



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA SILVESTRE FRENK FREUND

**“EXPRESIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR DE POLIMORFISMOS EN  
RECEPTORES GABABR1 y GABABR3 EN PACIENTES DE EDAD PEDIATRICA  
CON DIAGNOSTICO DE EPILEPSIA”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA

Presenta: Alondra Anahi Deras Martínez  
Residente de Neurología Pediátrica en el HPCMNSXXI  
Mail: aloani52@hotmail.com

Tutor: Dra. Araceli Reyes Cuayahuitl  
Neuróloga pediatra. Neurofisiologa clínica  
Adscrito al servicio de Neurología Pediátrica en HPCMNSXXI

Asesor metodológico: Dr Mario Enrique Rendón  
Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica  
Hospital de pediatría Siglo XXI.

Colaborador: Dra Sandra Orozco Suárez  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas  
Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI IMSS

Dra. Iris Feria Romero  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas  
Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS

CIUDAD DE MÉXICO, JULIO 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

APROBACIÓN DE EXAMEN PROFESIONAL:

---

**Dr. Jesús Dario Rayo Mares.**

**PRESIDENTE**

Jefe de servicio de Neurología Pediátrica

UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI IMSS.

---

**Dra. Julia Rocio Herrera Márquez.**

**SECRETARIO**

Jefe de División de Investigación en Salud.

UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI IMSS.

---

**Dr. Luis Antonio Arenas Aguayo.**

**VOCAL**

Profesor de la residencia de Neurología Pediátrica

UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI IMSS.



"2017, Año del Centenario de la Promulgación de la  
Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Oficio No. 09 B5 61 61 2800/2017/ 001300

Ciudad de México, a 25 de abril de 2017.


**DRA. SANDRA ADELA OROZCO SUÁREZ**  
Investigador Principal  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas  
UMAE Hospital de Especialidades, C.M.N. Siglo XXI  
PRESENTE

En relación al protocolo "Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente" con número de registro 2015-785-088, el Comité de Ética en Investigación CONBIOÉTICA-09-CEI-009-20160601, revisó y aprobó la inclusión como coautora del proyecto a la C. Aracely Reyes Cuayahuitl, así como la inclusión de las alumnas Vanessa Janneth Ponce Navarro y Alondra Anahi Deras Martínez

Sin otro particular, le envío un saludo.

Atentamente

  
**DR. FABIO ABDEL SALAMANCA GOMEZ**  
Representante Legal  
Coordinación de Investigación en Salud  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
No. Registro COFEPRIS CI: 13 CI 09 015 213  
No. Registro COFEPRIS CB: 13 CB 09 015 214

  
**DR. MARCOS GUTIÉRREZ DE LA BARRERA**  
Presidente  
Comité de Ética en Investigación  
Coordinación de Investigación en Salud  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

SNN/RBB  
ykgm  
F-CNIC-2015-83

## ÍNDICE

<b>TÍTULO .....</b>	<b>1</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>4</b>
Índice de tablas .....	6
Índice de figuras .....	6
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>7</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
Mutaciones de GABABR1 y GABABR3 .....	17
<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>18</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>19</b>
Pregunta de investigación .....	19
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
Objetivos generales.....	20
Objetivos específicos .....	20
<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
Lugar de estudio.....	21
Tipo de estudio .....	21
Universo de estudio.....	21

Criterios de inclusión.....	21
Criterios de exclusión.....	21
Variables.....	22
Descripción general del estudio .....	23
Tamaño de muestra.....	23
Análisis estadístico.....	23
<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS .....</b>	<b>24</b>
<b>RECURSOS Y FINANCIAMIENTO .....</b>	<b>25</b>
<b>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....</b>	<b>26</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>38</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>44</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>47</b>
Anexo 1. Hoja de recolección de datos .....	48
Anexo 2. Asentimiento informado.....	49

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales mutaciones de GABABR1 y GABABR3 .....	13
--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características demográficas de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente y farmacosensible .....	25
Figura 2. Distribución de la población según el tipo de crisis epiléptica.....	26
Figura 3. Distribución de la población según el número de fármacos antiepilépticos usados .....	27
Figura 4. Distribución de la población según el número de fármacos antiepilépticos en pacientes farmacosensibles .....	28
Figura 5. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos ...	29
Figura 6. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos en pacientes farmacosensibles .....	29
Figura 7. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos en pacientes farmacorresistentes .....	30
Figura 8. Distribución de la población estudiada según los hallazgos de neuroimagen.....	31
Figura 9. Polimorfismos 1 al 8 de GABABR1 por grupo de epilepsia.....	32
Figura 10. Polimorfismos 1 al 3 de GABABR3 por grupo de epilepsia.....	33
Figura 11. Proporción de crisis por polimorfismos GABABR1 y GABABR3 .....	34
Figura 9. Proporción de género por mutación GABBR.....	35

## **ABREVIATURAS**

CIREN	Centro Internacional de Restauración Neurológica
CMN	Centro Médico Nacional
CMNSXXI	Centro Médico Nacional Siglo XXI
DCF	Displasia(s) cortical(es) focal(es)
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GABA-B	GABA tipo B
GABABR1	Subunidad 1 del receptor de GABA-B
GABABR3	Subunidad 3 del receptor de GABA-B
MW	Prueba U de Mann-Whitney
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio. Razón de momios
RM	Resonancia magnética
rs	Referencia del SNP
SNP	Single nucleotide polymorphism Polimorfismo de nucleótido único
UMAE	Unidad Médica de Alta Especialidad
ILAE	Liga Internacional contra la Epilepsia
FR	Farmacorresistententes
FS	Farmacosensibles



## **RESUMEN**

### **“EXPRESIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR DE POLIMORFISMOS EN RECEPTORES GABABR1 y GABABR3 EN PACIENTES DE EDAD PEDIATRICA CON DIAGNOSTICO DE EPILEPSIA”**

**ANTECEDENTES:** La epilepsia es un trastorno cerebral de importancia epidemiológica por su alta prevalencia y sus consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales, por lo cual su estudio sigue siendo de gran importancia para lograr un control clínico de esta evitando sus complicaciones, a través del conocimiento de su fisiopatología, dentro de la cual se han propuesto múltiples mecanismos genéticos como lo es la expresión de polimorfismos de los receptores GABABR1 y GABABR3 y su relación con la respuesta al tratamiento.

**OBJETIVO:** Describir la expresión molecular de polimorfismos en los receptores GABABR1 y GABABR3 de los pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia.

**TIPO DE ESTUDIO:** Transversal, observacional, descriptivo.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se determinaron los polimorfismos en los genes codificadores de los receptores GABABR1 y GABABR3 por secuenciación masiva en pacientes de 6 meses a 16 años con diagnóstico de epilepsia, atendidos en un hospital de tercer nivel de atención. Se determinaron las frecuencias de las variantes polimórficas de estos genes con el control de antiepilépticos y se describieron las características clínicas de los sujetos de estudio.

**RESULTADOS:** 47 pacientes fueron estudiados; 37 farmacorresistentes (FR) y 10 farmacosensibles (FS). Las crisis epilépticas focales fueron las más frecuentes en todas las variantes genéticas, excepto en GABABR3-2. En el gen GABABR1, la variante con mas polimorfismos encontrados fue del GABABR1-7 en el 50% de los pacientes (64% FS y en el 45% FR); para el gen GABABR3, las variante con mas polimorfismos fue la GABABR3-3, encontrada en el 70% de los pacientes (71% FS y 70% FR), seguido del GABABR3-1 en el 56% de los pacientes (79% FS y 48% FR).

**CONCLUSIONES:** Se detecto una alta prevalencia de mutaciones en los genes GABABR1 y GABABR3. Los polimorfismos más frecuentes para el receptor GABBR1 fueron encontrados en GABABR1-7 en un 50% de los pacientes y para GABABR3 en GABABR3-3 en un 70% y GABABR3-1 en un 56%. No se identifico una asociación de estos genes con la farmacorresistencia probablemente por el tamaño y la variabilidad de la muestra.

## **MARCO TEÓRICO**

La epilepsia es el trastorno neurológico más frecuente de la práctica neurológica, la cual es una enfermedad de carácter crónico que afecta a personas de todas las edades de todas partes del mundo con mayor prevalencia de inicio en edad pediátrica. La ILAE la describe como “una alteración cerebral caracterizada por la predisposición permanente para generar crisis y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales derivadas de esta condición” [1]. En el 2016 se propuso que la epilepsia se considere una enfermedad definida por cualquiera de las siguientes condiciones: Al menos dos convulsiones no provocadas (o reflejas) que ocurren con más de 24 horas de diferencia; una convulsión no provocada (o refleja) y una probabilidad de convulsiones adicionales similar al riesgo de recurrencia general (al menos 60%) después de dos crisis convulsivas no provocados, que ocurren en los próximos 10 años[2].

Definida por la OMS como una enfermedad cerebral crónica caracteriza por convulsiones recurrentes, con una incidencia de aproximadamente el 2% lo que corresponde a 50 millones de personas afectas en el mundo, lo que convierte a esta enfermedad en la causa neurológica de defunción más común así como un problema epidemiológico. Es importante mencionar que el 70% de los casos no responden al tratamiento, lo cual aumenta su importancia epidemiológica ya que al

no responder de manera adecuada se puede agregar a esta diferentes tipos de secuelas neurológicas. Alrededor de tres cuartas partes de las personas que viven en países de ingresos bajos y medianos no reciben el tratamiento que necesitan [3]. Y de los pacientes que lo reciben se presentan con una incidencia de un 17 a un 40 % con epilepsia pueden resultar refractarios al tratamiento farmacológico [4]. Dentro de esta mala respuesta al tratamiento se puede considerar más alta la resistencia en los primeros cinco años de edad [5].

