

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

---



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI  
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRIA SILVESTRE FRENK FREUND



**“POLIMORFISMOS EN GENES CYP2D6, CYP2C9,  
CYP2C19 Y CYP3A4 DE PACIENTES EN EDAD PEDIÁTRICA CON  
EPILEPSIA”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN  
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA.

Presenta:

Dra. Jazmín del Carmen Comellas Pérez  
Residente de Neurología Pediátrica en el HP CMN SXXI  
Mail: jazmin\_comellas@hotmail.com

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

Asesor metodológico: Dr. Mario Enrique Rendón Macías  
Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica.  
Hospital de Pediatría CMN SXXI

Colaboradores: 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

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



Oficio No. 09 B5 61 61 2800/2018/ 0301

Ciudad de México, a 13 de febrero de 2018.

**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 se da por enterado la incorporación como alumnos al proyecto, Eric David Matus Pineda y Jazmín del Carmen Comellas Pineda.

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 GUTIERREZ DE LA BARRERA**  
Presidente  
Comité de Ética en Investigación  
Coordinación de Investigación en Salud  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

RBS  
madm  
F-ONIC-2015-83

## INDICE

RESUMEN .....	4
MARCO TEORICO .....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	12
OBJETIVOS.....	14
OBJETIVOS GENERALES .....	14
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	14
HIPOTESIS.....	15
MATERIAL Y MÉTODOS .....	15
DISEÑO DE ESTUDIO .....	15
LUGAR DE ESTUDIO .....	15
UNIVERSO .....	15
CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	16
- CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	16
- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	16
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	17
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO .....	20
ASPECTOS ÉTICOS .....	21
RECURSOS .....	21
RESULTADOS .....	22
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES .....	34
BIBLIOGRAFÍA .....	35
ANEXO 1 .....	37
ANEXO 2.....	38

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común. De acuerdo con la OMS, existen 50 millones de personas con la enfermedad en todo el mundo. La mayoría de los niños con epilepsia van a lograr un buen control de crisis con fármacos antiepilépticos (FAE), sin embargo cerca de un 25 % de los pacientes con epilepsia son resistentes a estos. La gran variabilidad en la respuesta terapéutica de los FAE puede estar influida por polimorfismos genéticos que alteran su metabolismo y excreción. Las enzimas CYP1, CYP2 y CYP3 son responsables de la oxidación de aproximadamente el 90% de los fármacos utilizados actualmente.

**OBJETIVOS:** Analizar las características clínicas de los pacientes en edad pediátrica con epilepsia y la presencia de polimorfismos en los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio transversal analítico elaborado a partir de la determinación del estudio genético de secuenciación masiva de los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 y CYP2D6 en muestras de pacientes de ambos sexos con diagnóstico de epilepsia con edad entre 1 y 16 años que acuden a la consulta externa de Neurología Pediátrica del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**RESULTADOS y CONCLUSIONES:** Se identificaron 8 polimorfismos en el gen CYP2C9, el rs9232120 fue el que se presentó con mayor frecuencia, sin diferencia estadística entre grupos. El 100% de los pacientes con epilepsia tuvo polimorfismos en el gen CYP2C19 siendo los más frecuentes el rs17885098 y 17886522. Los polimorfismos más frecuentes en el en CYP2D6 fueron el rs113584, rs28371713 y el rs71328650. En el gen CYP3A4 se identificaron 3 polimorfismos, de éstos el rs2687116 se presentó en el 100 % de los pacientes con epilepsia y sano, seguido del rs2242480 el cual se presentó en el 80% de los casos. No hubo resultados estadísticamente significativos en relación a la presencia de epilepsia, respuesta a tratamiento y/o etiología.

## **MARCO TEORICO**

### **EPILEPSIA**

La epilepsia es el trastorno neurológico crónico más común. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, existen 50 millones de personas con la enfermedad en todo el mundo de las cuales 5 millones corresponden a América, con 2.4 millones de casos nuevos diagnosticados a nivel global cada año. La incidencia de la epilepsia en los países desarrollados oscila entre 43 y 61 por 100,000 habitantes y esta cifra puede llegar a ser el doble en países en desarrollo. (1)

En México, la prevalencia estimada es entre 349 a 680 por 100 000 habitantes en la población general y entre 180 a 400 por 100 000 habitantes en la población infantil. La epilepsia es considerada dentro de las principales enfermedades vinculadas a la mortalidad por enfermedades no infecciosas de la población infantil en México.(2,3)

La epilepsia tiene una distribución bimodal, siendo mayor en las dos primeras décadas de la vida, luego disminuye y vuelve a aumentar a partir de la sexta década de la vida. La mayor frecuencia de la epilepsia es en la edad pediátrica, y el sexo masculino es el más afectado.(4,5) Aproximadamente uno de cada 150 niños es diagnosticado de epilepsia durante los primeros 10 años de vida. En México cada año se reportan de 400 a 800 casos nuevos por 100 000 niños. (6)

La epilepsia se define según la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) como la presencia de por lo menos dos convulsiones no provocadas (o reflejas) que ocurren con más de 24 horas de separación, o una crisis convulsiva no provocada (o refleja) y la probabilidad de presentar crisis similares al riesgo general de recurrencia (al menos 60%) después de dos convulsiones no provocadas durante los siguientes 10 años y cuando se cuenta con el diagnóstico de un síndrome epiléptico. (7,8)

## **EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE**

Se sabe que la mayoría de los niños con epilepsia van a lograr un buen control de crisis con fármacos antiepilépticos (FAE), pero algunos son refractarios a pesar de numerosos medicamentos. Las estimaciones de la incidencia de epilepsia varían entre el 6 y 23%. Ningún factor de riesgo aislado ha demostrado por si solo ser necesario para ocasionar resistencia a fármacos. (9,10)

Actualmente contamos con más de 25 medicamentos para el control de las crisis epilépticas, sin embargo, a pesar de las múltiples opciones terapéuticas, cerca de un 25 % de los pacientes con epilepsia son resistentes a los fármacos antiepilépticos.(11,12)

La epilepsia farmacorresistente, es conocida también como intratable o de difícil control y existen diversas propuestas para la definición de esta entidad, las cuales incluyen: cantidad y dosis de fármacos, número de crisis o tiempo libre de crisis.

En el año 2010, la ILAE estandarizó la definición de epilepsia farmacorresistente. Esta nueva propuesta permite clasificar la respuesta terapéutica en tres grupos: libertad de crisis epilépticas (epilepsia controlada), fallo terapéutico (epilepsia farmacorresistente) y respuesta indeterminada. Esta definición se fundamenta en el dominio de fármacos utilizados y el dominio de libertad de crisis. De esta forma, la definición actual considera que un paciente presenta epilepsia farmacorresistente cuando no logra la libertad de crisis epilépticas después de haber utilizado al menos dos tratamientos apropiados y adecuados (en monoterapia o politerapia). (10)

Está claramente demostrado que la epilepsia farmacorresistente impacta negativamente en la calidad de vida de los pacientes, disminuyendo significativamente la capacidad laboral y académica, por otro lado tienen de dos a diez veces más riesgo de muerte prematura en comparación con la población general. (10,13,14)

La gran variabilidad en la respuesta terapéutica de los FAE puede estar influida por múltiples variables. Existen polimorfismos genéticos que modifican no sólo el transporte del medicamento a través de la barrera hematoencefálica y su efecto sobre los diferentes receptores en el sistema nervioso central, sino que también pueden alterar su metabolismo y excreción.

## CITOCROMO P450 Y EPILEPSIA

La respuesta farmacológica es el resultado de la interacción del fármaco con el receptor o blanco farmacológico, con la subsecuente transducción de señales dentro de la célula. Sin embargo la absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco también desempeñan un papel fundamental en la eficacia farmacológica, ya que estos procesos regulan la concentración del fármaco en el sitio de acción. (15)

Los FAEs actúan sobre el sistema nervioso central y, en general, son altamente liposolubles por lo que no pueden ser eliminados por los riñones en forma inalterada lo que hace necesario la conversión por el hígado en metabolitos solubles en agua para facilitar su excreción renal, este proceso se denomina biotransformación. Diversos fármacos antiepilépticos son metabolizados en el sistema microsomal hepático o citocromo P450. (16)

La superfamilia citocromo P450 es un conjunto de genes que codifican para las denominadas enzimas CYP450. En humanos se han identificado 57 genes funcionales que codifican para enzimas CYP450, que se han clasificado en 18 familias y 44 subfamilias. (17)

La actividad de estas enzimas está regulada por numerosos factores, como la edad, el género, raza, el estado nutricional, comorbilidades hepáticas o renales y también por polimorfismos en genes que codifican para estas enzimas. Se ha demostrado



que la variabilidad genética en el sistema de citocromos altera el perfil farmacocinético y la toxicidad inducida por estos medicamentos y promueve en algunos casos un patrón de farmacoresistencia. (18)

Las enzimas CYP1, CYP2 y CYP3 son responsables de la oxidación de aproximadamente el 90% de los fármacos utilizados actualmente.

El CYP2C9 metaboliza la fenitoina y el ácido valproico, mientras que CYP2C19 metaboliza, en mayor o menor medida, la fenitoína, fenobarbital, diazepam y clobazam. CYP3A4 metaboliza la carbamazepina.

## POLIMORFISMOS CYP Y EPILEPSIA

El polimorfismo se define como la existencia simultánea en una población de genomas con distintos alelos para un locus determinado. Esto condiciona la variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o resistencia individual a distintas enfermedades o fármacos, principalmente mediante los polimorfismos de nucleótido sencillo (SNP). Se considera un polimorfismo como tal cuando la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1%. (19)

Los polimorfismos de CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 han sido estudiados ampliamente en diversas poblaciones, mostrando significativa heterogeneidad en la frecuencia de diferentes alelos/genotipos lo cual da como resultado diversos fenotipos. Esta clasificación fenotípica de los individuos se divide en cuatro grupos:

- Metabolizadores lentos (ML): carecen de enzima funcional, portadores de genotipos en estado homocigoto o heterocigoto compuesto para alelos defectuosos.
- Metabolizadores intermedios (MI): tienen actividad enzimática más baja que la promedio, con genotipo heterocigoto para variantes defectuosas.
- Metabolizadores eficientes o extensivos (ME): portadores de dos variantes funcionales.

- Metabolizadores ultrarrápidos (MU): tienen actividad enzimática elevada respecto al promedio y son portadores de más de dos variantes funcionales. (20,21)

Los genes que codifican para enzimas de la subfamilia CYP2C están localizados en el cromosoma 10 en la región q24. Incluye cuatro grupos: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19.

Los genes que codifican para CYP2C9 y CYP2C19 son altamente polimórficos. Se han identificado más de 40 polimorfismos genéticos alélicos del CYP2C9 dando como resultado un decremento en esta enzima. El alelo más común el cual es considerado tipo silvestre se denota CYP2C9\*1 o CYP2C19\*1 y las variantes se denominan \*2, \*3, \*4, etc., cuando se produce un cambio de nucleótido o SNP (polimorfismo de nucleótido simple) (22)

Estas variantes tienen impacto en la función enzimática, que incluye ausencia, disminución o incremento de la actividad, con relevancia funcional en el metabolismo de FAE. (23)

Diversos estudios han evidenciado que estas variantes en el gen CYP2C9 y CYP2C19 se encuentran implicadas en el metabolismo de fenitoina, niveles séricos y reacciones adversas. La frecuencia reportada de estas variantes en México es del 7 al 8%. En la tabla I se muestran las variantes que tienen relevancia funcional en el metabolismo de FAE. (24)

### **CYP3A**

El gen CYP3A4 está localizado en el cromosoma 7 en la región 7q, está constituido por 13 exones y 12 intrones. Esta subfamilia está constituida por cuatro miembros: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43.

Se han identificado más de 22 variantes para CYP3A4, las variantes CYP3A4\*1B, CYP3A4\*2, CYP3A4\*4, CYP3A4\*5 y CYP3A4\*18 son las que se han relacionado con una alteración en la actividad de este citocromo y con diversas enfermedades. La carbamazepina es biotransformada en su metabolito activo por CYP3A4, por lo que variantes en estos genes contribuyen en la variabilidad en el metabolismo de éste fármaco y las concentraciones séricas. (23)

**Tabla 1. Variantes en los genes CYP2C9 y CYP2C19 con relevancia funcional en el metabolismo de FAE.**

	<i>Variante alélica</i>	<i>Cambio de nucleótido</i>	<i>Actividad enzimática</i>
<i>CYP2C9</i>	CYP2C9*1	Ninguno	Normal
	CYP2C9*2	C>T	Disminuida
	CYP2C9*3	A>C	Disminuida
	CYP2C9*5	C>G	Disminuida
	CYP2C9*8	G>A	Disminuida
	CYP2C9*11	C>T	Disminuida
	CYP2C19*2	G>A	Nula
<i>CYP2C19</i>	CYP2C19*3	G>A	Nula
	CYP2C19*5	C>T	Nula
	CYP2C19*9	G>A	Disminuida
	CYP2C19*10	C>T	Disminuida

## **CYP2D6**

Los genes que codifican para la enzima CYP2D6 se encuentran en el cromosoma 22q13.1. Interviene en la oxidación de gran variedad de fármacos, como antidepresivos, opioides, neurolépticos y bloqueadores beta adrenérgicos.

Los genes que codifican para esta enzima son altamente polimórficos, con más de 100 variedades alélicas conocidas. Se ha reportado que el 5-10% de caucásicos tiene un fenotipo de metabolizador lento para CYP2D6.

En la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Neurológicas, del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, un grupo multidisciplinario enfocado al estudio de la epilepsia farmacorresistente, ha iniciado la genotipificación

a gran escala de polimorfismos y el secuenciamiento paralelo en masa. Se han realizado estudios en los que se han encontrado polimorfismos como nuevas variaciones genéticas en: ABCB1, ABCB2, CYP2C19, CYP3A4 y SCN1A, en una población de pacientes con epilepsia farmacorresistente que fueron rigurosamente seleccionados.(25)

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Una tercera parte de los pacientes en edad pediátrica con epilepsia tratados con medicamentos antiepilépticos adecuados no tiene remisión de las crisis constituyendo el grupo de pacientes con epilepsia farmacorresistente.

La UMAE Hospital De Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” es un hospital de referencia que trata a pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia cuyos esquemas de tratamiento y respuesta al mismo es variable aún no tenemos evidencia de la raíz de esta variabilidad, en los últimos tiempos se han incrementado estudios de las causas de farmacorresistencia, dentro de ellos el metabolismo de los fármacos antiepilépticos juega un papel importante, principalmente de los genes CYP y su variabilidad genética.

## **JUSTIFICACIÓN**

La respuesta al tratamiento de pacientes pediátricos con epilepsia se han asociado a diversidades fenotípicas y genotípicas de cada paciente, los polimorfismo en los genes del metabolismo de fármacos antiepilépticos son responsables de diferentes perfiles metabólicos y de la variación interindividual en la respuesta a tratamiento. De tal manera que el 30% de los pacientes no responderán a un tratamiento adecuadamente y, en consecuencia, sin modificación del cuadro clínico.

En México no contamos con un estudio que describa las variaciones genéticas relacionadas con la sintomatología y la respuesta al tratamiento, por lo que consideramos necesario realizar el estudio de genes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 debido al impacto que tendría, ya que el tener información objetiva con los estudios genéticos nos apoyaría, en un futuro, a ajustar dosis y posología de los fármacos.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

- ¿Qué polimorfismos en el gen CYP2D6 se encuentran presentes en pacientes en edad pediátrica con epilepsia?
- ¿Qué polimorfismos en el gen CYP2C9 se encuentran presentes en pacientes en edad pediátrica con epilepsia?
- ¿Qué polimorfismos en el gen CYP2C19 se encuentran presentes en pacientes en edad pediátrica con epilepsia?
- ¿Qué polimorfismos en el gen CYP3A4 se encuentran presentes en pacientes en edad pediátrica con epilepsia?

## OBJETIVOS

### OBJETIVOS GENERALES

- Describir la presencia de polimorfismos en el gen CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 en pacientes en edad pediátrica con epilepsia.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir el tipo de epilepsia de pacientes pediátricos con respecto a la respuesta de tratamiento farmacológico.
- Establecer los polimorfismos en los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 en pacientes pediátricos con respecto a la respuesta de tratamiento farmacológico.
- Describir la etiología de epilepsia en pacientes en edad pediátrica y presencia de polimorfismos en los genes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 Y CYP3A4.
- Describir el número de fármacos en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia y presencia de polimorfismos en los genes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 Y CYP3A4.
- Hallazgos en neuroimagen en pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia y presencia de polimorfismos en los genes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 Y CYP3A4.
- Analizar la condición de la epilepsia con respecto a farmacorresistencia o control según los polimorfismos en CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4.
- Calcular la asociación a través de las razones de momios entre los distintos polimorfismos y la condiciones farmacorresistencia.

## **HIPOTESIS**

- La presencia de polimorfismos en los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 se asocia con mayor frecuencia a pacientes pediátricos con epilepsia de etiología desconocida.
- La presencia de polimorfismos en los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 se asocia con mayor frecuencia a pacientes pediátricos con epilepsia farmacorresistente.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **DISEÑO DE ESTUDIO**

- Transversal analítico observacional
  - Por el control de la maniobra es analítico.
  - Por la recolección de datos es prolectivo.
  - Por la medición del fenómeno transversal.

### **LUGAR DE ESTUDIO**

- El estudio se realizará en la Unidad de Medicina de Alta Especialidad Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, “Silvestre Frenk Freund” del Instituto Mexicano del Seguro Social, en la Ciudad de México.

### **UNIVERSO**

- Pacientes pediátricos con diagnóstico de epilepsia atendidos en el servicio de neurología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, a quienes se les realizó estudio molecular de secuenciación masiva.

### **TIPO DE MUESTREO**

- Se incluirán a todos los pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de epilepsia que cuenten con la el análisis por secuenciación masiva de



polimorfismos en genes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4, en el periodo de tiempo estipulado, por lo que la probabilidad que tiene la población de estudio de ser seleccionado no es conocida por lo que el muestreo se determina como no probabilístico, por conveniencia.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

- CRITERIOS DE INCLUSIÓN
  - Sexo: Masculino y femenino.
  - Pacientes de 6 meses a 16 años 11 meses.
  - Pacientes con diagnóstico establecido de epilepsia
  - Pacientes cuyos tutores hayan aceptado el análisis de su muestra previamente tomada en búsqueda de polimorfismos en CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 y CYP2D6.
  
- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
  - Expediente incompleto.
  - Muestra inadecuada.

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medición
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento a la fecha de presentación clínica de la enfermedad.	Periodo de tiempo desde el nacimiento hasta el momento de la toma de muestra	Cuantitativa continua.	Meses
Género	Fenotipo sexual al que corresponde el individuo.	Fenotipo sexual al que corresponde un individuo.	Cualitativa nominal Dicotómica.	Masculino Femenino
Tiempo de evolución de la epilepsia	Tiempo que transcurre desde la primera crisis hasta el día de la toma de la muestra.	Tiempo de evolución de la epilepsia	Cuantitativa Continua.	Años
Etiología de la epilepsia	Causa que originó la epilepsia.	Causa que originó la epilepsia	Cualitativa	1. Estructural 2. Metabólica 3. Genética 3. Desconocida
Número de fármacos	Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis epilépticas.	Cantidad de fármacos antiepilépticos usados para el tratamiento de las crisis epilépticas.	Cuantitativa discreta	1, 2, 3, 4...
Número de crisis	Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo.	Frecuencia con que se presentan las crisis epilépticas en un individuo.	Cuantitativa discreta	1, 2, 3, 4...
Tipo de crisis	Características clínicas de la manifestación ictal descritas según la nomenclatura internacional por su forma de inicio e involucro o ausencia de actividad motora.	Características clínicas de la manifestación ictal descritas según la nomenclatura internacional por su forma de inicio e involucro o ausencia de actividad motora.	Cualitativa nominal	Focal Generalizada
Epilepsia controlada	Libre de crisis epilépticas al menos tres veces el periodo de tiempo más largo que ha estado sin	Paciente con diagnóstico de epilepsia con adecuado control de las	Cualitativa dicotómica	Si/No

	crisis en el último año antes de la nueva intervención o durante 12 meses (cualquiera de los criterios que sea más prolongado)	crisis durante 6 meses.		
Epilepsia farmacorresistente	Falla a dos esquemas de FAE tolerados y elegido adecuadamente para alcanzar la libertad sostenida de crisis epilépticas.	Falla a dos esquemas de FAE tolerados y elegido adecuadamente para alcanzar la libertad sostenida de crisis epilépticas.	Cualitativa dicotómica	Si/NO
Polimorfismo del gen CYP2D6	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2D6	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2D6	Cualitativa nominal	Posición/ rs de SNP
Polimorfismo del gen CYP2C9	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2C9	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2C9	Cualitativa Nominal	Posición/ rs de SNP
Polimorfismo del gen CYP2C19	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2C19	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP2C19	Cualitativa Nominal	Posición/ rs de SNP
Polimorfismo del gen CYP3A4	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado en el gen CYP3A4	Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre individuos de una población >1%, localizado	Cualitativa Nominal	Posición/ rs de SNP

		en el gen CYP3A4		
--	--	---------------------	--	--

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

Los pacientes incluidos en el estudio participaron en tres estudios previos: “Estudios de alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente”, “Comparación de los niveles séricos de interleucinas (IL1 beta, IL 6 y TNF alfa) entre subgrupos de pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia farmacorresistente y controlada” y “Expresión de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología y respuesta terapéutica”. Éste último realizado en el año 2017.(26,27)

Las muestras séricas tomadas a los pacientes, se utilizaron para ser analizadas en búsqueda de polimorfismos de CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 Y CYP3A4 en secuenciación masiva. