES DE PARTO EN LAS MADRE DE LOS PACIENTES

n=72	n	%
PARTO SIN ALTERACIONES	37	51
CESAREA SIN ALTERACIONES	8	11
PARTO E HIPOXIA	11	15
CESAREA E HIPOXIA	3	4
CESAREA E PREMATUREZ	7	10
PARTO FORTUITO	2	3
PARTO PREMATURO	2	3
PARTO POSTMADURO	1	1.3
UTILIZACION DE FORCEPS	1	1.3

CUADRO 8

TIPOS DE ESPASMO

TIPO	n	%
FLEXOR	51	71
EXTENSOR	11	15
MIXTO	10	14
TOTAL	72	100

CUADRO 9
PATOLOGIAS Y FACTORES RELACIONADOS

	n	%
<u>SINTOMATICO</u>	50	70
HIPOXIA PERINATAL	14	19
DISGENESIA CEREBRAL	14	19
TRAS. HIDRI. ELECTR.	6	8
ESCLEROSIS TUBEROSA	4	6
ENCEFALOPATIA HIPOXICA	3	4
MENIGOENCEFALITS BACTERINAS	3	4
MENIGOENCELITIS VIRALES	2	3
BAJO PESO ALNACIMIENTO	2	3
MALFORMACION ARTERIO VENOSA	1	1.5
HEMORRAGIA PERIVENTRICULAR	1	1.5
<u>CRIPTOGENICOS</u>	19	26
<u>IDIOPATICO</u>	3	4
TOTAL	72	100

CUADRO 10
EXPRESIVIDAD EPILEPTOGENICA EN EL EMI

	n	%
EMI MONOSINTOMATICO	25	35
EMI MAS UNA CRISIS	28	39
EMI MAS DOS CRISIS	9	12
EMI MAS TRES CRISIS	7	10
EMI MAS CUATRO CRISIS	3	4
TOTAL	72	100

CUADRO 11
MEDICAMENTOS EMPLEADOS SOLOS O COMBINADOS

	n
VALPROATO	65
FENOBARBITAL	28
CLONAZEPAN	26
PRIMIDONA	9
CLOBAZAN	6
ESTEROIDES	5
ACETAZOLAMIDA	6
DIFENILHIDANTOINA	2
BROMAZEPAN	1
FLUNITRAZEPAN	1

CUADRO 12

COMBINACION DE LOS DIFERENTES MEDICAMENTOS

	n	%
UN SOLO MEDICAMENTO	18	25
DOS MEDICAMENTOS	29	40
TRES MEDICAMENTOS	18	25
CUATRO MEDICAMENTOS	3	4
CINCO MEDICAMENTOS	1	2
SIN MEDICAMENTOS	3	4
TOTAL	72	100

CUADRO 13

EMI Y ELECTROENCEFALOGRAMA

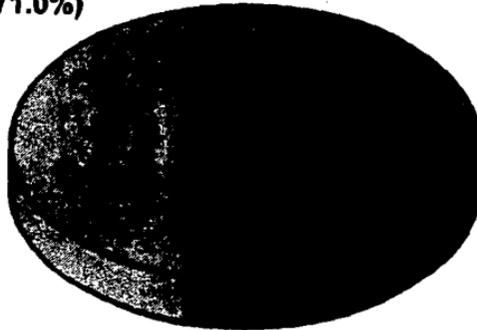
	n	%
<u>I) HIPSARRITMIA</u>	13	18
<u>II) EEG PAROXISTICO</u>	41	57
PUNTA ONDA LENTA	25	35
ONDAS AGUDAS	6	8
POLIPUNTAS	6	8
ONDA LENTA	4	6
<u>III) EEG NO PAROXISTICO</u>	18	25

CUADRO 14
EMI Y TAC DE CRANEO SIMPLE Y CONTRASTADA

	n	%
I) ATROFIA CEREBRAL	43	60
ATROFIA CORTICO-SUBCORTICAL	36	50
ATROFIA CORTICAL	7	9
II) ENCEFALOMALACIA	3	4
III) DSGENECIA CEREBRAL	12	17
PAQUIJIRIA	2	3
HETEROTOPIA	1	1
LISENCEFALIA	1	1
AGENESIA DE CUERPO CALLOSO	1	1
HOLOPROCENCEFALIA	1	1
RETRASO EN LA MIELINIZACION	1	1
DISGENESIA MULTIPLE	5	7
IV) HEMANGIOMA	1	1
V) ATROFIA MAS CALCIFICACIONES	1	1
VI) TAC NORMAL	12	17

TIPOS DE ESPASMO

(71.0%)



(14.0%)

■ FLEXOR
■ EXTENSOR
■ MIXTO

(15.0%)

Fig. 4

ESPASMO INFANTIL + CRISIS ACOMPAÑANTES

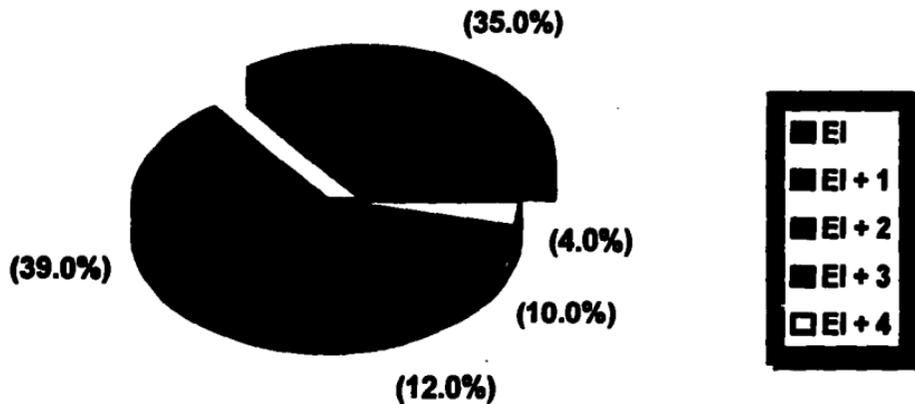


Fig. 5

En los cuadros del 15 al 19 se muestran las frecuencias antigénica de clase I (HLA-A, B y C) y para los antígenos clase II de las regiones HLA-DR y DQ en pacientes y sujetos sanos. Se puede observar que no existe ninguna desviación significativa en ninguno de los antígenos clase I entre sanos y enfermos. En cambio se ve claramente una asociación positiva del DR17 y un decremento significativo del DQ6.

CUADRO 15

FRECUENCIA ANTIGENICA Y GENICA DE ANTIGENOS HLA-A

ANTIGENO	<u>PACIENTES</u> n= 65			<u>TESTIGOS</u> n=229		
	No	FA	FG	No	FA	FG
1	7	0.108	0.055	23	0.100	0.052
2	38	0.585	0.356	125	0.546	0.326
3	2	0.031	0.016	20	0.087	0.044
11	4	0.062	0.031	19	0.083	0.042
23	2	0.031	0.077	5	0.022	0.011
24	19	0.292	0.158	58	0.253	0.136
25	1	0.015	0.008	5	0.022	0.011
26	3	0.046	0.023	10	0.044	0.022
29	6	0.092	0.047	23	0.100	0.052
30	9	0.139	0.072	13	0.057	0.029
31	4	0.062	0.031	32	0.140	0.073
32	3	0.046	0.022	12	0.052	0.027
33	6	0.092	0.047	26	0.114	0.059
34	1	0.16	0.008	1	0.004	0.002
36	0	0	0	2	0.008	0.004
66	1	0.015	0.008	0	0	0
68	10	0.154	0.080	43	0.188	0.099
69	3	0.046	0.023	19	0.083	0.042
Bx	11	0.169	0.089	23	0.100	0.056

FA= Frecuencias Antigénicas FG= Frecuencias Génica
No= Número de sujetos Bx= Blancos

CUADRO 16

FRECUENCIA ANTIGENICAS Y GENICAS DE ANTIGENOS HLA-B

ANTIGENO	PACIENTES				TESTIGOS		
	No	n=65		No	n=229		
		FA	FG		FA	FG	
7	6	0.092	0.047	28	0.122	0.063	
8	6	0.092	0.047	11	0.048	0.024	
13	1	0.015	0.008	13	0.057	0.029	
14	0	0	0	6	0.026	0.013	
15	0	0	0	0	0	0	
16	1	0.015	0.008	3	0.013	0.007	
18	4	0.062	0.031	9	0.039	0.020	
27	1	0.015	0.008	8	0.035	0.018	
35	16	0.246	0.132	78	0.340	0.188	
37	1	0.015	0.008	2	0.009	0.000	
38	2	0.031	0.016	10	0.044	0.022	
39	13	0.200	0.106	34	0.149	0.077	
41	1	0.015	0.008	10	0.044	0.022	
42	0	0	0	3	0.013	0.007	
44	5	0.077	0.039	21	0.092	0.047	
45	5	0.077	0.039	9	0.039	0.020	
47	0	0	0	2	0.009	0.004	
48	6	0.092	0.047	14	0.061	0.031	
49	1	0.015	0.008	9	0.039	0.020	
50	1	0.015	0.008	5	0.039	0.020	
51	16	0.246	0.132	22	0.096	0.049	
52	6	0.092	0.047	5	0.022	0.011	
53	2	0.031	0.016	21	0.092	0.047	
54	0	0	0	1	0.004	0.002	
55	1	0.015	0.008	3	0.013	0.007	
56	0	0	0	1	0.004	0.002	
57	1	0.015	0.008	2	0.009	0.004	
58	1	0.015	0.008	5	0.022	0.011	
59	1	0.015	0.008	1	0.004	0.002	
60	10	0.154	0.080	21	0.092	0.047	
61	2	0.031	0.016	13	0.057	0.029	
62	7	0.108	0.055	19	0.084	0.043	
63	1	0.015	0.008	5	0.022	0.011	
64	3	0.046	0.023	11	0.048	0.024	

CUADRO 16 Continúa.....

ANTIGENO	No	FA	FG	No	FA	FG
65	0	0	0	6	0.026	0.013
67	3	0.046	0.023	5	0.022	0.010
70	0	0	0	3	0.013	0.007
73	1	0.015	0.008	4	0.018	0.009
75	1	0.015	0.008	1	0.004	0.002
76	1	0.015	0.008	0	0	0
78	1	0.015	0.008	0	0	0
Bx	2	0.031	0.016	30	0.131	0.068
Bw4	31	0.477	-----	151	0.659	-----
Bw6	61	0.938	-----	185	0.808	-----

FA= Frecuencia Antigénica FG= Frecuencia Génica
 No= Nú m de sujetos positivos Bx= Blancos

CUADRO 17
FRECUENCIAS ANTIGENICAS Y GENICAS DE ANTIGENOS HLA-C

ANTIGENO	PACIENTES n=65			TESTIGOS n=229		
	No	FA	FG	No	FA	FG
1	10	0.154	0.080	38	0.166	0.087
2	8	0.123	0.064	29	0.127	0.066
3	3	0.046	0.023	3	0.013	0.007
4	33	0.508	0.298	94	0.411	0.232
5	6	0.092	0.047	17	0.074	0.038
6	1	0.015	0.008	21	0.092	0.047
7	24	0.369	0.206	108	0.472	0.273
8	2	0.021	0.016	26	0.114	0.059
9	16	0.246	0.132	28	0.012	0.063
10	14	0.215	0.114	24	0.052	0.054
Bx	13	0.200	0.106	70	0.306	0.167

FA= frecuencia antigénica FG= frecuencia génica
 No = Número de sujetos Bx= Blancos