Las crisis epilépticas son el resultado de una descarga excesiva e hipersincrónica en una población de neuronas hiperexcitables, como resultado de un aumento en la excitación y una reducción en la inhibición. La mayoría de las crisis se generan en estructuras neocorticales e hipocampales, aunque algunas estructuras subcorticales como el tálamo se han involucrado en algunos tipos de crisis. Existe evidencia, de que los canales de sodio, potasio y calcio dependientes de voltaje favorecen las descargas paroxísticas de grupos neuronales determinados, lo que lleva a una re-estructuración de las arborizaciones dendríticas y con ello al desarrollo de focos epileptógenicos, los cuales, a su vez se ven limitadas por mecanismos inhibitorios compensadores los cuales son regulados por neurotransmisores dentro de los cuales el principal inhibitorio es el GABA (ácido gamma-aminobutirico), el cual se encuentra en la corteza cerebral, núcleos de la base, cerebelo (células de purkinje) y medula espinal; principalmente en interneuronas de axón corto que hacen sinapsis en cuerpos celulares y axones proximales [6].

El GABA contrarresta la excitación neuronal y cuando se perturba este equilibrio, pueden producirse convulsiones. GABA se forma dentro de las terminales axónicas GABAérgicas mediante la transaminación de  $\alpha$ -cetoglutarato a ácido glutámico, que luego se descarboxila mediante la enzima glutámico descarboxilasa (GAD) a GABA. Se libera en la sinapsis y luego actúa en uno de los dos tipos de receptores GABA: receptores GABAA y receptores GABAB. Los receptores GABAB son receptores ligados a la proteína G que hiperpolarizan la neurona al aumentar la conductancia del potasio. Los receptores GABAB disminuyen la entrada de calcio y tienen un efecto inhibitorio lento. Después de la liberación de los terminales del axón presináptico, el GABA se elimina rápidamente mediante la captación en las terminaciones nerviosas glia y presináptica y luego se cataboliza mediante la transaminasa GABA en semialdehído succínico. El semialdehído succínico se convierte en ácido succínico por la enzima semialdehído deshidrogenasa de ácido succínico y luego ingresa en el ciclo de Krebs. Estas observaciones sugieren que los posibles efectos sincronizadores de las interneuronas GABA pueden dar como resultado la facilitación paradójica de algunos tipos de descargas epilépticas [7].

Las propiedades funcionales del receptor GABA B1 y su localización en la región en el segmento cromosómico 6p21.3 enfatizan al gen GABABR1 como un gen candidato de alto rango para la epilepsia. Recientemente se identificaron tres variantes génicas exónicas de GABABR1 mediante análisis de conformación monocatenario (SSCA) en 18 pacientes con epilepsia mioclónica juvenil, no relacionadas que derivaron de familias con evidencia positiva de vinculación con el

locus HLA-DQ ( asumiendo una herencia autosómica dominante con un 70% de penetrancia). Los cambios de nucleótidos causan una sustitución de alanina por valina en el exón 1a1, una sustitución de glicina por serina en el exón 7 y un intercambio silencioso de nucleótidos C a G que codifica el aminoácido fenilalanina en el exón 11. Estos tres polimorfismos de secuencia de ADN proporcionan las herramientas para realizar estudios de asociación con este gen candidato de alto rango para epilepsia [8].

Se dice que un polimorfismo del receptor GABA B 1 confiere una alta susceptibilidad a la epilepsia del lóbulo temporal y además influye sobre la severidad de las crisis [9].

Si bien el estudio y conocimiento acerca de la gran familia de receptores activados por ligando ha tenido un gran avance en los últimos años, para muchos de sus miembros y, en especial, para GABA, la comprensión exacta de las respuestas farmacológicas mediadas por sus receptores es aún un área experimental con mucho potencial que promete tener una extraordinaria utilidad clínica. La presencia de sitios de modulación alostérica en los receptores GABA brinda la oportunidad para el desarrollo de drogas con gran afinidad y eficacia, lo que disminuiría los efectos secundarios indeseables en el tratamiento que involucra la administración de agonistas o antagonistas gabérgicos. A su vez, la amplia distribución en tejido nervioso del aminoácido GABA y de sus receptores durante la vida embrionaria y posnatal hace referencia a una trascendente participación del receptor y su agonista en procesos biológicos clave, como el neurodesarrollo o la

consolidación de la memoria y el aprendizaje, o bien en condiciones patológicas, como la epilepsia [10].

La asociación entre la epilepsia del lóbulo temporal y el polimorfismo GABABR1 G1465A fue reportada originalmente por Gambardella et al. (2013) en una cohorte de pacientes italianos que incluyeron 13 pacientes con esclerosis del hipocampo. En 2003 se informó una asociación entre el polimorfismo G1465A del gen que codifica la subunidad 1 del receptor GABA tipo B (GABABR1) y la epilepsia del lóbulo temporal. Sin embargo, seis estudios recientes no identificaron encontrar una asociación entre el polimorfismo G1465A y la epilepsia del lóbulo temporal en grupos de pacientes con diferentes orígenes étnicos. Las diferencias étnicas pueden jugar un papel en los resultados contradictorios de los estudios de asociación genética. Estas diferencias podrían deberse al desequilibrio de ligamiento de la enfermedad que causa diferentes alelos en el locus del marcador en diferentes poblaciones. Alternativamente, la heterogeneidad alélica entre diferentes grupos étnicos u otros factores genéticos o ambientales que modifiquen la asociación podrían explicar las diferencias entre los estudios [11].

Los receptores GABAB modulan la transmisión sináptica por la inhibición presináptica de la liberación de neurotransmisores o por el aumento postsináptico de la conductancia de potasio, que es responsable de los potenciales postsinápticos inhibidores de larga duración. Existe evidencia convincente de que los receptores GABAB desempeñan un papel crítico en la patogénesis de las crisis de ausencia en modelos animales. Las crisis de ausencia son generadas por circuitos talamocorticales que tienen la capacidad de someterse a disparos

sincronizados de ráfagas oscilatorias. Un potencial postsináptico inhibitor mediado por el receptor GABAB prepara las neuronas talamocorticales para el estallido y la sincronización aberrante mediante la activación de canales de calcio dependientes del voltaje de bajo umbral durante el inicio de las crisis de ausencia. Además, las crisis de ausencia son exacerbadas por agonistas y suprimidas por antagonistas del receptor GABAB. El gen GABABR1 humano se ha identificado recientemente en la región cromosómica 6p21.3, en la vecindad a un locus de susceptibilidad para epilepsia [12].

Los espasmos infantiles son una epilepsia infantil catastrófica. Previamente, se demostró que el modelo de ratón Ts65Dn (Ts) del síndrome de Down es un sustrato útil sobre el cual desarrollar un modelo animal de espasmos infantiles. Específicamente, ahora encontrando se ha encontrado que los agonistas de GABABR inducen un fenotipo de espasmos infantiles [13].

La corriente despolarizante de GABA durante la maduración cerebral posnatal puede desempeñar un papel importante en las epilepsias [14]. Las mutaciones en GABRG2 se han asociado con ataques febriles simples y con síndromes de epilepsia genética, incluida la epilepsia de ausencia, epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus y síndrome de Dravet o epilepsia mioclónica grave en la infancia. Las mutaciones incluyen mutaciones de sentido erróneo, sin sentido y desplazamiento de marco, así como mutaciones de sitio de unión y de delección. Las mutaciones se han identificado tanto en secuencias codificantes como no codificantes, como sitios de corte y empalme. En la secuencia codificante, estas mutaciones se encuentran en múltiples ubicaciones, las cuales incluyen el extremo

N-terminal extracelular, los dominios transmembrana y el asa intracelular transmembrana 3-transmembrana. las cuales se han asociado a estrés celular, muerte celular y la activación de defectos [15]. Todas estas mutaciones tapien redujeron la función del canal pero en diferentes grados y por diversos mecanismos, incluyendo la degradación de las proteínas asociadas al retículo endoplásmico, la supresión negativa dominante de las subunidades asociadas y la agregación de la subunidad mutada [16].

Aproximadamente las 3/4 partes de los pacientes epilépticos inician sus ataques durante la infancia y es usual que éstos tomen medicación antiepiléptica por largo tiempo. Algunos niños epilépticos sufren un impacto directo sobre las funciones cognitiva y/o la conducta. Los epilépticos en edades pediátricas tienen mayor riesgo de desarrollar alteraciones cognitiva y conductuales. Se estima que la prevalencia de los trastornos conductuales entre los niños epilépticos es 4.7 veces mayor que en los niños sanos. El deterioro de las habilidades intelectuales y psicosociales es proporcional a la frecuencia de las crisis epilépticas y la duración de la enfermedad, lo cual se ha explicado con base en el daño neuronal progresivo inducido por las crisis y a un mayor uso de drogas antiepilépticas. Diversos estudios demuestran que aspectos estables de la cognición, como el coeficiente de inteligencia, guardan una estrecha relación con la severidad del síndrome epiléptico tomando como medida la frecuencia promedio de las crisis, mientras que las características transitorias de las funciones cognitivas, como el tiempo de reacción, están relacionadas con la ocurrencia de descargas epileptiformes electroencefalográficas, las cuales tienen efecto acumulativo en el tiempo, y que



afectan a largo plazo aspectos más estables de la cognición como el rendimiento escolar. El 70% de los pacientes con epilepsia sintomática mostraron un coeficiente de inteligencia inferior a 50 puntos [17].

Las personas con convulsiones tienden a presentar más problemas físicos (fracturas y hematomas debido a lesiones relacionadas con las convulsiones) así como mayores tasas de condiciones psicológicas, incluyendo ansiedad y depresión [18] y la muerte prematura es hasta tres veces mayor que en la población general, por lo cual es imprescindible continuar con el estudio de la epilepsia para encontrar las mejores terapéuticas para su control y así evitar sus secuelas [19].

### **MUTACIONES DE GABBR1 Y GABBR3**

Los genes GABBR1 y GABBR3 han reportado varias docenas de mutaciones en diversas posiciones de su secuencia y en las referencias (rs) de polimorfismos de nucleótido único (SNP), sin embargo se reconocen ocho principales mutaciones del gen GABBR1 y tres mutaciones del gen GABBR3, consideradas entre 132 mutaciones registradas base.

**Tabla 1. Principales mutaciones de GABBR1 y GABBR3**

<b>Mutación</b>	<b>Posición en el gen y SNP</b>
GABBR1-1	29570841 / rs2267633
GABBR1-2	29575003 / rs114647427
GABBR1-3	29575030 / sin rs
GABBR1-4	29576393 / rs113997063
GABBR1-5	29581011 / rs114739017
GABBR1-6	29581041 / rs116607207
GABBR1-7	29589124 / rs115549829
GABBR1-8	29591864 / rs3025626
GABBR3-1	26792415 / rs11637141
GABBR3-2	26806393 / rs3751583
GABBR3-3	27017536 / rs55694247

SNP = polimorfismo de nucleótido único  
rs = referencia del SNP

## **JUSTIFICACIÓN**

La epilepsia es un trastorno neurológico con repercusiones neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales, alrededor de la cuarta parte de los pacientes con este padecimiento no logran control del mismo, es decir tienen una falta de respuesta a tratamiento farmacológico. Se han realizado estudios en búsqueda de la causa de la farmacoresistencia, dentro de ellos incluyen alteraciones moleculares a nivel de neurotransmisores, sus transportadores y sus receptores. El presente estudio busca identificar polimorfismos de los receptores GABA B específicamente GABABR1 y GABABR3 con la finalidad de determinar la presencia de los mismos en los pacientes con epilepsia en edad pediátrica lo que podría brindar la oportunidad de conocer su asociación con la mala de respuesta y sugerir un tratamiento farmacológico específicamente dirigido, que involucra la administración de agonistas o antagonistas gabaérgicos lo que disminuiría los efectos secundarios en el tratamiento antiepiléptico y un mejor control de las crisis epilépticas.

La UMAE Hospital de Pediatría Silvestre Frenk Freund es un centro de referencia que cuenta con gran población con el diagnóstico de epilepsia que con el apoyo del laboratorio de investigación de enfermedades neurológicas cuenta con la infraestructura e información para realizar el análisis de los polimorfismos de receptores GABA B cuya información es poca a nivel internacional y nula a nivel nacional.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La epilepsia es una patología neurológica con alta tasa de presentación en la edad pediátrica, su gran incidencia ha despertado el interés de investigar todos los aspectos que la involucran, dentro de los cuales se encuentra su falta de respuesta al tratamiento farmacológico que se presenta en la cuarta parte de los pacientes, esta condición conlleva daño neuronal y deterioro cognitivo progresivo, por lo que el estudio de nuevas estrategias para comprender su fisiopatología nos conducen a la búsqueda de alteraciones moleculares en los neurotransmisores implicados en la epileptogénesis. La epilepsia es uno de los principales motivos de consulta y referencia en nuestra unidad y una parte de ella con falla en la sensibilidad a tratamiento antiepiléptico.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la expresión clínica y molecular de polimorfismos en los receptores GABABR1 y GABABR3 en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia?

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVOS GENERALES**

Describir la expresión clínica de polimorfismos en los receptores GABABR1 y GABABR3 en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia.

Determinar la expresión molecular de polimorfismos en los receptores GABABR1 y GABABR3 en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir los polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3 encontradas en pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia.
- Describir los tipos de epilepsia en pacientes pediátricos con polimorfismos en los receptores GABABR1 y GABABR3.
- Describir el tratamiento farmacológico de pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia y polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3.
- Describir el número de fármacos utilizados en el tratamiento de pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia y polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3.
- Describir los hallazgos electroencefalográficos de pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia y polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3.
- Identificar la asociación entre los polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3 y el tipo de epilepsia en pacientes pediátricos con este diagnóstico.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **LUGAR DE ESTUDIO**

Servicio de Neurología de la UMAE Hospital de Pediatría Dr. Silvestre Frenk Freund Centro Médico Nacional Siglo XXI

### **TIPO DE ESTUDIO**

Transversal, descriptivo, observacional

### **UNIVERSO DE ESTUDIO**

Expedientes de pacientes pediátricos que fueron sometidos a estudio de secuenciación masiva en los genes GABABR1 y GABABR3 con diagnóstico de epilepsia del 1 de enero del 2012 al 1 de enero del 2018 en CMN Siglo XXI Pediatría.

### **Criterios de inclusión**

Expedientes de pacientes de 6 meses a 16 años 11 meses de edad

Pacientes del género femenino y masculino

Pacientes con diagnóstico de epilepsia

Pacientes a quienes se determinación de polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3.

### **Criterios de exclusión**

- Expedientes incompleto.

## VARIABLES

<b>VARIABLE</b>	<b>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICIÓN OPERACIONAL</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>UNIDAD DE MEDICIÓN</b>
Edad	Lapso de tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta la actualidad	Años cumplidos al momento del diagnóstico	Cuantitativa Continua	Años
Género	Condición orgánica que distingue lo femenino de lo masculino.	Masculino o Femenino	Cualitativa Nominal	Masculino Femenino
Hallazgos electroencefalográficos	Hallazgos anormales en registro electroencefalográfico.	Hallazgos anormales en registro electroencefalográfico antes de la realización de la cirugía.	Cualitativa nominal	1. Asimetría 2. Actividad focal 3. Actividad generalizada. 4. Lentificación
Tipos de crisis epilépticas	Presentación transitoria de signos o síntomas debidos a actividad neuronal excesiva e hipersincrónica en el encéfalo.	Tipo de manifestación epiléptica debida a actividad neuronal excesiva e hipersincrónica en el encéfalo.	Cualitativa nominal	1. Focal 2. Generalizada
Número de fármacos administrados	Número de fármacos antiepilépticos utilizados para el control de las crisis convulsivas	Número de fármacos antiepilépticos utilizados para el control de las crisis convulsivas	Cuantitativa Continua	1, 2 ó >3
Mutación gen G A B B R 1 GABBR3	Cambio de secuencia genética en bases o nucleótidos que lleva a una expresión génica anómala	Localización del punto de cambio genético en una posición específica y una referencia de polimorfismo	Cualitativa nominal	Posición / rs de SNP

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

Los pacientes incluidos en el estudio participaron en dos estudios previos: “Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente” y “Comparación de los niveles sérico de interleucinas (IL 1beta, IL 6 y TNF-alfa) entre subgrupos de pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia farmacorresistente y controlada”, éste último realizado en el año 2015, cuyas muestras séricas se utilizaron para ser analizadas en búsqueda de polimorfismos de receptores GABABR1 y GABABR3 en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia por medio de secuenciación masiva, mediante una hoja de recolección de datos (Anexo 1), con posterior concentración en una base de datos específica.

La base de datos fue elaborada en el programa Excel versión 2013 capturando la información clínica y terapéutica de los pacientes epilépticos con estudio molecular. Se incluyó la edad, género, etiología de la epilepsia, tipo de crisis, la respuesta terapéutica, el tratamiento previo y actual, así como el número de fármacos, tiempo de evolución, hallazgos electrofisiológicos y los resultados de la secuenciación masiva.

Finalmente fue codificada y procesada en el programa SPSS versión 22.

## **TAMAÑO DE MUESTRA**

Mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, se encontraron 47 pacientes con epilepsia del universo de pacientes pediátricos en el periodo de seis años (2012 a 2018) con evaluación de mutaciones en GABABR1 y GABABR3.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se emplea análisis descriptivo con medidas de tendencia central y dispersión de variables cuantitativas; frecuencias, proporciones e intervalos de las variables cualitativas. Se aplica pruebas de estadística inferencial con U de Mann-Whitney



para comparar variables cuantitativas, y prueba ji cuadrada o exacta de Fisher para comparar variables cuantitativas categóricas.

### **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este estudio se realizó dentro de las normas establecidas en la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos consignados en el título VI en materia de investigación en salud, en el artículo 17 del título 2, donde se establece que corresponde a una investigación de riesgo mínimo ya que se emplearon métodos de investigación documental. De igual forma se siguió la NORMA Oficial Mexicana NOM-024-SSA3-2010, que establece los objetivos funcionales y funcionalidades que deberán observar los productos de Sistemas de Expediente Clínico Electrónico para garantizar la interoperabilidad, procesamiento, interpretación, confidencialidad, seguridad y uso de estándares y catálogos de la información de los registros electrónicos en salud.

Este estudio es el brazo del protocolo de investigación con título “Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con epilepsia farmacorresistente”, sometido a evaluación por el Comité Nacional de Investigación en Salud por medio de enmienda con número de registro 2015-785-088 y Comité de Ética en investigación con número CONBIOÉTICA-09-CEI-009-20160601.

## **RECURSOS Y FINANCIAMIENTO**

Materiales: Se requerirá de expedientes solicitados en el archivo clínico del CMNS XXI Pediatría y los resultados obtenidos de las mutaciones en los genes GABABR1 y GABABR3.

Recursos Humanos: Investigador encargado de la elaboración del protocolo, asesores.

Factibilidad: Es factible su realización ya que en la unidad se cuenta con los recursos necesarios para realización de la investigación.

Financiamiento: Los costos serán asumidos por los investigadores del proyecto y no se requieren financiamiento externo, ya que únicamente se requiere de recolección de datos.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	OCT 2017	MAR- ABR 2018	ABR- MAY 2018	JUN- JUL 2018	JUL 2018	AGO 2018
<b>1. DISEÑO DEL PROYECTO (búsqueda bibliográfica, redacción, revisiones)</b>	X					
<b>2. Revisión y aceptación por CLEIS</b>		X	X			
<b>3. CAPTURA DE EXPEDIENTES CLÍNICOS</b>				X		
<b>4. BASE DE DATOS</b>				X		
<b>5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>					X	
<b>6. PRESENTACIÓN DE TESIS DE INVESTIGACIÓN</b>						X

## **RESULTADOS**

Se recabó la información de 47 pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia, los cuales cumplieron los criterios de inclusión, obteniendo un porcentaje de género del 54%(25) en mujeres y 46%(22) varones, con una edad promedio  $9.4 \pm 4.1$  años (mediana 9.5, mínimo 3-16 máximo, moda 8 años), sin diferencias de edad entre ambos géneros ( $p = 0.936$  MW). En cuanto a la respuesta al tratamiento se reportó el diagnóstico de epilepsia controlada en 10 pacientes (ECTR, 21.3%) y el diagnóstico de epilepsia farmacorresistente en 37 pacientes (EFR, 78.7%) al agrupar pacientes en farmacorresistentes y fármaco-controlados no existe una diferencia estadísticamente significativa respecto al género. (Figura 1).

**Figura 1. Características demográficas de pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente y farmacosensible**

	Epilepsia farmacorresistente		Epilepsia farmacosensible		Valor de p
	N	%	N	%	
<i>Datos</i>					
Género					
Femenino	17	45	8	80	0.078
Masculino	20	55	2	20	
Edad en años					
Mediana (min-max)	10 (3-16)		8 (3-16)		0.936

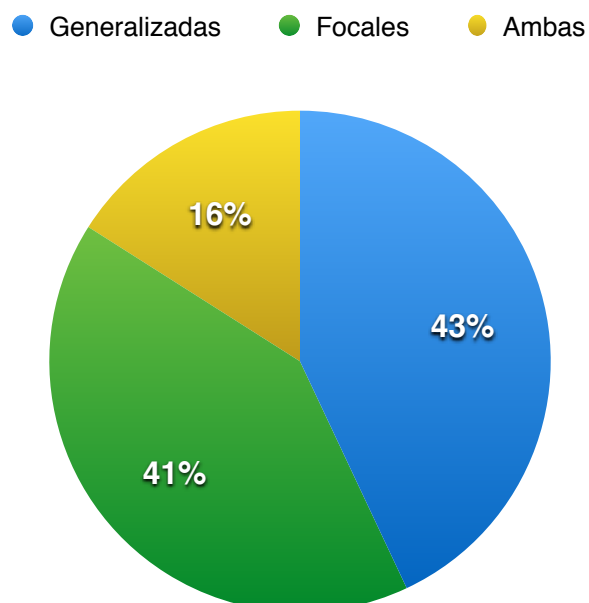
\*Prueba Exacta de Fisher 2 colas o prueba de U de Mann-Whitney.

El mayor porcentaje de pacientes farmacorresistentes 55%(20) correspondió al género masculino comparado con un 45%(17) de pacientes de sexo femenino. Para los niños con epilepsia controlada el 20%(2) correspondieron al sexo masculino y un 80% (8) al femenino.

La mediana de edad fue de 10 años para los pacientes farmacorresistentes, discretamente mayor que para los fármaco-controlados de 8 años, sin tener diferencia estadísticamente significativa; con los mismos rangos de edad de 3 a 16 años, para ambos grupos de pacientes.

Respecto al tipo de crisis epiléptica se encontró en nuestra población de estudio con características de crisis epiléptica descontrolado de 37 pacientes recabando el dato sobre el tipo de crisis epilépticas según la nomenclatura de ILAE 2016 [19], con una mayoría de crisis generalizadas (n = 16, 43%), seguida de crisis focales (n = 15, 41%), y se consideró la presencia de ambas en 6 pacientes (16%) (Figura 2).

**Figura 2. Distribución de la población según el tipo de crisis epiléptica N=37**

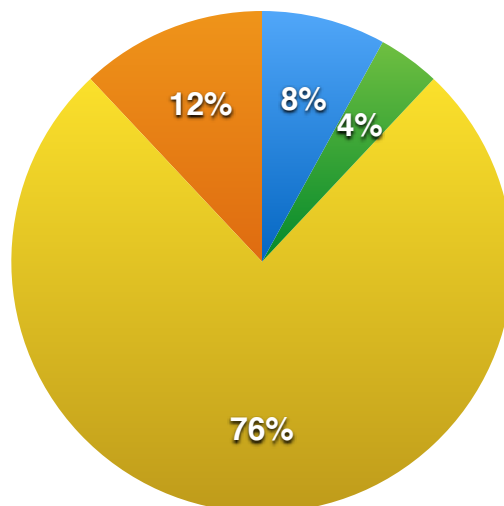


Con relación a la frecuencia con que se presentaron las crisis epilépticas en la población estudiada, encontramos que un 19%(9) de pacientes tuvieron crisis diarias, con un mínimo de una y hasta 25 crisis por día. Mientras en los farmacocontrolados el tiempo mínimo libre de crisis fue de una crisis por semana y el máximo de 9 años.

Dentro del tratamiento de los pacientes estudiados, en razón al número de fármacos antiepilépticos que requerían para el manejo de la epilepsia, se encontró que el 100% (47) de los pacientes se encontraban en tratamiento con un antiepiléptico con un número mínimo de un fármaco y un máximo de 4 fármacos, de los cuales el 76%(36) se encontraban con tres antiepilépticos, el 12%(5) con cuatro fármacos, 8%(4) con indicación de un fármaco, 4%(2) solamente con dos fármacos (figura 3).

**Figura 3. Distribución de la población según el número de fármacos antiepilépticos usados N=37**

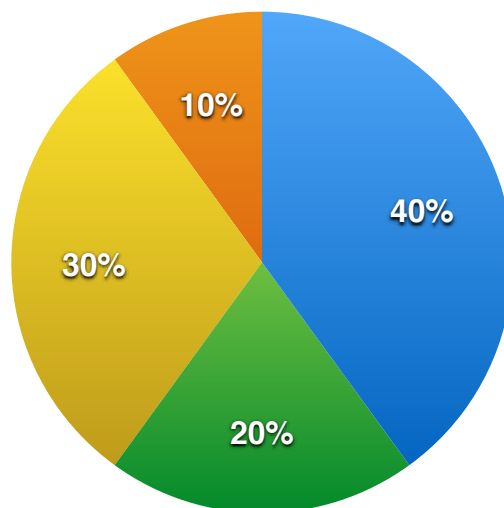
● 1 Fármaco    ● 2 Fármacos    ● 3 Fármacos  
● 4 Fármacos



De los pacientes farmacosenibles la mayoría 40%(4) se encuentran con un fármaco y el menor porcentaje 10%(1) con cuatro fármacos (Figura 4).

**Figura 4. Distribución de la población según el número de fármacos antiepilepticos en pacientes farmacosenibles N=10**

● 1 Fármaco    ● 2 Fármacos    ● 3 Fármacos  
● 4 Fármacos

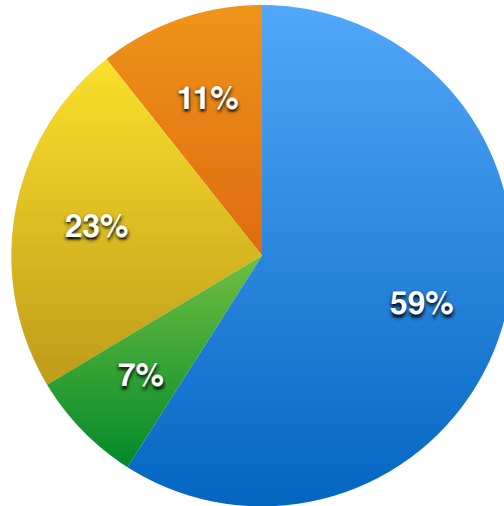


Y de los pacientes farmacorconsistentes la mayoría 89%(33) se encuentran con tres fármacos y el menor porcentaje 11%(4) con cuatro fármacos.

En el registro electroencefalográfico de la selección se encontró que el 72%(34) de la población presentó evidencia de actividad paroxística epiléptica focal. Un 6% presentaba actividad paroxística focal y generalizada. Mientras que en un 13%(6) de los casos, en el último registro, se encontraba sin evidencia de actividad epileptiforme. Y un 9%(4) presentó actividad irritativa cortical de tipo epiléptico generalizada (Figura 5).

**Figura 5. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos N=47**

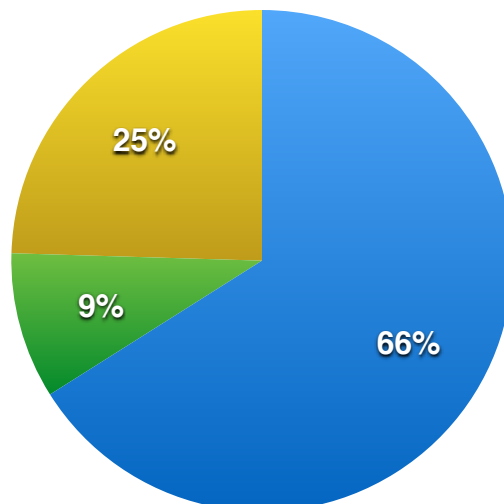
● Focal ● Generalizada ● Ambas ● Normal



Subdividiendo a nuestros paciente según farmasensibilidad, encontramos que el 70%(7) se encontró actividad irritativa cortical focal, 20%(2) sin actividad epileptiforme, un paciente con actividad tipo epiléptiforme generalizada y ningún paciente con actividad focal y generalizada (Figura 6).

**Figura 6. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos en pacientes farmacosensibles N=10**

● Focal ● Generalizada ● Normal ● Ambas

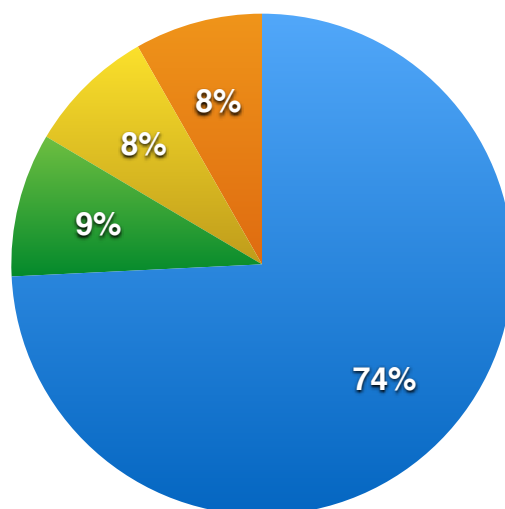




De los pacientes farmacorresistentes en su mayoría 72%(27) con actividad epileptiforme focal y en el menor número en ambos grupos de actividad generalizada y actividad paroxística focal y generalizada un 8%(3).

**Figura 7. Distribución de la población según hallazgos electroencefalograficos en pacientes farmacoresistentes N=37**

● Focal ● Normal ● Ambas ● Generalizadas

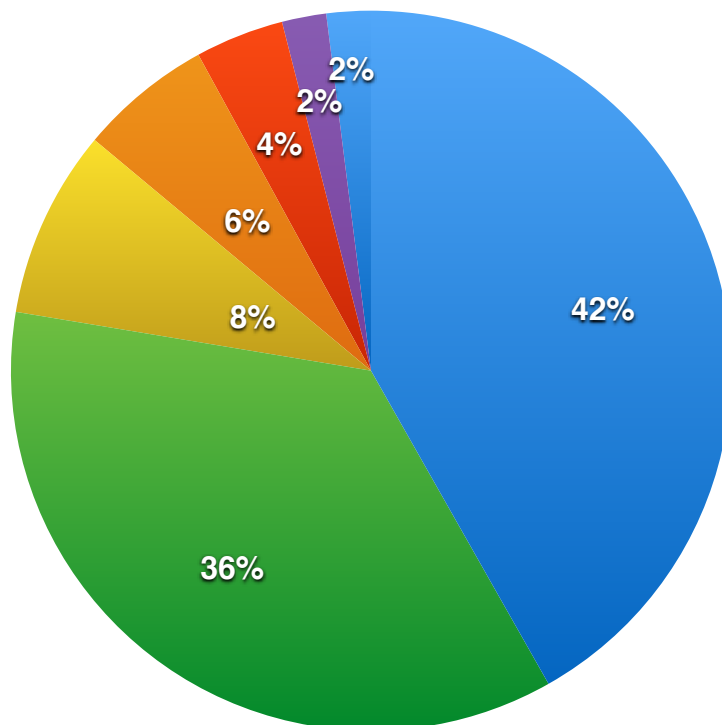


En cuanto a los hallazgos en los estudios de neuroimagen en el 63.82%(20) de los pacientes con epilepsia sintomática se evidenció una alteración estructural. La atrofia cortico subcortical fue la más frecuentemente observada hasta en el 42.55%(20) de los pacientes, seguido de lesiones isquémicas en un 8.5%(4) de los casos, con evidencia de infartos antiguos, áreas de encefalomalacia y gliosis, en tercer lugar se encontraron los pacientes con alteraciones en el cuerpo calloso en un 4.25%(2) a razón de un paciente con agenesia y otro hipoplasico solamente un paciente con alteración de la migración neuronal en un 2.12%(1) y aquellos

pacientes con diagnóstico de epilepsia de lóbulo temporal en los que se corroboraron áreas de esclerosis mesial temporal, con porcentajes de 4.25%(2) (Figura 6).

**Figura 8. Distribución de la población estudiada según los hallazgos de neuroimagen**

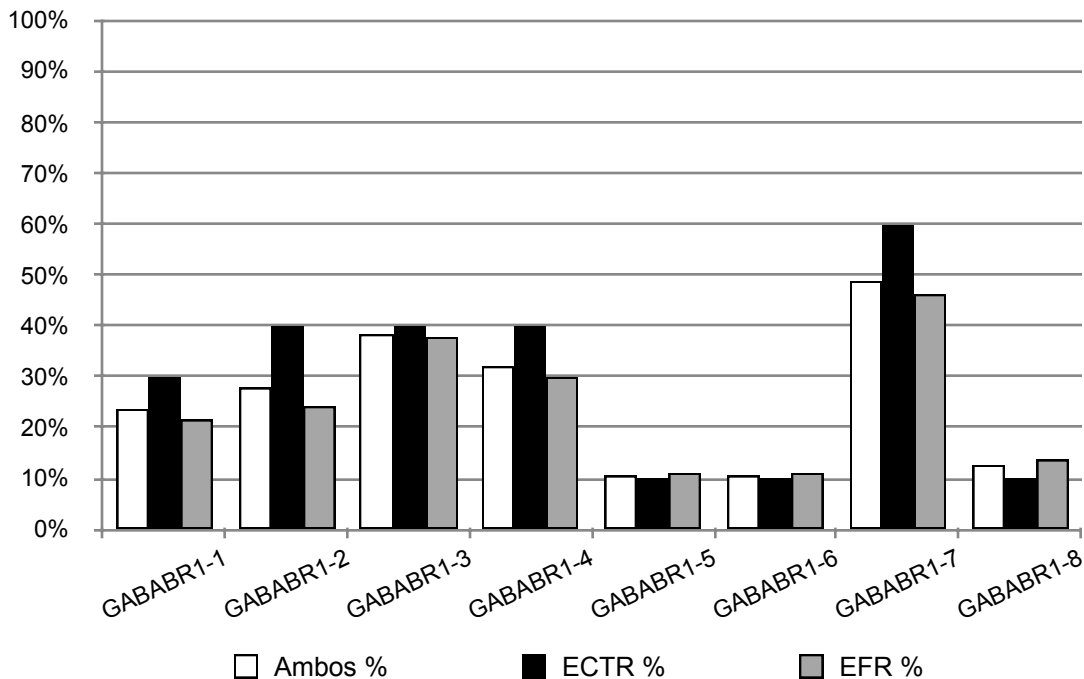
- Atrofia
- Lesión isquémica
- Alteración de cuerpo caloso
- Quiste SA
- Normal
- Lesión temporal
- Alteración de la migración neuronal



En los 47 pacientes epilépticos con datos se evaluaron los polimorfismos del gen GABABR1 y del gen GABABR3, en 10 pacientes con FS y en 37 con FR (Figura 1).

De los polimorfismos encontrados en GABABR1, se muestran las proporciones de la presencia de mutaciones en las subunidades del 1 al 8, se encontró una mayor frecuencia en la subunidad GABABR1-7 de las ocho variantes conocidas del gen en el 49% de los pacientes epilépticos (60% FS, 46% FR), seguida de GABBR1-3 y GABBR1-4 (Figura 9).

**Figura 9. Polimorfismos 1 al 8 de GABABR1 por grupo de epilepsia**



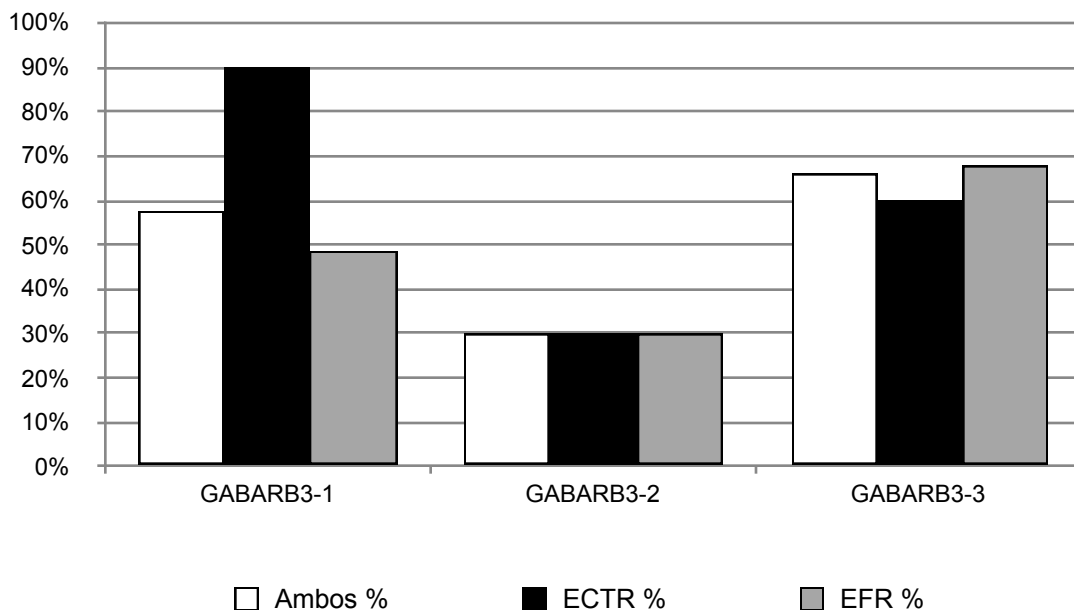
Se muestran las proporciones de la presencia de los polimorfismos 1 al 8 del gen GABABR1 en la muestra de pacientes, para ambos grupos de epilepsia (n = 47), también se muestra sólo FS (n = 10), o sólo FR (n = 37).

FS = epilepsia controlada (farmacosensible), EFR = epilepsia farmacorresistente.

Del receptor GABABR3, se muestran las proporciones de la presencia de polimorfismos en las subunidades del 1 al 3, encontrando una mayor frecuencia

en GABABR3-3, en el 70% de los pacientes (71% FS y 70% FR), seguido del GABABR3-1 en el 56% de los pacientes (79% FS y 48% FR) (Figura 10).

**Figura 10. Polimorfismos 1 al 3 de GABABR3 por grupo de epilepsia**

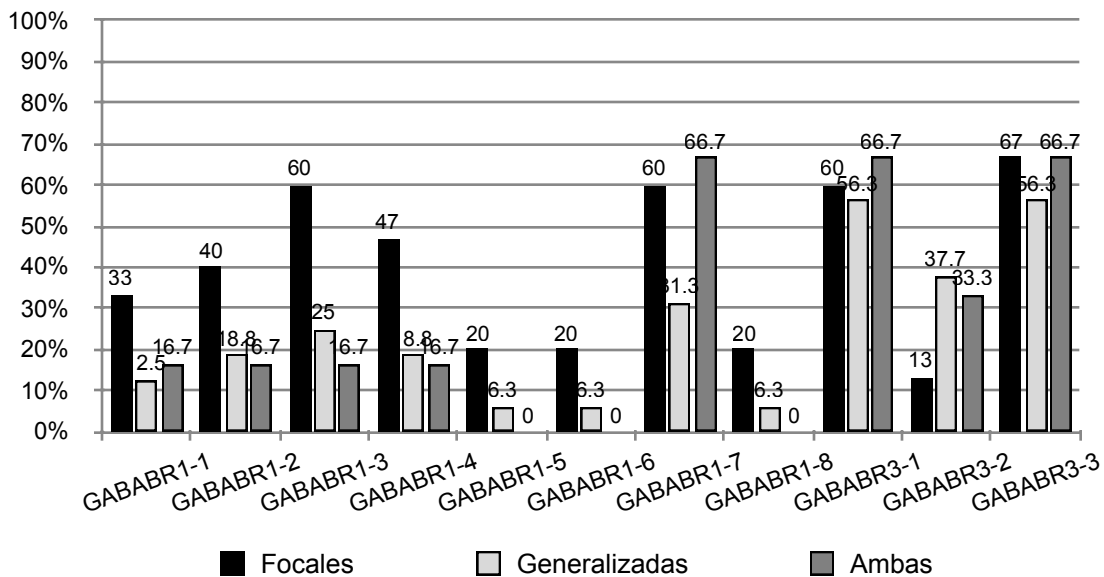


Se muestran las proporciones de la presencia de los polimorfismos 1 al 3 del receptor GABABR3 en la muestra de pacientes, para ambos grupos de epilepsia (n = 47), también se muestra sólo FS (n = 10), o sólo FR (n = 37). ECTR = epilepsia controlada (farmacosensible), EFR = epilepsia farmacorresistente.

En los pacientes farmacorresistentes las crisis epilépticas focales se muestra en todas las variantes de los polimorfismos de GABABR1 (1 a la 6 y 8) excepto la variación GABABR1-7 que se muestra con una proporción ligeramente mayor de ambas crisis respecto a las focales (66.7% vs 60.0% respectivamente); la proporción de variantes de GABABR1 es baja en el subgrupo de ambas crisis, sin presencia de GABABR1-5 y GABABR1-6. De las variantes de GABABR3, también se encontró mayor frecuencia de crisis epilépticas focales excepto en la variante GABABR3-2 que tiene claramente menor proporción en crisis focales (13.3%) y

más del doble en crisis generalizadas o ambas (37.7% y 33.3%, respectivamente, 11).

**Figura 11. Proporción de tipo de crisis por polimorfismos de los genes GABABR1 Y GABABR3**

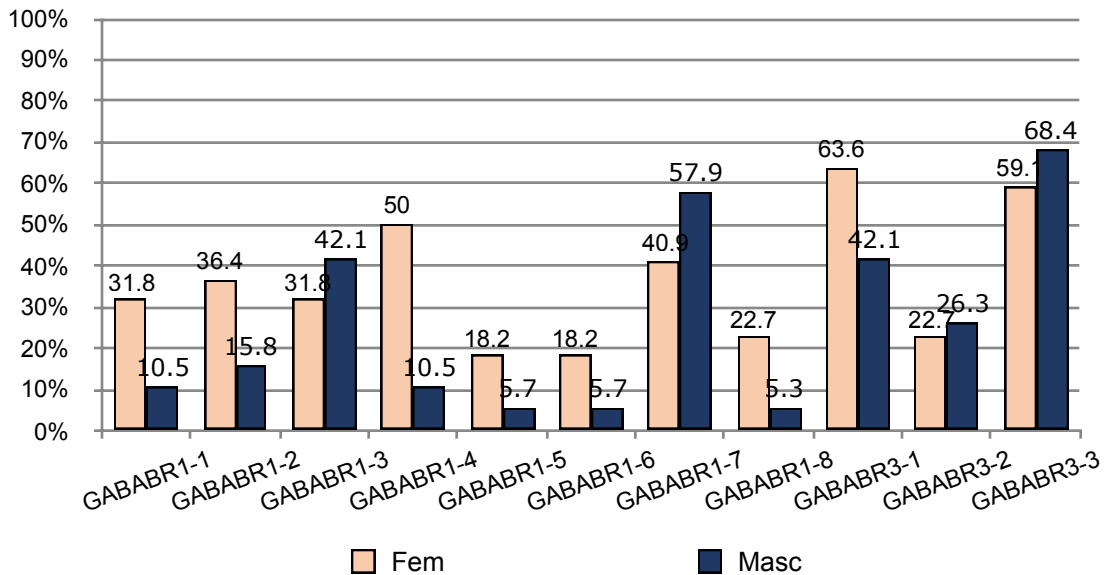


Se muestran las proporciones de la presencia de los polimorfismos de los genes GABABR1 y GABABR3 en la muestra de pacientes, corresponde a la proporción de la variante de la mutación por tipo de crisis epiléptica, las focales (n = 15), las generalizadas (n = 16), y ambas (n = 6) según ILAE 2016.

La edad de los pacientes tiende a ser numéricamente mayor con la presencia de cada polimorfismo individual de las principales variantes de GABABR1 (1 a la 8), pero en ningún caso hay diferencia significativa. En cambio, la presencia de las variantes GABABR3-2 y GABABR3-3 muestran una edad numéricamente menor que los pacientes sin dichos polimorfismos, GABABR3-1 muestra un patrón inverso, ninguno de los subgrupos tiene diferencias significativas.

El género de los principales polimorfismos de GABABR1 muestra mayor proporción de sexo femenino con la presencia de la anomalía genética (variantes 1, 2, 4, 5, 6 y 8), pero sólo la variante GABABR1-4 muestra una predominancia en mujeres estadísticamente significativa (50% vs 11% varones,  $p = 0.007$ ), el resto son estadísticamente similares; las variantes con mayor proporción de sexo masculino son GABABR1-3 y GABABR1-7, sin diferencia significativa. El gen GABABR3 mostró mayor proporción de género masculino en GABBR3-1, y una tendencia al sexo femenino en GABABR3-2 y GABABR3-3, las tres diferencias son estadísticamente similares (Figura 9).

**Figura 9. Proporción de género por polimorfismos GABABR**



Se muestran las proporciones de la presencia de los polimorfismos de los genes GABABR1 y GABABR3 en la muestra de pacientes, corresponde a la proporción de la variante de la mutación en el género femenino ( $n = 22$ ), y la proporción en el género masculino ( $n = 19$ ). La única variante con diferencia significativa es GABBR1-4 con mayor proporción en mujeres ( $p = 0.007$ ).

## **DISCUSIÓN**

La epilepsia sigue siendo el trastorno neurológico crónico más frecuente, los pacientes con epilepsia que responden al tratamiento son solo el 70%; después de dos a cinco años de tratamiento exitoso y libre de crisis, los fármacos pueden ser retirados en alrededor del 70% de los niños, sin efectos secundarios posteriores, pero del 17 al 40% resultaran refractarios al tratamiento[2,19], de acuerdo a Kwan y Brodie la farmacorresistencia se puede asociar con una organización anormal de los circuitos neuronales, alteración en los receptores de diversos neurotransmisores, patologías en los canales iónicos, autoinmunidad reactiva y penetración alterada de los fármacos antiepilépticos en el foco epiléptico por posibles afecciones a nivel de la barrera hematoencefálica, el GABA contrarresta la excitación neuronal y cuando se perturba este equilibrio, pueden producirse convulsiones. El gen GABABR1 representa un gen de alto cuyas alteraciones pueden asociarse a presencia de epilepsia.

El presente trabajo pretende dar a conocer, mediante una medición transversal, la descripción del comportamiento clínico de los pacientes en edad pediátrica y la presencia de polimorfismos en los genes GABABR1 y GABABR3 atendidos en la consulta externa de Neurología Pediátrica del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI.

De la población obtenida el 48% se ha logrado controlar con un solo fármaco y el resto con dos o más, la calidad del grado de control de las crisis epilépticas no formó parte de nuestra evaluación, ya que dentro de este concepto no se toma como una variable cuantitativa al número de crisis epilépticas ya que un

encefalopatía epiléptica puede tener desde una crisis epiléptica a múltiples y considerarse como controlada, si no más bien este grado de control está en relación con la calidad de vida del paciente. No obstante, es importante mencionar que la muestra obtenida no nos permitió la organización de subgrupos de pacientes con base en la variable de control de crisis, empero sí nos permitió la descripción de otras variables generales y de las específicas, que discutiremos más adelante. Por otro lado igual de importante comentar que nuestra unidad es un hospital de referencia, lo que implica un probable sesgo de selección, ya que los pacientes que atendemos son aquellos que no han podido controlarse en su unidad de envío.

Con esta premisa podemos decir que los resultados, en cuanto a la distribución de respuesta al tratamiento no concuerda con lo que la literatura menciona, invirtiendo la proporción en nuestro estudio. La relación entre géneros no tiene significancia estadística siendo cercana al 1:1 tanto en el grupo de controlados como en el de no controlados (farmacorresistente y farmacosensible, respectivamente).

El tipo de crisis presentados en los sujetos de estudio fue mayor para el tipo de crisis generalizadas y el de crisis focales; y los hallazgos electroencefalográficos tuvieron actividad paroxística focal, una menor proporción de crisis generalizadas, e incluso un porcentaje sin actividad irritativa cortical, tales hallazgos están en relación con el tipo de muestreo, a la proporción en cuanto al control de los eventos, no se realizó el análisis por presencia de síndromes epilépticos lo que nos orientaría a la frecuencia de los tipos de crisis, ya que, como bien se entiende las



manifestaciones clínicas en este sentido son diferentes, este punto podría enriquecerse en estudios posteriores.

Si bien la ILAE ha propuesto que la epilepsia farmacorresistente se caracteriza por el uso de más de dos fármacos (1), también habla de que el control está en relación con la libertad de crisis de al menos tres veces el periodo de tiempo más largo que se ha estado sin crisis en el último año antes de la nueva intervención, con este antecedente podemos decir que el número de fármacos en los pacientes controlados fue variable siendo mayor el uso de monoterapia y biterapia lo que apoyaría la definición mencionada, sin embargo uno de ellos hasta con 4 fármacos logró su control; los pacientes con epilepsia farmacorresistente fueron manejados con 1-4 fármacos, cumpliendo con la definición propuesta el 60% de ellos, cabe mencionar que aquellos que usaron un solo fármaco al momento de la toma de muestra, ya habían tenido esquemas de fármacos antiepilépticos previos que no dieron ninguna beneficio y si efectos adversos a ellos, algunos de ellos se manejaron con cirugía de epilepsia, pudiéndose optar por dejar un fármaco.

Los hallazgos en los estudios de neuroimagen evidenció alteraciones estructurales en más de la mitad de la población, encontrándose atrofia cerebral, lesiones isquémicas, encefalomalacia, gliosis y alteraciones de la migración neuroblástica, si bien aun no se ha encontrado relación entre la presencia de polimorfismos en receptores GABA, será interesante buscar la relación entre la presencia de estas alteraciones estructurales y la expresión de los polimorfismos estudiados, cuidando las características de la muestra y con estudios prospectivos y analíticos.

Respecto a la relación entre los polimorfismos gabaérgicos y el tratamiento encontramos en nuestro corte transversal que más de la mitad de estos pacientes estudiados en los polimorfismos de GABABR1 y GABABR3 necesitan tratamiento farmacológico combinado para su control, en una muestra con más de tres cuartas partes de individuos con epilepsia farmacorresistente (EFR), lo que puede orientarnos a que la presencia de polimorfismos estudiados podría estar en relación a farmacorresistencia.

Las variantes de GABABR1 la más frecuente fue la 7, mostrando una proporción similar entre ECTR y EFR, en nuestra población los polimorfismos GABBR1-7 y 29569955/rs3025643 de GABABR1 son los más frecuentes y se asocian a cualquiera de los dos grupos de pacientes con epilepsia, es decir, si se corriera un perfil genético en determinados pacientes estas variantes genéticas no distinguen entre uno u otro grupo epiléptico, lo mismo para las siguientes mutaciones desde el lugar tercero al sexto de los resultados de GABABR1. Para encontrar relación con EFR deberíamos poner atención a las variantes que mostraron mayor proporción o exclusividad por EFR, a pesar de que no sean tan frecuentes en el total de pacientes epilépticos, como es el caso del décimo lugar en frecuencia (29570665/rs3025640), y algunas de las variantes GABABR1 con menos del 10% (29590000 ó 29600104); al reunir la más comunes con las más específicas, se puede formar un perfil genético capaz de detectar con mucha anticipación la probabilidad de que los pacientes presente farmacorresistencia de su epilepsia.

Las variantes de GABABR3 más frecuentes (10% o más) útiles para el perfil genético comentado arriba, corresponden a los cuatro primeros lugares en

frecuencia (26789162/rs2017247, 27018196/sin rs, GABRB3-3 y GABRB3-1). Las variantes de GABABR3 con mayor proporción o exclusividad por EFR corresponde a los polimorfismos en sexto y séptimo lugar en frecuencia (27018187/sin rs y 26825693/rs28477625). Los once polimorfismos aquí mencionadas para GABABR1 y GABABR3 pueden ofrecer una evaluación genética de gran valor relacionada con EFR, cuya sensibilidad y especificidad no están evaluadas por el diseño de nuestro trabajo.

Las crisis focales conformaron el tipo de crisis epiléptica predominante en los pacientes estudiados, los polimorfismos de GABABR1 en general son más frecuentes en este tipo de crisis, especialmente GABBR1-5, GABBR1-6 y GABBR1-8 que triplican su presencia en pacientes con crisis focales respecto aquellos con crisis generalizadas. Los polimorfismos de GABABR3 no aparentan preferencia por algún tipo de crisis, excepto GABBR3-2 cuya presencia es mucho menor en crisis focales respecto a casi el triple en crisis generalizadas o ambas, denominación de ILAE 2016 [19,20].

En los pacientes pediátricos con epilepsia, en cambio, no se encontró predominancia absoluta de género, el 54% del total corresponde a mujeres, en casi todas las variantes genéticas más frecuentes de GABABR1 y GABABR3 la proporción de género femenino es mayor, sólo la variante GABBR1-4 muestra predominio significativo de mujeres, por otro lado, los polimorfismos con la balanza inclinada hacia el género masculino fueron GABBR1-3, GABBR1-7 y GABBR3-1.

La esperanza es en el futuro, además de la prevención es contar con manejo más específico, lo que implica un estudio y evaluación más cuidadosa de los pacientes con epilepsia. El desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas más eficaces y menos tóxicas, donde figura la terapia génica, entre otras [7]. El presente estudio permite reunir elementos útiles sobre la genómica gabaérgica relacionada con las características clínicas de los pacientes pediátricos con epilepsia. Los polimorfismos en las subunidades de los receptores GABA-B muestran algunas diferencias entre epilepsia controlada o farmacorresistente, y diferencias relacionadas con el tipo de crisis epiléptica o el género de los pacientes.

Aunque nuestro trabajo es un estudio descriptivo que cuenta con la debilidad de no tener una muestra suficiente, así como la estructuración de subgrupos y las características de la población en nuestra unidad, abre la pauta para continuar con la búsqueda de la importancia de la presencia de alteraciones genéticas y su relación con la clínica en estos pacientes, lo anterior con la finalidad de buscar etiología de epilepsia y en consecuencia tratamientos específicos dirigidos que derivarán, presuntamente, en un mejor control de este trastorno.

Corresponde a los expertos evaluar el peso en la clínica de nuestros hallazgos, que abren paso a futuras evaluaciones farmacogenómicas para dar certeza en la selección de agonistas o antagonistas gabaérgicos, mejor respuesta terapéutica individual y menor probabilidad de efectos secundarios, con la meta de disminuir la tasa de secuelas de la epilepsia.

## **CONCLUSIONES**

- Existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos de los receptores GABABR1 y GABABR3 y el diagnóstico de epilepsia en edad pediátrica.
- La presencia de polimorfismos de los receptores GABABR1 y GABABR3, no presentaron diferencias estadísticamente significativa en relación con el género.
- Los crisis epilépticas focales son las más frecuentemente en todas las variantes genéticas de los polimorfismos de GABABR1 y GABABR3, excepto en GABABR3-2 .
- Los polimorfismo GABABR1-7 fue la más frecuente de las ocho variantes conocidas del receptor GABAB1 en el 50% de los pacientes epilépticos (64% FS, 45% FR).
- Los polimorfismos de los receptores GABABR1 y GABABR3 pueden ser utilizados en nuestra población como un biomarcador genético a la presencia de epilepsia en edad pediátrica, siempre y cuando la muestra se amplíe y comparta los resultados de nuestro estudio.
- Los polimorfismos GABBR3-3 fue la más frecuente de las tres variantes conocidas del gen en el 70% de los pacientes epilépticos (71% FS, 70% FR), la mutación GABBR3-1 también es muy frecuente en el 56% de los pacientes (79% FS, 48% FR).

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the international League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005;46(4): 470-2.
2. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82.
3. OMS. Nota descriptiva N. 999. Epilepsia. Centro de Prensa [Internet]. 2016. Febrero.
4. Hauser WA, Kurland LT. The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia*. 1975;16(1):1-66.
5. Rodríguez Leyva I. Epilepsia de difícil control. p. 27-34.
6. Alonso Vanegas, Mario A., Bramasco Avilez, Antonio, Moreno Jimenez, Sergio, Bioquímica de la epilepsia y modelos experimentales de epilepsia. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas [en línea]* 2004, 9 (septiembre-diciembre)
7. Treiman, D.M., 2001. GABAergic Mechanisms in Epilepsy. Blackwekk Science, Inc. *Epilepsia*, 42(2), pp.8–12.
8. Sander, T. et al., 1999. Association Analysis of Exonic Variants of the Gene Encoding the GABA B Receptor and Idiopathic Generalized Epilepsy. , 310(February 1998), pp.305–310.
9. Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J, Gassmann M. Molecular Structure and Physiological Functions of GABAB Receptors. *Physiol. Rev* 2004; 84: 835-867.
10. Cortes-Romero C, Galindo F, Galicia- Isasmendi S, Flores A. GABA: ¿dualidad funcional? Transición durante el neurodesarrollo. *Rev Neurol* 2011;52:665-75.
11. Levy, E.M., Kochen, S. & Consalvo, D., 2008. GABABR1 ( G1465A ) gene variation and temporal lobe epilepsy controversy : New evidence. *Elsevier. Seizure* 2008;17, 567-571.
12. Christian, H. et al., 1998. Original article Mapping , genomic structure , and polymorphisms of the human GABA B R1 receptor gene : evaluation of its involvement in idiopathic generalized epilepsy. , pp.47–54.
13. Blichowski, M. et al., 2015. The GIRK2 subunit is involved in IS-like seizures induced by GABA B receptor agonists.*Epilepsia*, 56(7):1081–1087, 2015 doi: 10.1111/epi.13034

14. Evans MS, Viola-McCabe KE, Caspary DM, Faingold CL. Loss of synaptic inhibition during repetitive stimulation in genetically epilepsy-prone rats (GEPR). *Epilepsy Res.* 1994;18(2):97-105.
15. Kurbatova, P. et al., 2016. Dynamic changes of depolarizing GABA in a computational model of epileptogenic brain : Insight for Dravet syndrome. Elsevier B.V. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.05.037>
16. Kang, J. & Macdonald, R.L., 2016. Molecular Pathogenic Basis for GABRG2 Mutations Associated With a Spectrum of Epilepsy Syndromes, From Generalized Absence Epilepsy to Dravet Syndrome. Clinical Implications of Basic Neuroscience Research. *JAMA Neurol.* doi:10.1001/jamaneurol.2016.0449
17. Fabr, A. & Alf, A.A., Deterioro cognitivo en la epilepsia, Artemisa. 2006; 7(3).
18. Rai D, Kerr MR, McManus S, Jordanova V, Lewis G, Brugha TS. Epilepsy and psychiatric comorbidity: a nationally representative population based study. *Epilepsia* 2012;53(6):1095–1103.
19. Epilepsia en Latinoamérica: experiencias. ILAE, OPS, OMS, editores. Santiago de Chile: Organización Panamericana de la Salud; 2016.

## **ANEXOS**



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI PEDIATRÍA

**PROTOCOLO DE INVESTIGACION**

"EPILEPSIA DE INICIO EN EDAD PEDIÁTRICA RELACIONADA CON  
MUTACIÓN DE LOS GENES GABABR1 y GABABR3"

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_

NUMERO DE AFILIACIÓN: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_ GENERO: \_\_\_\_\_

TIPO DE EPILEPSIA \_\_\_\_\_

TIPO DE MUTACION EN RECEPTOR GABA B \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO ACTUAL \_\_\_\_\_

PATRON DE CRISIS CONVULSIVAS \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES \_\_\_\_\_

---



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLÍTICAS DE SALUD**

**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO  
(NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)**

**Nombre del estudio:** Estudio de las alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente.

**Lugar y Fecha:**

**Número de registro.**

**Justificación y objetivo del estudio.** Se te está pidiendo que participes en un estudio de investigación con la finalidad de conocer porque te dio tu padecimiento conocido como **epilepsia** y porque los medicamentos que te están dando ya no controlan tus crisis, se le denomina **epilepsia farmacorresistente**. Creemos que este estudio nos ayudara a conocer eso.

**Procedimientos**

**Si decido participar ¿Qué me va a suceder?** Si aceptas participar en este estudio, personal especializado te tomará 5 ml de sangre (como una cucharada sopera) una vez al inicio del estudio, si estas muy nervioso y no podemos obtener sangre, se te hará un raspadito con un cepillito y 5 ml de saliva cada 6 meses durante 2 años para ver si la cantidad pastillas que te dan para controlar las convulsiones son eficientes.

**¿Qué molestias tendré, dolerá?** La toma de sangre puede doler pero solo un segundo cuando entra la aguja en la superficie de tu piel, la toma en el carrillo bucal no produce molestia.

He preguntado al niño/a y entiende las molestias \_\_\_\_\_ (inicial).

**La participación es voluntaria: ¿Tengo que hacer esto?** No tienes porque participar en esta investigación si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no en la Investigación, está bien y no cambiara nada. Este es todavía tu hospital, todo sigue igual que antes. Incluso si dices que "si" ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien todavía.

He preguntado al niño/a y entiende que la participación es voluntaria \_\_\_\_\_(inicial).

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** La información de los resultados se le dará a tus padres y a tu médico tratante, si hay algo en los resultados que ayude a mejorar tu tratamiento será informado a tu médico tratante.

He preguntado al niño/a y entiende los beneficios \_\_\_\_\_(inicial).

**Confidencialidad: ¿Van a saber todos acerca de esto?** No diremos a otras personas que estas en esta Investigación y no compartiremos información sobre ti a nadie que no trabaje en el estudio de investigación. Cuando la investigación finalice, se te dirá a ti y a tus padres los resultados. La información sobre ti por la investigación será retirada y nadie si no los investigadores podrán verla. Cualquier información sobre ti tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es tu número y se guardara la información con llave. No será compartida ni dada a nadie excepto a tus padres si lo solicitan.

He preguntado al niño/a y entiende la confidencialidad \_\_\_\_\_(inicial).

**Beneficios. ¿Obtengo algo por participar en la investigación?** No hay beneficios económicos pero esta investigación ayudara a otros niños que tienen esta misma enfermedad.

En caso de colección de material biológico (si aplica):

- No autoriza que se tome la muestra.
- Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si autorizo que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):

Personal de referencia. En caso de que tenga dudas sobre el estudio favor de contactar a Dra.Sandra Orozco Suarez y Dra. Iris Feria Romero, responsables del proyecto en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, en Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, Tel. 55780240, de 8.00 a 17 Hrs. Dr. Darío Rayo Mares, Servicio de Neurología 56276900 ext 21504, Hospital de Pediatría, CMN, Siglo XXI, de 8.00 a las 14.30 hrs.

Sé que puedo elegir participar en la investigación o no hacerlo. Sé que puedo retirarme cuandoquiera. He leído esta información (o se me ha leído la información) y la entiendo.

Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde si las tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo.

Acepto participar en la investigación \_\_\_\_\_

O Yo **no** deseo participar en la investigación y no he firmado el consentimiento que sigue.

\_\_\_\_\_(iniciales del niño/menor). Solo si el niño/a asiente:

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:

Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

---

Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal

---

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

---

Nombre, dirección, relación y firma

---

Nombre, dirección, relación y firma

## METODOLOGÍA PARA LA SECUENCIACIÓN MASIVA

La secuenciación masiva es un avance importante en el ámbito clínico ya que permite una aproximación global, que facilita la labor del investigador en el estudio de aquellas patologías en las que se han implicado un alto número de genes. Así, con una sola prueba, se estudian de forma simultánea exones, intrones y regiones reguladoras, de todos los genes, sin necesidad de dirigir el estudio a mutaciones específicas. La secuenciación masiva es una herramienta muy poderosa para descubrir las mutaciones que originan un síndrome epiléptico, la asociación con la farmacorresistencia y el metabolismo de los fármacos.

Del DNA genómico extraído y purificado de la fracción leucocitaria del paciente, se obtuvo fragmentos entre 200 y 300 pb, posteriormente los fragmentos fueron ligados por los extremos a adaptadores específicos para las plataformas de Illumina y se amplificaron por PCR utilizando el kit de preparación de bibliotecas HaloPlex Target Enrichment para Illumina de Agilent Technologies. Las bibliotecas amplificadas por PCR fueron enriquecidas únicamente para las regiones de interés (Gen A, B y C) por captura con sondas complementarias a las regiones seleccionadas.

Las muestras fueron mezcladas equimolarmente para una concentración final de 20 pM que fue cargado a un cartucho de secuenciación del kit MiSeq Reagent Kit v2 de Illumina para su secuenciación en el instrumento MiSeq de Illumina. La configuración de la secuenciación fue de 2x150 pareada. Las secuencias obtenidas en formato .fastq fueron analizadas con el software SureCall de Agilent Technologies para la detección de variantes utilizando el genoma humano Hg19 como referencia. Esta tecnología nos permitirá en un solo microarreglo secuenciar 5000 pares de bases, por paciente lo que permitió identificar en cada paciente polimorfismos de los 10 genes candidatos que se han reportado con mayor asociación con la farmacorresistencia. Los polimorfismos relevantes, fueron corroborados por secuenciación tipo Sanger.