CUADRO 18

FRECUENCIAS ANTIGENICAS Y GENICAS DE ANTIGENOS HLA-DR

ANTIGENO	PACIENTES			TESTIGOS		
	No	FA	FG	No	FA	FG
	n=65			n=229		
1	7	0.108	0.055	26	0.114	0.059
4	31	0.477	0.277	58	0.253	0.136
7	8	0.123	0.064	39	0.170	0.089
8	15	0.231	0.123	68	0.297	0.162
9	4	0.062	0.031	26	0.114	0.059
10	3	0.046	0.023	10	0.044	0.022
11	10	0.154	0.088	45	0.197	0.104
12	2	0.031	0.016	32	0.140	0.073
13	2	0.031	0.016	27	0.118	0.061
14	4	0.062	0.031	20	0.087	0.045
15	15	0.231	0.123	43	0.188	0.099
16	3	0.046	0.023	11	0.048	0.024
17	18	0.277	0.150	22	0.096	0.049
18	7	0.108	0.055	20	0.087	0.045
Bx	1	0.015	0.008	11	0.048	0.024
DR51, 14.61%						
DR52, 35.38%						
DR53, 32.30%						
FA= Frecuencia antigénica FG= Frecuencia génica						
No= Número de sujetos Bx= Blancos						

CUADRO 19

FRECUENCIAS ANTIGENICAS Y GENICAS DE ANTIGENOS HLA-DQ

ANTIGENO	PACIENTES n=65			CONTROLES n=229		
	No	FA	FG	No	FA	FG
1	3	0.046	0.023	8	0.035	0.018
2	24	0.369	0.206	50	0.218	0.116
3	1	0.015	0.008	0	0	0
4	24	0.369	0.206	67	0.293	0.159
5	19	0.292	0.159	45	0.197	0.104
6	8	0.123	0.064	103	0.064	0.258
7	37	0.569	0.344	92	0.402	0.227
8	11	0.169	0.089	45	0.197	0.104
9	3	0.046	0.023	9	0.039	0.020
Bx	0	0	0	39	0.170	0.089

FA= Frecuencia antigénica FG= frecuencia génica
No= Número de sujetos Bx= Blancos

En el cuadro 20 se observa el incremento significativo del DR17 en los pacientes comparativamente con los sanos ($X^2 = 12.52$, $P=0.0004$). La significancia se mantiene después de corregir multiplicando por el número de comparaciones hechas (P_c 0.01). El $RR= 3.6$ $FE= 0.20$. Por otro lado el DQ6 está disminuido significativamente ($X^2= 24.4$ $P= 0.0001$ y también se mantiene después de la corrección el valor ($P_c =0.0025$) con una $FP=0.37$. Como se observa en las figuras 6 y 7.

Por otro lado se considero muy importante buscar la posible correlación entre las variables clínicas y los antígenos HLA para conocer si hay un factor genético que condicione algún parámetro particular. Las correlaciones se hicieron siempre con el DR17 y el DQ6, dado que estos fueron los antígenos que mostraron una diferencia significativa. Los hallazgos muestran una asociación significativa del DR17 con el subgrupo de los sintomáticos, con los pacientes que tenían otro tipo de crisis además del espasmo infantil y con los que tenían crisis convulsiva tónica clínicas generalizadas (CCTCG), como se muestra en el cuadro 21. El 29% de los pacientes (12/41) con crisis mixtas, es decir con una a cuatro crisis diferentes además del EMI, son DR17.

Las CCTCG, están significativamente asociadas al DR17 pues el 47% de los pacientes con este tipo de crisis son portadores del DR17 positivos.

El patrón hipsarrítmico no mostró ninguna correlación con el DR17. De los pacientes sintomáticos 7/10 carecían del DQ6 incluyendo a los pacientes con hipoxia perinatal. El DQ6 estuvo presente en pacientes con disgenesia, esclerosis tuberosa e hipoxia anoxo-isquémica pero en el grupo idiopático, ningún paciente era portador del antígeno Q6.

CUADRO 20

ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS ANTIGENOS DESVIADOS

<u>DR17</u>	+	-	TOT.	X^2	P	Pc	RR	FE
Pac.	18	47	65	12.52	0.0004	<0.01	3.6	0.20
Test.	22	207	229					
 								FP
<u>DQ6</u>	+	-	TOT.	X^2	P	Pc	RR	FE
Pac.	8	57	64	24.4	<0.0001	<0.0025	0.17	0.37
Test.	103	126	229					

CUADRO 21

ASOCIACION DE LOS ANTIGENOS DR17 Y DQ6 CON ALGUNAS VARIABLES CLINICAS

<u>DR17</u>	+	-	TOTAL	X^2	P	RR	FE
Sintomaticos	11	33	44	6.84	0.009	3.16	0.17
EMI*	12	29	41	10.49	0.001	2.02	0.14
EMI**	7	8	15	15.09	<0.0001	4.21	0.35
Test	22	207	229				
<u>DQ6</u>	+	-	TOTAL	X^2	P	RR	FE
Sintomaticos	6	38	44	13.83	<0.0001	0.16	0.40
Test.	103	164	229				

EMI* = Pacientes con EMI mas otras tipos de crisis
 EMI** = Pacientes con EMI y crisis convulsivas tónico clónicas generalizadas.

DISTRIBUCION DE ANTIGENOS HLA-DR

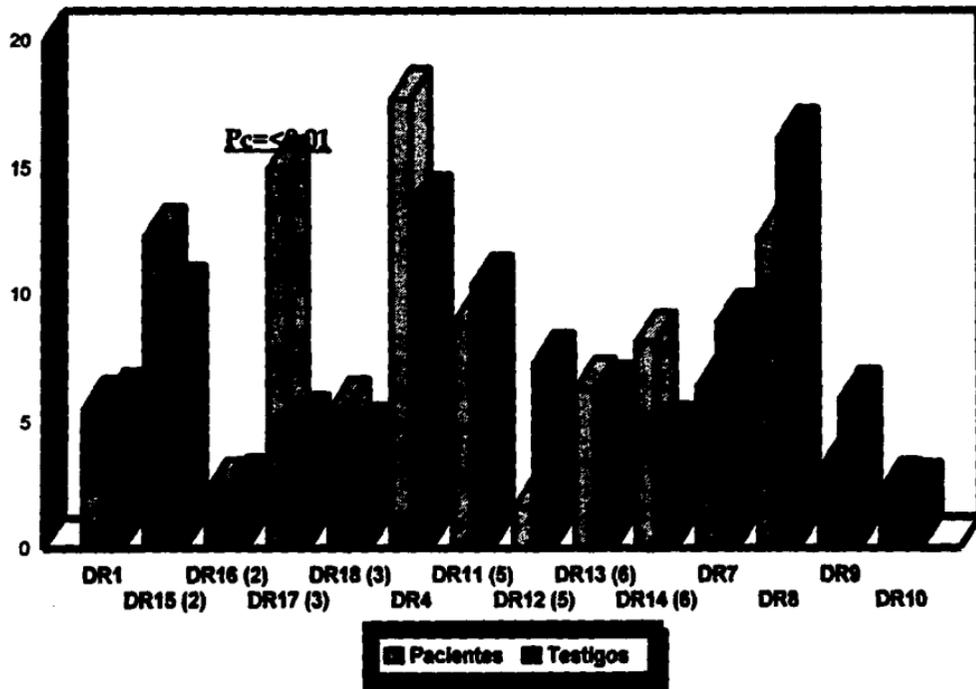
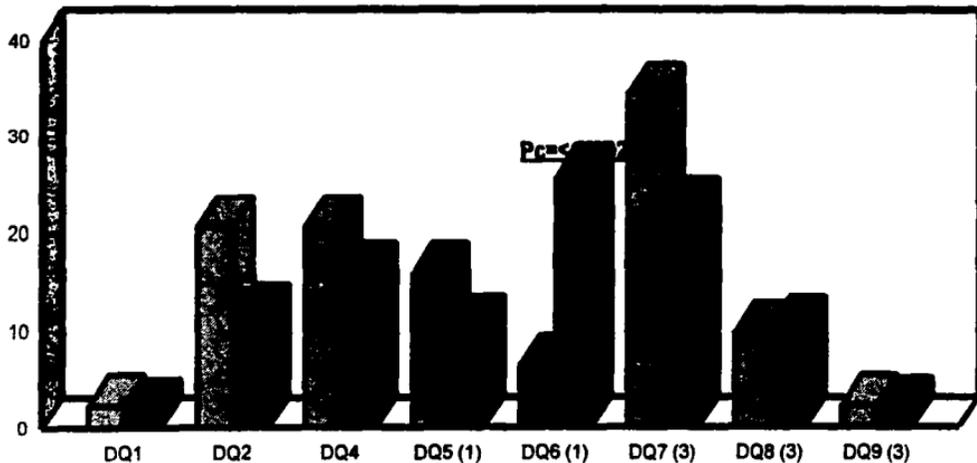


Fig. 6

DISTRIBUCION DE ANTIGENOS HLA-DQ



■ PACIENTES ■ TESTIGOS

Fig. 7

ANALISIS FAMILIAR

Se lograron incluir 5 familias con un total de 22 individuos que comprendían a 7 pacientes y 15 familiares entre padres y hermanos asintomáticos. A continuación se analiza cada familia con los resultados de sus haplotipos respectivos.

FAMILIA 1

PADRE:	A: A2, B16, BW6, CW1, DR12, DR52, DQ7 <u>B: A24, B62, BW6, CW9, DR8, DR52, DQ4</u>
MADRE:	C: A2, B35, BW6, CW4, DR4, DR53, DQ7 <u>D: A2, B67, BW6, CW7, DR8, DR53, DQ7</u>
HERMANA SANA:	A: A2, B16, BW6, CW1, DR12, DR52, DQ7 C: A2, B35, BW6, CW4, DR4, DR53, DQ7
HERMANA SANA:	A: A2, B16, BW6, CW1, DR12, DR52, DQ7 C: A2, B35, BW6, CW4, DR4, DR53, DQ7
HERMANO GEMELO SANO:	<u>B: A24, B62, BW6, CW9, DR8, DR52, DQ4</u> C: A2, B35, BW6, CW4, DR4, DR53, DQ7
PACIENTE GEMELO:	<u>B: A24, B62, BW6, CW9, DR8, DR52, DQ4</u> <u>D: A2, B67, BW6, CW7, DR8, DR53, DQ7</u>

La paciente es diferente a sus hermanos y comparte al haplotipo B con su hermano gemelo asintomático.

FAMILIA 2

PADRE:	<u>A2, B45, BW6, CW1, DR1, DQ5</u> B: A24, B35, BW6, CW4, DR7, DR53, DQ2
MADRE	C: A2, B51, BW4, CW1, DR4, DR53, DQ7 <u>D: A3, B7, BW6, CW7, DR16, DQ5</u>
PACIENTE GEMELA:	<u>A: A2, B45, BW6, CW1, DR1, DQ5</u> <u>D: A3, B7, BW6, CW7, DR16, DQ5</u>
PACIENTE GEMELA:	<u>A: A2, B45, BW6, CW1, DR1, DQ5</u> <u>D: A3, B7, BW6, CW7, DR16, DQ5</u>

Ambas pacientes son gemelas idénticas y en ambas segrega la enfermedad.

FAMILIA 3

PADRE: A: A30, B35, BW6, CW4, DR8, DQ9
B: A68, B18, BW6, CW7, DR7, DR53, DQ2

MADRE: C: A2, B60, BW4, CW9, DR4, DR53, DQ7
D: A43, B35, BW6, CW-, DR17, DR52, DQ2

PACIENTE MASCULINO: A: A30, B35, BW6, CW4, DR8, DQ9
C: A2, B60, BW4, CW9, DR4, DR53, DQ7

PACIENTE FEMENINO: A: A30, B35, BW6, CW4, DR8, DQ9
C: A2, B60, BW4, CW9, DR4, DR53, DQ7

Los pacientes son HLA idénticos hay una diferencia de edad de 2 años y 3 meses entre ellos.

FAMILIA 4:

PADRE : A: A2, B41, BW6, CW1, DR7, DR53, DQ9
B: A24, B45, BW6, CW10, DR11, DR52, DQ7

MADRE: C: A2, B61, BW6, CW9, DR7, DR53, DQ7
D: A31, B35, BW6, CW-, DR4, DR53, DQ7

PACIENTE GEMELA: B: A24, B45, BW6, CW10, DR11, DR52, DQ7
C: A2, B61, BW6, CW9, DR7, DR53, DQ7

HERMANA GEMELA: A: A2, B41, BW6, CW1, DR7, DR53, DQ9
SANA C/D A2, B61, BW6, CW9, *DR4, DR53, DQ7

La paciente es hermana gemela.. Su hermana gemela se encuentra asintomática y es genotípicamente diferente a la paciente. La hermana asintomática es una hermana recombinante. *La recombinación ocurrió entre los clase I del haplotipo C y dos clase II del haplotipo D, indicando que los genes de susceptibilidad están localizados en la región de clase II.

FAMILIA 5

PADRE:	A: A2, B42, BW6, CW9, DR15, DR51, DQ6 <u>B: A:24, B39, BW6, CW7, DR8, DQ7</u>
MADRE:	<u>C: A24, B39, BW6, CW4, DR8, DQ4</u> D: A24, B39, BW6, CW9, DR4, DR53, DQ4
PACIENTE:	<u>B: A24, B39, BW6, CW7, DR8, DQ7</u> <u>C: A24, B39, BW6, CW4, DR8, DQ4</u>
HERMANO SANO :	A: A2, B42, BW6, CW9, DR15, DR51, DQ6 D: A24, B39, BW6, CW9, DR4, DR53, DQ4

El paciente tenía 2 hermanos con las mismas características clínicas que fallecieron antes de estudiarlos. El hermano sano de 9 años es asintomático y genotípicamente diferente.

En los cuadros siguientes se muestran la distribución de haplotipos en las familias y su análisis estadístico.

CUADRO 22

ANALISIS DE SEGREGACION DE HAPLOTIPOS

	PADRES	SANOS	AFECTADOS	No
Familia 1	A/B C/D	A/B A/C B/C	B/D	6
Familia 2	A/B C/D	0	A/D A/D	4
Familia 3	A/B C/D	0	A/C A/C	4
Familia 4	A/B C/D	A/C/D	B/C	4
Familia 5	A/B C/D	A/D	B/C	4
No = Número de Individuos				

CUADRO 23

HAPLOTIPOS COMPARTIDOS

	2	1	0	TOTAL
OBSERVADOS	4	2	1	7
ESPERADOS	1.75	3.75	1.75	7
X²	2.89	1.79	0.036	
P =	NS	NS	NS	
No = Número de individuos				

El análisis de segregación de haplotipos determina claramente que no ligamiento entre el EMI y el HLA, por lo que requiere un muestreo mayor de familiar.

En las figuras 8 a la 12 se muestra los árboles genealógicos de cada familia.

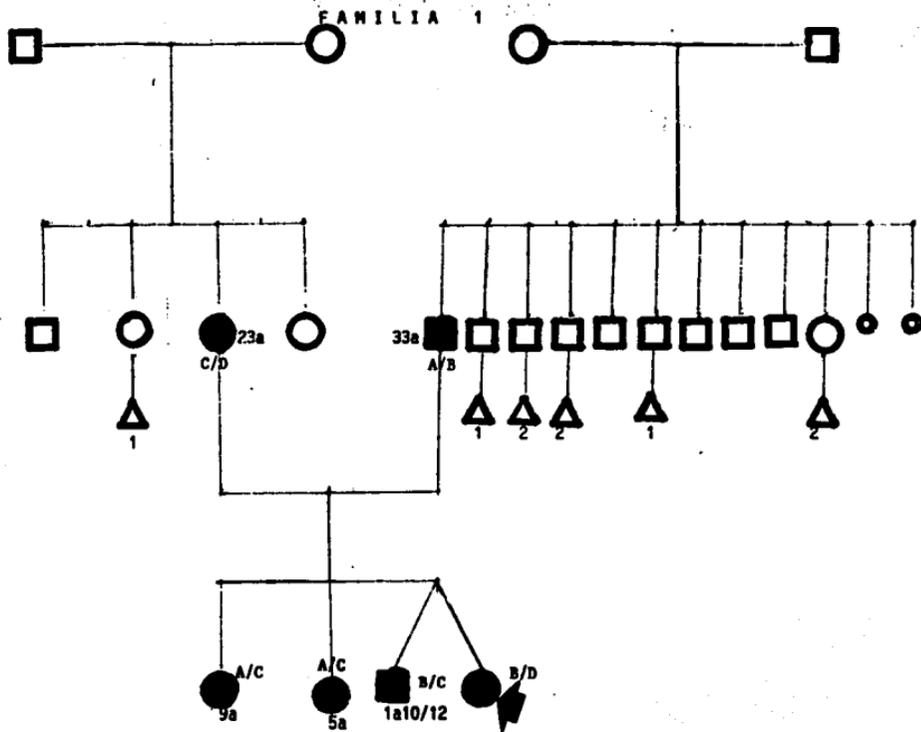


Fig. 8

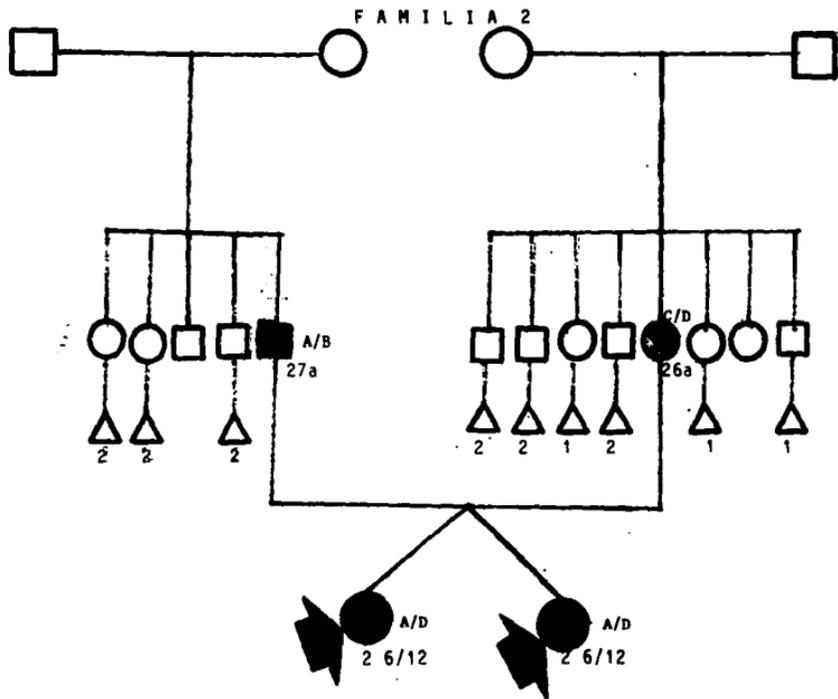


Fig. 9.

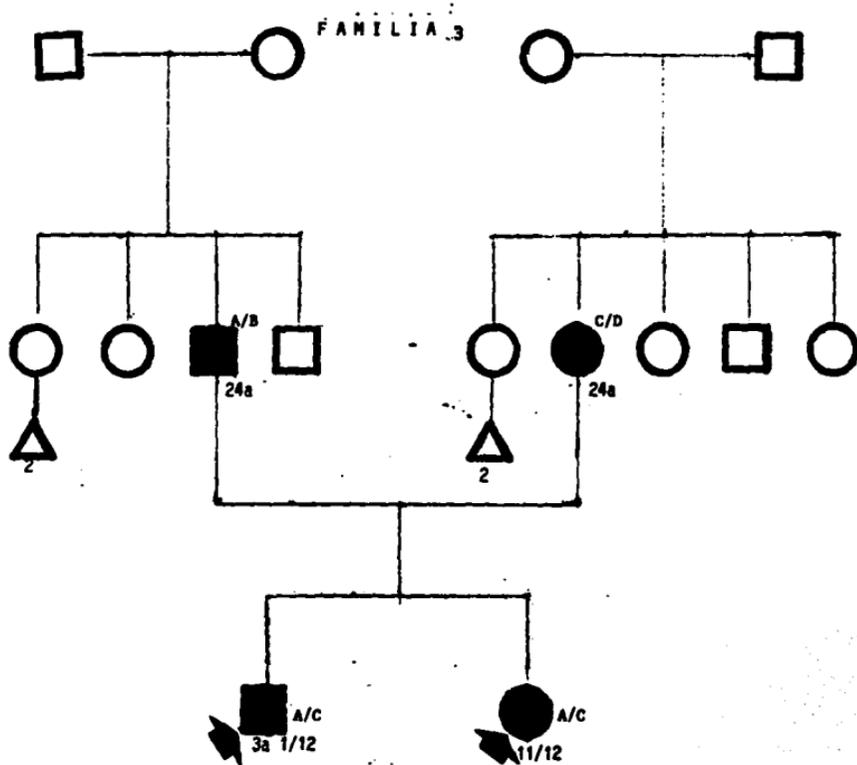


Fig. 10

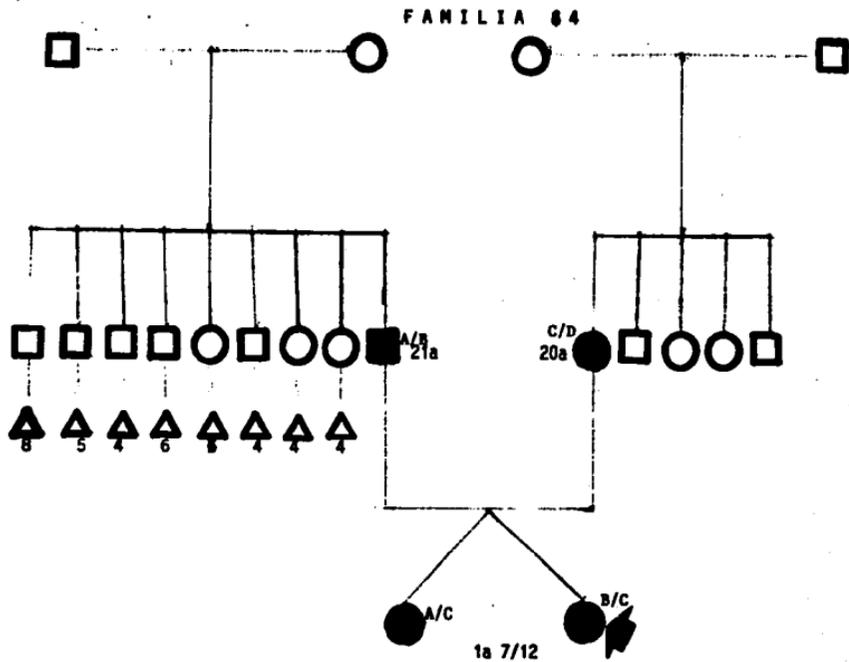


Fig. 11

FAMILIA 5

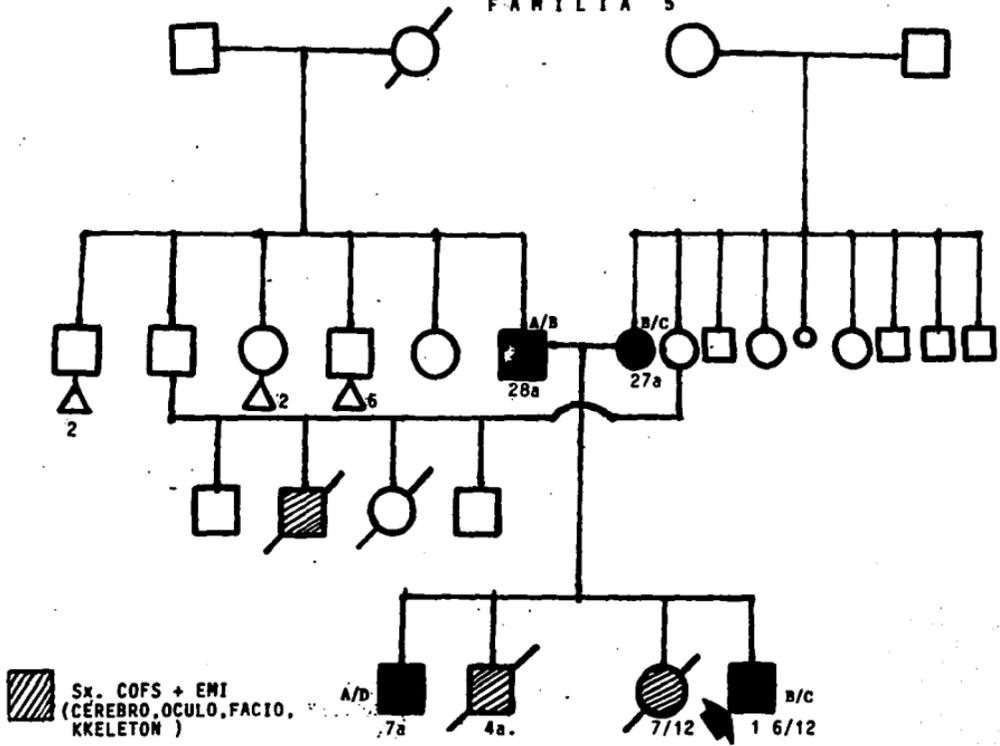


Fig. 12

VIII DISCUSION

Aquí se presentan los resultados de un estudio hecho en 65 pacientes no relacionados y 7 mas con sus respectivas familias con el diagnóstico de espasmo masivo infantil (EMI), que se analizaron extensamente tanto desde el punto de vista clinico, como desde el punto de vista genético, se buscó la posible asociación y/o ligamiento a antígenos HLA clase I y clase II en un estudio, comparativo, observacional, transversal y proyectivo.

Los resultados en los pacientes mexicanos permiten algunos aspectos novedosos. Es interesante señalar que existe una diferencia importante entre estos pacientes y lo publicado en la literatura la literatura internacional. Los hallazgos distintos se discuten a continuación. El primero fue el franco predominio del sexo femenino en esta serie con una relación 2.2 : 1 de mujeres. Curiosamente otros autores han señalado un relación inversa (40, 61) y otros con menor diferencia pero si un predominio del sexo masculino (80). Este aspecto es importante ya que sexo femenino se ha relacionado con un factor de mal pronóstico (80). Sin embargo en esta serie la severidad del EMI se distribuyo de igual forma en ambos sexos. Se desconoce cual podría ser la razón para el predominio del sexo femenino, ya que en el INP la mayoría de la consulta la reprentan los hombres, como no se ha explorado marcadores genéticos de tipo hormonal, este sería un punto de llamar la atención para enfocar a la búsqueda de marcadores de esta naturaleza. Sería incongruente de hablar de efectos hormonales consecuentes pues la edad de inicio del EMI es en la infancia , pero si se podría pensar en alguna alteración innata en el cromosoma X , o en un gen que codifique para la expresión de una protección involucrada en el metabolismohormonal. La edad de inicio en este grupo fue de 20 semanas de edad en promedio no difiere mucho de lo observado en otras series (32, 40, 61, 80). Etiológicamente se ha observado que del 40 al 90% son sintomáticos, y aqui se encontró un porcentaje similar que cae dentro estemargen (70%). La frecuencia observada de casos criptogénicos es también similar a la observada por otros autores (entre 9% y 34%) (40, 61, 80) pues en la presente serie se identifico un 26%. A pesar que la Liga Internacional

contra la Epilepsia (21) no contempla las crisis idopáticas, otros autores (116) han sugerido que es necesario agregar esta clasificación ya que retrospectivamente han visto hasta un 50% de casos que cumplen los criterios para este tipo. Dada las características clínicas y de laboratorio de algunos de los pacientes, en este estudio era posible encontrar enfermos idopáticos y en efecto se observaron 4% de casos con estas características. El tipo flexor, extensor y mixto se ha informado con predominio variable (32,40,80) En este grupo de pacientes el hallazgo predominante fue de tipo flexor (71%) seguido del extensor y con menos frecuencia el mixto, lo que concide con los datos de Gary y col. (40). El EMI mas otro tipo de crisis es señal de mal pronostico (80) en este trabajo se encontro un 63% de pacientes con estas características mientras que en otras series se han observado entre un 26% y 43% (32, 80). Una posibilidad es que el aumento en frecuencia de EMI mas otros tipo de crisis esté en relación directa con la politerapia necesaria en estos pacientes y como el grupo de pacientes estudiados pertenecen en su gran mayoría a un nivel socio-económico bajo evidentemente no les es posible llevar una terapéutica adecuada y constante, lo cual ocasiona un descontrol frecuente tanto del EMI con de las otras crisis. Un factor adicional puede ser que en esta población hay un factor genético condicionante por lo menos parcialmente de la severidad de la enfermedad, como se menciona más adelante al discutir el análisis genético. La mayoría de los autores informa la hipsarritmia por arriba del 28% (32, 55, 61) sin embargo en este grupo fue menor (18%) debido probablemente a que este fenómeno no es constante en el EMI. Por este motivo, no es extraño tener una gran variabilidad de frecuencia de hipsarritmia. En los estudios familiares publicados es poco frecuente la recurrencia en hermanos y en esta serie se encontró que existe cuando menos un hermano afectado con EMI en un 4% de de los casos, lo que coincide con lo señalado por otros uatores (61, 99).

La epilepsia *per se* se ha considerado multifactorial (72, 74) e incluso algunos autores la han propuesto como una enfermedad donde la participación genética es

relevante, influyendo directamente en su manifestación (37, 49, 112). Las evidencias en animales de experimentación han mostrado la relevancia de los aspectos genéticos, pues se ha logrado producir epilepsia secundariamente a lesiones específicas en diferentes cromosomas. Más aún, estas anomalías se heredan con patrones de herencia mendelianos (98, 112). En numerosas publicaciones los diferentes tipos de patologías que muestran lesiones cromosómicas determinadas o que tienen trastornos con un patrón de herencia mendeliana se han manifestado entre otros signos y síntomas con crisis epilépticas (12, 13, 18, 37, 54, 66, 78, 91, 95, 101, 102, 122). También se han identificado genes responsables de 3 tipos de epilepsia (12, 31, 48, 49, 68, 112). Se enfatiza este aspecto porque el EMI también se presenta asociado con patologías que tienen un patrón de herencia mendeliana (7, 14, 32, 39, 40, 59, 61, 62, 79, 91, 96) y se ha mostrado que existen lesiones cromosómicas específicas (1, 4, 8, 40, 61, 87, 105). En el presente estudio se encontró un 4% de pacientes con esclerosis tuberosa que es una alteración que se hereda en forma autosómica dominante, con penetrancia variable. También se encontró un paciente con síndrome de COFS enfermedad autosómico recesiva. El resto del grupo no mostró alguna patología con trastornos genético determinado.

El hecho de que el EMI no se manifieste con una herencia mendeliana pura, implica la participación probablemente de genes diversos, sugiriendo poligenicidad en la expresión de la enfermedad. Existen evidencias cada vez mayores que hacen sospechar una contribución genética (5, 49), tales como el incremento de incidencia de la enfermedad en gemelos homocigóticos comparado con los gemelos dicigóticos y el antecedente que ya se señaló de otros familiares afectados o la presencia de enfermedades de origen genético en este grupo de niños con EMI. Además aquí se encontraron 3 familias con gemelos, 2 de ellas con hermanos dicigóticos y una con monocigóticos. En la de los gemelos diferentes, sólo se hallaba afectado uno de ellos y en la pareja univitelina ambos estuvieron afectados. Para confiar que la enfermedad está ligada y por lo tanto que segrega en los afectados más de lo esperado por las leyes de la herencia, es indispensable hacer una

búsqueda intencionada y exhaustiva de familias. El objeto es tener un número suficientemente grande para lograr confirmar o analizar con certeza el ligamiento. En este trabajo se encontraron solamente 5 familias y no se halló ninguna desviación significativa en la segregación de haplotipos, indicando la necesidad de estudiar más familias pues con los hallazgos obtenidos en un número pequeño no se puede establecer la participación genética de los marcadores MHC como segregación consistentemente (49, 120), pero con el hallazgo de las asociaciones que se identificaron en la población no relacionada es más importante dirigir la búsqueda de familias.

Por otro lado es un hecho contundente que los marcadores HLA participan como gen o genes responsables en la expresión de muchas de muchas enfermedades (46). Entre las neurológicas, como ya se mencionó, asociadas y está la esclerosis múltiple (EM) (63, 107, 109), la parálisis de Bell (44) y la narcolepsia (6, 50, 67, 207, 109). En algunos tipos de epilepsia también se han registrado asociaciones con moléculas HLA (35, 61, 83 106).

Las evidencias anteriores, sugieren fuertemente que el EMI tiene un componente genético importante, y se inició la investigación del complejo HLA porque ya había algunos datos sugestivos en la literatura de que el MHC interviene en la expresión del EMI. Ya en 1979 Howitz y Plantz (55) buscaron esta relación sin embargo sólo estudiaron a 21 pacientes con EMI con clase I, sin encontrar ninguna diferencia significativa al compararlo con sus testigos. Obviamente con un número tan pequeño de pacientes, no es fácil mostrar asociaciones reales. Por otro lado sólo se investigó clase I y los hallazgos de este trabajo, indican claramente que la asociación es con clase II y no con clase I. En 1988 Hrachovy y col. ampliaron el estudio anterior con pacientes norteamericanos incluyendo además a los antígenos de clase II, pero también con un universo de sólo 29 pacientes. El estudio tiene varias fallas desde el punto de vista metodológico, pues sus testigos son un grupo heterogéneo constituido por diferentes etnias que abarcan caucasoides, negros e hispanos y no especifica las características étnicas del universo estudiado, ni hace análisis independiente. Esto puede invalidar los resultados, pues es bien sabido que la distribución

de los antígenos HLA varía de población a población (108), por lo que es una condición indispensable que los estudios de correlación deben de efectuarse con pacientes y testigos pertenecientes al mismo grupo étnico (42,43,44). A pesar de este error los autores encuentran una asociación con el HLA-DR52. Este dato ya sugiere una asociación con clase II pero por ser un antígeno público, es decir que comparte epitopes de los subtipos del DR3, que a su vez se subdivide en DR17 y DR18; del DR5 que se subdivide en DR11 y DR13; y del DR6 que incluye al DR13 y DR14, hay que profundizar en el análisis para conocer realmente cuáles son las asociaciones responsables. En este sentido el análisis hecho en este trabajo incluyó a todos los antígenos públicos supertípicos, (DR51, 52 y 53) y a los privados y se investigaron en la serie más grande de pacientes hasta ahora informada. Por otro lado se eligió un solo grupo étnico que son los mestizos mexicanos. Esto es una parte esencial del trabajo pues se enfatiza que es una serie de un tamaño de muestra importante y el grupo étnico es homogéneo. Además se cuidó mucho su selección descartando cualquier indicativo de otro origen racial confirmado hasta la tercera generación. Se observó una asociación significativa con el DR17 ($P=0.0004$) y para aumentar el poder de la significancia se corrigió multiplicando esta por el número total de antígenos con los que se comparó ($P_c < 0.001$) lo que indica que la asociación es real que por lo tanto la susceptibilidad a la enfermedad depende por lo menos parcialmente de genes localizados en la región DR. La fracción etiológica de 0.20 indica que los genes MHC clase II participan en un 20% en la expresión de la enfermedad y el riesgo relativo de 3.60, demuestra que un sujeto portador del DR17 tiene 3.6 veces más posibilidades de desarrollar la enfermedad que en un individuo que no es portador. Además se encontró una disminución significativa del HLA-DQ6 en los pacientes ($P_c < 0.0025$) con una fracción preventiva de 0.37 y con un riesgo relativo (razón de momios) menor de 1 (0.17). Estos hallazgos sugieren la presencia de un gen de protección ligado a la región DQ, que contribuye en un 37% a la resistencia al desarrollo de EMI. Estos datos implican el efecto sinérgico entre las regiones estrechamente ligadas (DR y DQ) estando la región DR

involucrada en la susceptibilidad y la DQ en la protección. Por estos motivos se sugiere que un individuo portador del DQ6 tiene un riesgo extraordinariamente bajo de manifestar EMI. Se puede asegurar que la resistencia radica en la región DQ pero no se encontraron desviados ninguno de los antígenos DR que está en desequilibrio de enlace con DQ6 es decir DR15, DR13, DR8 y raramente el DR11. Esto indica que el verdadero gen de protección radica en DQ y no en DR. Al correlacionar las características genéticas con los hallazgos clínicos se encontró una asociación clara del DR17 con los pacientes sintomáticos ($P=0.009$), con un riesgo relativo de 3.16 y una fracción etiológica de 0.17, sugiriendo que este marcador no sólo contribuye a la expresión de la enfermedad, sino particularmente en el desarrollo de EMI en pacientes con un daño cerebral aunado (sintomáticos). El DQ6 también resultó disminuido en los pacientes sintomáticos al compararlos con los testigos sanos ($P<0.001$) otra vez con un riesgo relativo menor a 1 (razón de momios) (0.16) y una fracción preventiva de 0.40, sugiriendo resistencia que la resistencia la severidad de la enfermedad depende fuertemente de la región DQ ya que además el 40% de esta protección parece radicar en dicho locus. También se observó una asociación significativa en los pacientes con crisis mixtas (EMI más otro u otros tipos de crisis) ($P=0.001$), con un riesgo relativo de 2.0 y una fracción etiológica de 0.14. El hecho más llamativo fue que también surgió una asociación significativa del DR17 con las crisis convulsivas tónico clónicas generalizadas (CCTCG) ($P<0.001$) con un riesgo relativo de 4.2, mayor de lo que se obtuvo para el grupo total y con una fracción etiológica de 0.36, sugiriendo que los pacientes con EMI que son portadores de DR17, tienen 4.2 veces más posibilidades de sufrir CCTCG que otro tipo de crisis, y por lo tanto tendrán una enfermedad más severa. Los datos señalados tienen una gran importancia, pues es la primera demostración clara, no sólo de la participación de antígenos clase II en susceptibilidad y resistencia, sino que con estos datos se podrá identificar a niños en alto riesgo, en familias con antecedentes de epilepsia. Además se podrá elegir el tratamiento de una manera más racional en base a las probabilidades de manifestar una enfermedad más

severa o de mal pronóstico. Por otro lado, a los niños portadores del DQ6 también en este tipo de familias o con antecedentes se les podrá dar un manejo más adecuado.

Valga insistir que en las familias no se encontró una diferencia significativa de la segregación de los haplotipos, por lo que el análisis de ligamiento no fue posible. Como ya se dijo se requiere reunir un número mucho mayor de familias. Sin embargo se observó como lo han sugerido otros autores (5,49), la participación de más de un gen dentro del MHC. En las familias donde además del paciente se encontraban hermanos sanos, al comparar el genotipo de los enfermos con los de los sanos en ningún caso compartió un genotipo y en las familias donde existía más de un miembro afectado (hermanos y gemelos), todos ellos fueron genotípicamente iguales. Por otros motivos es esencial aumentar el número de familias para determinar con precisión la existencia o ausencia del ligamiento.

Los resultados obtenidos en el presente estudio de un incremento significativo del HLA-DR17 y una disminución del HLA- DQ6 en los pacientes con EMI no se habían observado anteriormente en la literatura mundial pues los resultados ya discutidos, previos a este estudio fueron pobres y con una metodología deficiente y un número pequeño de pacientes (58). Sin embargo el DR52 observado por Hrachovy (57) puede ser la consecuencia de que el verdadero antígeno asociado es el DR17 que aquí se describe y que comparte epitopes con su supertipo DR52 . Es muy probable que ellos no lograron obtener el DR17, por la selección deficiente de los grupos incluidos.

Con este trabajo se apoya la hipótesis de multigenicidad de este tipo de epilepsia y habrá que estudiar más detalladamente a estos pacientes intentando encontrar la correlación con otros marcadores genéticos y el ligamiento con el grado de penetración de los genes, así como su modo de herencia. Un aspecto que es una consecuencia indirecta, es la investigación a nivel molecular de los loci DRB1, B3, B4, B5, DQA1 y DQB1 para conocer con precisión que secuencias específicas determinan la susceptibilidad/protección, con el objeto de introducirse en los mecanismos de etiopatogenia con más exactitud. Estos

permitiría una mayor comprensión del EMI y con este enfoque se podrá iniciar medicina dirigida a los más susceptibles y dentro de ella con atención especial las probabilidades de manifestaciones severas en el contexto del perfil genético de los individuos.

IX CONCLUSIONES

1.- La consulta de pacientes con espasmo masivo infantil representa el 7% de la atención de la clínica de epilepsia del INP. La enfermedad es más frecuente en mujeres que en hombres y la edad promedio de inicio es de 20 semanas.

2.- Las edades de los progenitores está en la tercer década de la vida. Sin antecedentes de consanguinidad. En más de la mitad de los casos el embarazo y el parto fueron normales. Las complicaciones perinatales fueron hipoxia perinatal e inmadurez gestacional. Dos terceras partes tenían retraso psicomotriz antes del inicio de las crisis.

3.- El espasmo masivo infantil que se presentó mayormente fue el tipo flexor, seguido del extensor y mixto. Los sintomático fue el más numeroso y en éstos el antecedente más importante fué la hipoxia perinatal. La patología más frecuente fue la disgenesia cerebral. La mayoría presentó un patrón mixto de crisis, espasmo masivo y otro tipo de crisis. De éstas, las más frecuentes fueron las tónicas generalizadas y parciales motoras, seguidas de las tónico clónicas generalizadas (CCTCG) y mioclónicas. Los medicamentos más empleados fueron el valporato, fenobarbital y clonazepan pero la mayoría tenía politerapia .

4.- El patrón hipsarrítmico se presentó en una baja proporción y solo 3 casos mostraron patrón normal. Tomográficamente la mitad de los pacientes tenía atrofia córtico-subcortical, seguido de disgenesia y con imagen normal; el resto mostró otras alteraciones.

5.- El 4.2% tenían un hermano afectado con EMI. No se identifico ninguna asociación con antígenos clase I . Sin embargo se demostró un incremento significativo del antígeno HLA-DR17 , lo cual sugiere que la susceptibilidad está parcialmente controlada por un gen en la región DR. Por otro lado, el DQ6 está significativamente disminuido en los pacientes, lo cual sugiere la presencia de un gen de protección ligado a la región DQ.

6.- Al correlacionar los subgrupos en cuanto a los parámetros clínicos y los antígenos clase II se encontró un incremento significativo del DR17 en el subgrupo de sintomáticos, proponiendo que este marcador no sólo determina la expresión del espasmo

masivo infantil sino particularmente el desarrollo de la enfermedad en pacientes sintomáticos. Así mismo los pacientes con espasmo masivo infantil más otro tipo de crisis mostraron un incremento significativo del DR17, paarticularmente cuando se trataba de crisis convulsivas tónico clónicas generalizadas (CCTCG), sugiriendo que este marcador condiciona la severidad.

7.- El DQ6 esta ausente en el 70% de los subgrupos etiológicos, indicando que si un sujeto es portador del DQ6 estará parcialmente protegido al desarrollo de espasmo masivo infantil.

8- El análisis de segregación de haplotipos en 5 familias mostró que no hay ligamiento de HLA con la enfermedad. Se enfatiza que se requiere de número mayor de familias para confirmarlo. Sin embargo los pacientes afectados con hermanos sanos, fueron genotípicamente diferentes y los pacientes afectados con hermanos afectados fueron genotípicamente iguales.

9.- Estos hallazgos muestran que los sujetos portadores del DR17 tienen un riesgo mayor de expresar espasmo masivo infantil probablemente en forma más severa y un individuo portador del DQ6 tiene menores probabilidades de manifestar la enfermedad.

10.- Estos hallazgos permitirán identificar sujetos en riesgo tempranamente, en los casos donde existan antecedentes y proceder a un tratamiento más racional.

X BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aicardi J, Chevrie F, Rousselle . Le syndrome spasmes en flexion, agenesie calleuse, anomalies chorio-retinennes. Arch. franc. Pediat. 1969; 26:1103-1120.
- 2.- Aicardi J. Epilepsy in Children. Neva York, Raven Press, 1986, pp 17-38.
- 3.- Anderson V E, Hauser W A, Penry H J, Sing C F, eds. Genetic basis of the epilepsies. Neva York; Raven Press,1982.pp 130 150
- 4.- Anderson V E, Hauser W A, Rich S S. Genetic heteroneneity in the epilepsies. IN : Delgado-Escueta A V, Ward A A Jr. Woodbury D M, Porter R J, Eds. Basic mechanisms of the epilepsies: molecular and cellular approaches. Neva York: Raven Press, 1986: pp 59-75. (Advances in neurology, vol 44).
- 5.- Anderson V E, Hauser W A,Leppik I E, Noebels J L, Rich S S, eds. Genetic strategies in epilepsy research. (Epilepsy Research Suppl 4) Amsterdam: Elsevier, 1991.pp75 90
- 6.- Andrea-Zietz A, Scholz S, Roth B: DR2-negative narcolepsy. Lancet. 1986; 8508:684.
- 7.- Adrews J M, Cancilla P A, Grippo J, Menkes J M. Globoid cell leukodystrophy (Krabbe's disease). Neurol 1971; 21:337-52.
- 8.- Angelman H. "puppet" children: a report on three cases. Develop. Med. Child Neurol. 1965; 7:681-688.
- 9.- Bachman DS : Use of valproic acid in treatment of infantile spasms. Arch Neurol. 1982; 9: 49-52.
- 10.- Baird HW, Borofky LG. Infantile myoclonic seizures. J. Pediatr. 1957; 50:332-340.
- 11.- Beatty PG, Mickelson EW, Petersdorf Y. Histocompatibility 1991. Transfusion. 1991; 31:847-56.
- 12.- Berkovic S F, Cochius J, Andermann E, Andermann F. Progressive myoclonus epilepses: Clinical and genetic aspects. Epilepsia. 1993; 34 (suppl 3): S19-30.
- 13.- Bird T D. Genetic considerations in childhood epilepsy. Epilepsia. 1987; 28 (suppl 1) S71-81.
- 14.- Bignami A, Maccagnani F, Zappella M, Tingly A H. Familial infantile spasms and hypsarhythmia associated with luecodystrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1966; 29: 129-34.

- 15.- Bjerre I, Corelius E. Benign familial neonatal convulsions. *Acta Paediatr Scand.* 1968; 57: 557-61.
- 16.- Bower BD, Jeavons. Complications of immunizations. *Brit Med J.* 1960; 2:1453.
- 17.- Branch C E, Dyken P R. Choroid Plexus papiloma and infantile spasms. *Ann Neurol.* 1979; 5: 302-5.
- 18.- Bunday S. The genetic basis of the epilepsies. In: Hopkins A, ed. *Epilepsy.* Nueva York: Demos, 1987: pp 137-49.
- 19.- Coleman M. Infantile spasms associated with 5-hydroxytryptophan administration in patients with Down's syndrome. *Neurol.* 1971; 21: 911-19.
- 20.- Coleman M, Boullin D, Davis M. Serotonin Abnormalities in the infantile Spasms Syndrome. *Neurology.* 1971; 21: 421.
- 21.- Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia.* 1989;30:389-99.
- 22.- Constad WH, Wagner RS, Caputo AR. Aicardi Syndrome in one dizygotic twin. *Pediatrics.* 1985; 76: 450-53.
- 23.- Crichton JU. Infantile spasms in children of low birthweight. *Develop. Med. Child Neurol.* 1968; 10:36-41.
- 24.- Czochanska J, Langne Tyszka b, Losiowski Z, Schmidt Sidor B. Children who develop epilepsy in the first year of life: a prospective study. *dev. Med. Child. Neurol.* 1994; 36(4):344-350.
- 25.- Chang Y, Tsao, Ellingson. Infantile spasms in two brother with broad thumbs syndrome. *Clinical Electroencephalography.* 1990; 21: 93-95.
- 26.- Danilovs J, Terasaki PI, Park G. 1980 B-lymphocyte isolation by thrombin-nylon wool. In *Histocompatibility Testing 1984*, P.I. Terasaki, Ed. Los Angeles: UCLA Tissue typing Laboratory, pp 287-88.
- 27.- Daussert J. Leuco-agglutinin in blood transfusion. *Vox Sang* 1954. 4:190.
- 28.- Dennis JB, Bower D. Aicardi syndrome. *Develop. Med. Child Neurol.* 1972; 14: 382-90.
- 29.- De Jong JG, Delleman JW, Houben M. Agenesis of corpus callosum, infantile spasms, ocular anomalies (Aicardi's syndrome): Clinical and pathologic findings. *Neurol.* 1976; 26: 1152-58.

- 30.- Del Bruto O, Granados G, Talamas O, Gorodezky C. Genetic Pattern of HLA System HLA A, B, C, DR, and Dq Antigens in Mexican Patients with Parenchymal Brain Cysticercosis. *Human Biol.* 1991; 63: 85-93.
- 31.- Delgado-Escueta A V, Greenberg D A, Weissbecker K, Et al. Gene mapping in the idiopathic generalized epilepsies: Juvenile myoclonic epilepsy, childhood absence epilepsy, epilepsy with grand mal seizures and early childhood myoclonic epilepsy. *Epilepsia.* 1990; 3 (suppl 3); S19-29.
- 32.- Druckman R, Chao D. Massive Spasms in infancy and childhood *Epilepsia.* 1965; 4: 61-71.
- 33.- Duffner P, Cohen M. Infantile spasms associated with histidinemia. *Neurol.* 1975; 25: 195-97.
- 34.- Dulac O, Feingold J, Pluin P, Chiron C, Pajot N, Ponsot G. Genetic Predisposition to West syndrome. *Epilepsia.* 1993;34 (4): 732-37.
- 35.- Durner M, Janz D, Zingssem J, Greenberg D A. Possible Association of Juvenil Myoclonic Epilepsy with HLA-DRw6. *Epilepsia.* 1992;33 (5): 814-16.
- 36.- Dyken PR, DuRant RH, Minden DB: Short term effects of valproate on infantile spasms. *Pediatr Neurol.* 1985; 1: 34-37.
- 37.- Eeg-Olofsson O, Safwenberg J, Wigertz A . HLA and epilepsy: an investigations of different types of epilepsy in children and their families . *Epilepsia.* 1982; 23: 27-34.
- 38.- Fleiszar KA, Daniel WL, Imrey PB. Genetic study of infantile spasms with hypsarrhythmia. *Epilepsia.* 1977; 18: 55-62.
- 39.- French J H, Grueter B B, Druckman R, O'Brien D. Pyridoxine and infantile myoclonic seizures. *Neurol.* 1965; 15:101-13.
- 40.- Gary B, Bobele MD, John B. Infantile Spasms. *Neuologic Clinics.* 1990; 8: 633-45.
- 41.- Gary B, Bobele MD, John B, Bodensteiner MD. The treatment of infantile spasms by child neurologists. *J. Child Neurol.* 1994; 9: 432-35.
- 42.- Gibbs EL, Fleming and Gibs FA. Diagnosis and prognosis of hypsarrhythmia and infantile spasm. *Pediatrics.* 1954; 13: 66-73.
- 43.- Godorezky C, Flores J, Arevalo N. Tuberculoid leprosy in Mexicans is associated with HLA- DR3. *Lepr Rev.* 1987; 58: 401- 06.

- 44.- Gorodezky C, Carranza J, Bustamente A . The HLA System and T-Cell Subsets in Bell's Palsy. *Act. Otolaryngol (Stockh)* 1991; 111: 1070-74.
- 45.- Gorodezky C. Genes de Suceptibilidad y supresión inmunológica ligados al MHC en la lepra, Tesis doctoral, E.N.C.B. IPN, 1989.
- 46.- Gorodezky C, Carranza J, De la Rosa G. Manual de practicas de XI curso teórico práctico de actualización en histocompatibilidad, Instituto Nalcional de Refencia Epidemiológica México D.F. 1992.
- 47.- Granji S, Tilton A, Happel L, Marino S. Hypsarhythmia- Infantil Spasms in Near-Drowning: Clinical, EEG, CT scan and Evoked Potential Studies. *Clinical Electroencephalography*. 1987; 18: 180-86.
- 48.- Greenberg D A, Delgado Escueta A V, Widlitz H, Sparkes R S, Teiman L, Maldonado H M. Juvenil myoclonic epilepsy may be linked to BF and HLA loci on human cromosome 6. *Am J Med Genet*. 1988; 31: 185-92.
- 49.- Greenberg D A, Delgado Escueta A V. The cromosome 6p epilepsy locus: exploring mode of inheritance and heterogeneity through linkage analysis. *Epilepsia*. 1993; 34 (suppl 3): S12-8.
- 50.- Guillemainault C, Grumer C . HLA-DR2 and narcolepsy: Not all narcoleptic-cataplectic patients are DR2. *Hum Immunol*. 1987; 17: 1.
- 51.- Harper JR. Infantile spasms associated with cerebral agyria. *Develop. Med. Child Neurol*. 1867; 9: 460-63.
- 52.- Harry T, Chugani, Shewmon A D, Shields D, Sankar R, Comair Y, Harry V. Vinter, Peacock W J. Surgery for intratable infantile spasms: Neuroimaging perspective. *Epilepsia*. 1993; 34(4): 764- 71.
- 53.- Harry V. Vinters, De Rosa M J, Farrel M A. Neuropathologic study of resected cerebral tissue from patients with infantile spasms. *Epilepsia*. 1993; 34(4): 772-79.
- 54.- Holmes G L, Benign focal epilepsies of childhood. *Epilepsia*. 1993; 34 (suppl 3); S49-61.
- 55.- Wowitz P, Platz P. Infantil spasm and HLA antigens. *Arch Dis Child*. 1978; 53:680-2.
- 56.- Hrachovy R, Frost J, Gospe S, Glaze D. Infantile Spasms following Near-drowning: a report of two cases. *Epilepsia*. 1987; 28(1): 45-48.
- 57.- Hrachovy R, Frost J, Shearer WT. : Immunological evaluation of patients with infantile spasms. *Ann Neurol*. 1985; 18: 414.

- 58.- Hrachovy R, Frost J, Marilyn S. Serologic HLA Typing in Infantile Spasms. *Epilepsia*. 1988; 29(6): 817-19.
- 59.- Huson S I, Harper P S, Compston DAS. Van Recklinghausen neurofibromatosis. A clinical and population study in South East Wales. *Brain*. 1988; 111: 1355-81.
- 60.- Huttenlocher P. Dendritic development in neocortex of children with mental defect and infantile spasms. *Neurol*. 1974; 24: 203-10.
- 61.- Jeavons P, Bowel BD. Infantile Spasmo In: Vinken P.J. Brunyn G.W. *Handbook of clinical neurology Vol 15: The epilepsies*. North Holland, Amsterdam 1974, pp 219-34.
- 62.- Kamoshita S, Mizutani I, Fukuyama Y. Leigh's Subacute Necrotizing Encephalomyelopathy in a Child with Infantile Spasms and Hypsarrhythmia. *Develop. Med. Child Neurol*. 1970; 12: 430-35.
- 63.- Kinnunen E, Juntunen J, Ketonen L. Genetic susceptibility to multiple sclerosis: A co-Twin study of a nationwide series. *Arch. Nuerol*. 1988; 45: 1108-11.
- 64.- Klein J. Of HLA, Tryps, and Seleccions: An Essay on Coevolution of MHC and Parasites. *Human Immunology*. 1991; 30: 247- 58.
- 65.- Kravitz K, Skolnick M, Cartwright G. Genetic linkage between hereditary haemochromatosis and HLA. *Amer J Human Genet*. 1979; 31: 601-19.
- 66.- Lancman M, Penry J K, Asconapa J J, Brotherton T A. Number 20 ring chromosome: A Case with complete seizure control. *J. Child Neurol*. 1993; 8:186.
- 67.- Langdon N, Welsh KL, Dan MV. Genetic markers in narcolepsy. *Lacet ii*. 1984; 1198.
- 68.- Lehesjoki A E, Koskiniemi M, Sistonen P, Et al. Localization of a gene for progressive myoclonus epilepsy to chromosome 21q22. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 3696-9.
- 69.- Lennox WG, Davis JP. Clinica correlates of the fast and slow spike and wave electroencephalogram. *Pediatrics*. 1950; 5: 626-44.
- 70.- Leppert M, Anderson V E, Quattlebaum T, Et al. Benign familial neonatal convulsions linked to genetic markers on chromosome 20. *Nature*. 1989; 337: 647-8.
- 71.- Levy Y, Waisman Y, Weitz R. Aicardi syndrome. A cause of infantile seizures. *Clin Pediatr*. 1984; 23: 284-87.

- 72.- Lewis T, Leach R J, Ward K, O'Connel P, Ray S G. Genetic Heterogeneity in benign familial neonatal convulsions: Identification of a new locus on chromosome 8q. *Am J Hum. Genet.* 1993; 53: 670-75.
- 73.- Livingstone J. Vigabatrin in the treatment of epilepsy in children. *Br J Pharm.* 1989; 27 (suppl 1): 109s-112.
- 74.- Loiseau P, Jallon P eds. *Epidemiologia en: Les Epilepsies*, masson S. A. Paris, 1985 pp 7-17.
- 75.- Lombroso CT. A prospective study of infantile spasms. Clinical and Therapeutic Correlations. *Epilepsia.* 1983; 24: 135-58.
- 76.- Low NL, Bosma JF, Armstrong. Studies on phenylketonuria. VI. EEG studies in phenylketonuria. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic)* 1957; 77: 359-65.
- 77.- Luna D. Vigabatrin in the treatment of childhood epilepsies. 1989. *Epilepsia*; 30 (4): 430-437.
- 78.- Maraschio P, Zuffardi O, Bernardi F, Et al. Preferential maternal derivation in iv dup (15) Analysis of eight new cases. *Hum Genet.* 1981; 59: 345-50.
- 79.- Martin Blazquez J L, Fijo Lopez Viota J, Alonso Luego O. Sebaceous nevus of Jadassohn associated with infantile spasms. *An Esp Pediatr.* 1988; 28: 266-8.
- 80.- Matsumoto A, Watanabe K, Negoro T. Log-term prognosis after infantile spasms: A statistical study of prognostic factor in 2000 case. *Dev Med Child Neurol.* 1981; 23 : 51-65.
- 81.- Mearin M, Biemond I, Pena A. HLA-DR phenotypes in Spanish coeliac children; their contribution to the understanding of the genetics of the disease. *Gut.* 1983; 24: 532-37.
- 82.- Mimaki T, Ono J, Yabuuchi H. Temporal Lobe astrocytoma with infantile spasms. *Ann Neurol.* 1983;14: 695-96.
- 83.- Minev M, Martinova F, Belopitova L. On the Association of the HLA System with Epilepsy in Children. *Epilepsia.* 1987; 28: 74-76.
- 84.- Muzuki N, Inoko H, Ohno S. Role of HLA and T lymphocytes in the immune response. *Ocular Immunol Inflamm.* 1994; 2: 57-91.
- 85.- Mizutani I. Clinical Investigations of Infantile Spasms. Log- Term Follow-up Study, Especially on the Development of Intelligence. *Dev Med Child Neurol.* 1969; 11: 811-12.

- 86.- Morellini M, Trabace S, Mazzilli M. A Study of HLA class II antigens in an Italian paediatric population with coeliac disease. *Disease Markers*. 1988; 6: 23-28.
- 87.- Mori K, Yono I, Hashimoto T. Infantile spasms in one member of a family with benign familial neonatal convulsions. 1993;34(4): 621-26.
- 88.- Mota NGS, Rezkallah-Iwasso MT, Peracoli MTS. Demonstration of antibody and cellular immune response to brain extract in West and Lennox-Gastaut syndromes. *Arch Neuropsiquiatr*. 1984; 42: 126-31.
- 89.- Neville BG. Case Reports, The origin of infantile spasms: Evidence from a case of hydranencephaly. *Devlop. Med Child Neurol*. 1972; 14: 644-56.
- 90.- Obeid T, Gad El Rab M, Kaker Daif A, Panayiotopoulos C, Halim K, Bahakin H, Bamgboye E. Is HLA-DRw13 (W6) Associated with Juvenile Myoclonic Epilepsy in Arab Patients?. *Epilepsia*. 1994; 35(2): 319-21.
- 91.- Ohtahara S, Ohtsuka Y, Yamatogi Y, Oka E, Yoshina H, Sato M. Prenatal etiologies of West syndrome. *Epilepsia*. 1993; 34(4): 716-22.
- 92.- Palm DG, Brandt M, Korinthenber R. West syndrome and Lennox- Gastaut syndrome in children with porencephalic cysts: Long-term follow-up after neurosurgical treatment. In: Niedermeyer E, Degen R, Eds. *The Lennox-Gastaut syndrome*. New York: Alan R., Liss 1988: pp 491-26.
- 93.- Pavone L, Mollica F, Incorpora G: Infantile spasms syndrome in monozygotic twins. *Arch Dis Child*. 1980; 55: 870-72.
- 94.- Pinar M, Delalande O, Plouin P, Dulac O. Callosotomy in West syndrome suggests a cortical origin of hypsarrhythmia. *Epilepsia*. 1993;34(4): 780-87.
- 95.- Porter R J Absence epilepsies. *Epilepsia*. 1993; 34 (suppl 3): S42-8.
- 96.- Poser C M, Low N L. Autopsy findings in three cases of hypsarrhythmia (infantile spasms with mental retardation). *Acta Paediatr*. 1960; 49: 695-706.
- 97.- Riikonen R. Infantile spasms. Modern practical aspects. *Act Paediatr Scan*. 1984; 73: 1-12.
- 98.- Rise M L, Frankel W N, Coffin J M, Seyried T N. Genes for epilepsy mapped in the mouse. *Science*. 1991; 253: 669-73.
- 99.- Riikonen R. Infantile spasms: some new theoretical aspects. *Epilepsia*. 1983; 24: 159-68.

- 100.- Ruggieri V, Carballo R, Fejerman N. Intracranial tumors and West syndrome. *Pediatr Neurol.* 1989; 5: 327-9.
- 101.- Schmidt R, Eviatar L, Mitowsky H M, Wong M, Miranda S. Ring chromosome 14: a distinct clinical entity. *J. Med Genet.* 1981; 18: 304-7.
- 102.- Schreck R R, Breng W R, Erlanger B F, Miller O J. Preferential derivation of abnormal human G-group-like chromosomes from chromosome 15. *Hum Genet.* 1977; 36: 1-12.
- 103.- Siegnaler J, Billiard M. Possible associations between HLA-B7 and narcolepsy. *Tissue Antigens.* 1984; 23: 188.
- 104.- Siemes H, Sphr HL, Michael T. Therapy of infantile spasms with valproate: Results of a prospective study. *Epilepsia.* 1988 29: 553-60.
- 105.- Simonsson H. Incontinentia pigmenti, Blch-Sulzberger syndrome associated with infantile spasms. *Acta Paediatr Scand.* 1972; 61: 612-4.
- 106.- Smeraldi E, Scorza-Smeraldi R, Cazzulo CL. Immunogenetics of Lennox-Gastaut syndrome: frequency of HLA-A antigens and haplotypes in patients and first-degree relatives. *Epilepsia.* 1975; 16: 699-703.
- 107.- Svejgaard A, PLaz P, Ryder LP. HLA and disease: A survey. *Immunol Rev.* 1983; 20: 193-217.
- 108.- Schwartz B. Complejo de histocompatibilidad HLA. En Daniel P. Stes, Wells V, Staba J. Eds. *Inmunolog_ a Cl_ nica, El manual moderno Mexico D.F., 1988 pp 46-58.*
- 109.- Taiwari LJ, y Terasaki P, eds. 1985. HLA and disease. Neva York : Springer-Verlag, pp 176.
- 110.- Tangye S R. The EEG and incidence of epilepsy in Down's syndrome. *J ment Defic Res.* 1979; 23: 17-24.
- 111.- Thorsby E, Lundin K, Ronningen K. Molecular basis and functional importance of some disease-associated HLA polymorphisms. *Tissue Antigens.* 1989; 34: 39-49.
- 112.- Treiman J L. Genetics of epilepsy: An overview. *Epilepsia.* 1993;34 (suppl 3): S1-11.
- 113.- Uthman B M, Reid S A, Wilder B J, Andriola M R, Beydoun A A. Outcome for West syndrome following surgical treatment. *Epilepsia.* 1991; 32: 668-71.
- 114.- Van Lierde A, Atza MG, Giardino D, Viani F. Angelman's Syndrome in the First year of life. *Develop. Med. Child Neurol.* 1990; 32: 1005-15.

- 115.- Vazquez HJ, Turner M. Epilepsia en flexion generalizada. Arch. Argent Pediat. 1951; 35: 111-41.
- 116.- Vigerano F, Fusco L, Cusmai R, Et. The idiopathic form of West syndrome. *Epilepsia*. 1993; 34(4): 743-46.
- 117.- Watanabe K, Iwase K, Hara K. The evolution of EEG feature in infantile spasms : a prospective study. *Dev Med. Child Neurol*. 1973; 15: 584-96.
- 118.- West WJ. On peculiar form of infantile convulsions. *Lancet*. 1841; 1: 724.
- 119.- Whitehouse W, Diebold U, Rees M, Parker K, Doose H, Gardiner R M. Exclusion of Linkage of genetic focal sharp waves to the HLA region on chromosome 6p in families with benign partial epilepsy with centropetal sharp waves. *Neuropediatrics*. 1993; 24: 208-10.
- 120.- Whitehouse, Rees M, Curtis D, Sundqvist A, Parker K, Chung E, Baralle D, Gardiner R M. Linkage Analysis of Idiopathic Generalized Epilepsy (IGE) an Marker on cromosome 6p in families of Patients with juvenile Myoclonic Epilepsy: No Evidence for an Epilepsy locus in the HLA Region. *Am J Hum Genet*. 1993; 53: 652- 62.
- 121.- Wilner A, Steinman L, Lavie P. Narcolepsy-Cataplexy in Israeli Jews Is Associated Exclusively with the HLA DR2 haplotype. *Human Immunol*. 1988; 21: 15-22.
- 122.- Wisniewski L, Hassold T, Heffelfinger J, Higgins J V. Cytogenetic and clinical studies in five cases of inv dup (15). *Hum Genet*. 1979; 50: 259-70.
- 123.- Spies T, Blanck G, Bresnahan M. A New cluster of genes within the human mayor histocompatibility complex. *Science* 1989; 243: 214-217.
- 124.- Banerji J, Sands J, Strominger J.L. A gene pair from the human mayor histocompatibility complex encodes large proline rich protein with multiple repeated motifs and single ubiquitin-like domain. *Proc. Natl Acad Sci. USA* 1990; 87: 2374-2378.
- 125.- Campbell DR, Trowsdale J. Map of the MHC. *Immunol Today*. 1993; 14: 349-352.
- 126.- Koller BH, Geraghty DE, Shimizu Y. HLA-E a novel HLA class I gene expressed in resting T lymphocytes. *J Immunol*. 1988; 141: 897-904.
- 127.- Geraghty DE, Weix X, Orr HT. Human Leucocyte antigen F (HLA-F). An expressed HLA gene composed of a class I coding sequence linked to a novel transcribed repetirive element. *J Exp Med*. 1990; 171: 1-18.

- 128.- Geraghty DE Koller BH, Orr HT . A Human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: 9149.
- 129.- Long EO Intracellular traffic and antigen processing. *Immunol Today*. 1989; 10: 232-234.
- 130.- Peterson M, Miller J. Invariant chain influences the immunological recognition of MHC class II molecules. *Nature*. 1990; 345: 172-174.
- 131.-Jardetzky TS, Lane WS, Robinson RA. Identification of self peptides bound to purified HLA-B27. *Nature*. 199; 353: 326-329.
- 132.- Brown JH, Jardetzky T, Saper MA. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature*. 1988; 332: 845-850.
- 133.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*. 1987; 329: 506-512.
- 134.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*. 1987; 329: 512-518.
- 135.- Hirayama K, Matushita S, Kikuchi I. HLA-DQ is epistatic to HLA-DR in controlling the immune response to schistosomal antigen in human. *Nature*. 1987; 327: 426-430.
- 136.- Cleves H, Alarcon B, Wileman T. The T cell receptor/CD3 complex: A dynamic protein ensemble. *Ann Rev. Immunol*. 1988; 6: 629-662.
- 137.- Weissman AM, Baniyash M, Hou D. Molecular cloning of the zeta chain of the T cell antigen receptor. *Science*. 1988; 239: 1018-1021.
- 138.- Veillette A, Bookman MA, Horak EM. Signal transduction through the CD4 receptor involve the activation of the internal membrane tyrosine-protein kinase p56lck. *Nature*. 1989; 338: 257- 259.
- 139.- Grenbaum LA, Horowitz JB, Woods A. Autocrine growth of CD4 T cells. Differential effects of IL-1 on helper and inflammatory T cells. *J. Immunol* 1988; 12: 256-257.
- 140.- Kurt Jones EA, Hamberg S, O'Hara J. Heterogeneity of helper/inducer T lymphocytes I. Lymphokine production and lymphokine responsiveness. *J. Exp. Med*. 1987; 166: 1774-1787.
- 141.- Iwasaki H, Taniguchi M, Shinohara N. Recognition of alloantigen by cytotoxic T cell precursors is independent of the function of Ia+ cell. *J. Immunol*. 1985; 134: 3592-3596.

- 142.- Rosenberg AS, Mizuoichi T, Sharrow SO. Phenotype, specificity, and function of T cell subsets and T cell interaction involved in skin allograft rejection. *J. Exp. Med.* 1987; 165: 1296-1315.
- 143.- Singer A, Krusebeek AM, Andrysiak PM, T cell-accessory cell interactions that initiate allo-specific cytotoxic T lymphocyte responses: Existence of both Ia-restricted and Ia-unrestricted cellular interaction pathway. *J Immunol.* 1984; 132: 2199-2209.
- 144.- Singer A, Munitz TI, Golding H. Recognition requirements and function of T helper cells specific for class I MHC alloantigens. *Immunol Rev.* 1987; 98: 143-170.
- 145.- Mizuoichi T, Ono S, Malek TR. Characterization of two distinct primary T cell populations that secrete interleukin 2 upon recognition of class I or class II major histocompatibility antigens. *J Exp Med.* 1986; 163: 603-619.
- 146.- Von Boehmer H, Kisielow P. Self-nonself discrimination by T cells. *Science.* 1990; 248: 1369-1373.
- 147.- Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQB genes contribute to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature.* 1987; 329: 599-604.
- 148.- Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JI. A molecular basis for MHC class II-associated autoimmunity. *Science.* 1988; 240: 1003-1009.
- 149.- Thomson G. HLA disease associations; models for insulin dependent diabetes mellitus and the study of complex human genetic disorders. *Ann Rev Genet.* 1988; 22: 31-50
- 150.- Scarf SJ, Fredmann A, Brautbar C. HLA class II allelic variation and susceptibility to penicillin vulgaris. *Proc Natl. Acad Sci USA.* 1988; 85: 3504-3508.
- 151.- White PC, New MI, Dupont B. HLA-linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome P-450 specific for steroid 21-hydroxylation. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 1984; 81: 7505-7509.
- 152.- Benjamin R, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today.* 1990; 11: 1383-142.
- 153.- Hors J. HLA et maladies. En Dausset J, Pla M Ed. HLA complex majeur d'histocompatibilité de l'homme. *Medicine-Sciences Flammarion, Paris.* 1990. pp.289-306.
- 154.- Trowsdale J, Powis S, Campbell D. The contribution of novel MHC genes to disease. In *HLA and Disease.* Academic Press. 1994 pp 140-179.

155.- Garcia C. Aspectos Juridicos y Legales de la investigación en seres Humanos En: Alarcon D, Ramon de la Fuente JR, Velazquez Arellano A. Ed. Fundamentos de la Investigación Clínica. Siglo veintiuno, UNAM. México D.F. 1988. pp. 55-71.

156.- Velez LA Ed. Etica Medica. Corporación Para investigación biologica. Carrajal S.A. Ed. Colombia . 1987. pp 323-334.

157.- Daly LE, Bourke GI, McGilvray J Eds. In Interpretation and Uses of Medical Statistics. Blackwell Scientific Publications. Londres UK. 1991. pp. 234-239.

158.- Mattiuz PL, Ihede D, Piazzza A, Capellini R, Bodmer WF. New approaches to the population genetic segregation analysis of the HLA system. En: Histocompatibility Testing. Ed. Terasaki PI. Munksagaard, Copenhagen. 1970. pp 193-205.

159.- Berstein SC, Throckmorton LH, Hubby. Still more genetic variability in natural populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1973; 70: 3928-3931.

160.- Haldene JBS. The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frecuencies. Ann. Hum. Geneti. 1956; 20: 309-311.

161.- Penrose, LS. The detection of autosomal linkage in data which consists of pairs of brother and sisters of unspecified parentage. Ann Eugen. 6: 133-138.

162.- Gorodezky C, Olivo A, Debaz H, Rodriguez L, De la Rosa G. Estructuración de un nuevo modelo molecular de susceptibilidad y de protección dependiente de genes DR1, DQA1 y DQB1 en la Diabetes Tipo I. Gaceta Medica. 1995, en prensa.

163.- Debaz H, Olivo A, De la Rosa G, Lino L, Burgos R, Fernandez-Vina M, Stantny P, Gorodezky C. HLA Allele Associations in Rheumatoid Arthritis in Mexicans. 9 th International Congress of Immunology San Francisco . Julio EUA. 1995.

XI ANEXOS

Anexo I

El diagnóstico de esclerosis tuberosa se efectúa con la presencia de imágenes por TAC o IRM de lesiones sugestivas de tubers; estas lesiones se pueden acompañar con adenoma sebáceos en la cara, manchas hipocrómicas lanceoladas, rabdomiosarcoma cardíaco, tumores renales. Para constatar neuroinfección en este subgrupo debería existir el antecedente de el diagnóstico hecho en un centro hospitalario por medio de cultivos positivos para cualquier germen en el líquido cefalorraquídeo (LCR). En el caso de infecciones virales donde no se identifica el agente etiológico deberá existir el antecedente de alteraciones citoquímicas del LCR (parámetros de referencia: proteínas < de 45mg/100ml, glucosa 50-75 mg/100ml, cuenta celular < de 5 leucocitos/ml cúbicos). Estos resultados pueden ser apoyados por hallazgos en neuroimagen por TAC o IRM (calcificaciones, abscesos, reforzamientos meníngeos o parenquimatosos, edema, entre otros); El diagnóstico en pacientes con el antecedente de hipoxia perinatal, se debería haberse efectuado en un centro hospitalario por el médico que atendió el nacimiento del paciente y expresado por escrito. En los pacientes con disgenecia cerebral, el diagnóstico se efectúa por medio de T.A.C. o IRM.

Anexo 2

El diagnóstico de criptogénico se efectuó por exclusión . En estos casos no hay antecedentes de algún evento potencialmente desencadenante del espasmo infantil como alteraciones durante el embarazo, hipoxia perinatal, bajo peso al nacimiento, neuroinfecciones, traumatismo craneoencefálico, antecedente de diagnóstico de enfermedad metabólica, congénita, vascular cerebral y donde los estudios de tamiz metabólico, LCR, cariotipo se encuentran dentro de parámetros normales.

El diagnóstico de idiopático sese llevó acabo en aquellos pacientes donde no existían antecedentes relacionados con alguna patología, sus estudios de laboratorio, gabinete y la exploración neurológica resultaron eran normales.

Anexo 3

Calculo del tamaño de la muestra:

No existen estudios previos donde hayan resultados con las mismas variables que se pretenden analizar aquí. Por estos motivos y tomando como referencia el trabajo de Minevc y col. (83) que informa una asociación significativa del DR52 con la epilepsia.

HLA y epilepsia:

Error Alfa: $0.05 = 1.96$

Error Beta: $0.20 = .84$

Unico antígeno con diferencia significativa : DR5

Testigos Positivos: 26.50%

Pacientes Positivos: 52.94%

Delta: 26.44

$$n > \frac{K(p_1 q_1 + p_2 q_2)}{\Delta^2}$$

$$= 7.8 [0.265 (0.735)] + 0.5294 (0.4706)$$

$$= 7.8 (0.1948 + 0.2491) = 7.8 (0.4439) = 3.4627$$

$$= \frac{3.4627}{(0.2644)^2} = 49.5379$$

La muestra deberá de ser mínimo de 50 pacientes

Anexo 4

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL PROTOCOLO: MARCADORES GENETICOS DEL SISTEMA PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN PACIENTES CON ESPASMO INFANTIL.

Nombre:..... Reg..... Edad....

Por medio de la presente informo estar de acuerdo en que mi hijo ingrese al protocolo antes mencionado.

Esto implica el cumplimiento de las citas que los médicos soliciten así como la toma de productos para la tipificación de antígenos de histocompatibilidad tanto del paciente como de sus padres, y de sus hermanos carnales si estos existen y es necesario.

También estoy de acuerdo en que se les efectúen los estudios de laboratorio y gabinete, que el médico tratante crea conveniente, con previa explicación detallada del procedimiento en el caso de requerir biopsias, daré mi consentimiento por escrito, estando consiente de los riesgos quirúrgicos que esto implica.

Estoy de acuerdo en salir del protocolo si no cumplo con los reglamentos de este, o si deseo que mi hijo no continúe dentro de este protocolo de investigación, pero puedo continuar con el seguimiento y tratamiento de mi hijo en esta Institución .

PADRE O TUTOR

MADRE O TUTOR

INVESTIGADOR PRINCIPAL

TESTIGO

Anexo 5

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

A) FICHA DE IDENTIFICACION :

Nombre del paciente.....
Fecha..... Sexo..... Edad.....
Registro..... Num. de paciente.....
Nombre del padre.....
Edad al nacimiento del paciente.....
Originario.....
Nombre de la Madre.....
Edad al nacimiento del paciente.....
Originario.....
Consanguinidad conocida SI NO

B) ANTECEDENTES FAMILIERES :

Antecedente epilépticos SI NO
Parentesco..... Tipo.....
Antecedentes de retraso mental SI NO
Parentesco..... Tipo.....
Antecedentes de enfermedad metabólica diagnosticada SI NO
Parentesco..... Tipo.....
Antecedentes de dismorfia o enfermedad genética diagnosticada SI NO
Parentesco..... Tipo.....
Antecedentes de otras enfermedades SI NO
Parentesco..... Tipo.....

C) TIPO DE ESPASMO MASIVO

CRITOGENICO
SINTOMATICO

Edad de inicio semanas

D) PATOLOGIA PERINATAL	SI	NO
Amenaza de aborto o parto prematuro	SI	NO
Edad Gestacional.....		
Hipoxia	SI	NO
Bajo peso al nacimiento	SI	NO
Otros tipos de distosia	SI	NO
Tipo.....		
Cesarea	SI	NO
Indicación.....		

E) ANTECEDENTES PERSONALES

Inmunizaciones una semana antes del inicio del padecimiento	SI	NO
Cual.....		
Neuroinfección	SI	NO
Cual.....		
Síndromes genéticos	SI	NO
Cual.....		
Otra enfermedad acompañante	SI	NO
Cual.....		
Desarrollo psicoimotriz antes del EMI Anormal	SI	NO

D) EXPLORACION FISICA

Peso.....Perc..... Talla.....Perc..... Temp.....			
T.A..... FC..... F.R.....			
Perímetro cefálico.....cm. Perc.....			
Estado de conciencia :			
Pares craneales Anormales		SI	NO
Cual.....			
Fuerza disminuida	????	SI	NO
Sensibilidad disminuida	????	SI	NO
Coordinación alterada	????	SI	NO
Tono muscular Anormal		SI	NO
Cual.....			
Atrofia y/o hipertrofia		SI	NO
Músculos.....			
Reflejos frontales Anormales		SI	NO
Reflejos osteotendinosos Anormales		SI	NO
Aumentados / Disminuidos.....			
Respuesta plantar extensora Anormal		SI	NO
Extremidad.....			
Marcha Anormal		SI	NO
Tipo.....			

E) ESTUDIOS DE LABORATORIO

Anormal SI NO
Culacs.....

D) ESTUDIOS DE GABINENTE

Electroencefalograma o mapeo num..... fecha.....
Anormal SI NO
Ritmo de base.....
Paroxismo localización.....
Tipo de paroxismo.....
Efectos medicamentoso.....
T.A.C. Y/O I.R.M. Fecha..... Anormal SI NO
Descripción.....

F) ARBOL GENENEALOGICO

Familia #.....

Lugar de origen.....

Haplotipo paternos A/B.....

Haplotipo materno C/D.....

A.....

B.....

C.....

D.....

/// Paciente

0 Femenino

Másculino

Población afectada

Nombre.....

Identificación.....

Fecha de nacimiento.....

Edad..... **Sexo**.....

Fenotipo HLA Clase I Locus A ,BC, Bw.....

Fenotipo HLA Clase II Locus DR, DRw, DQ, DP.....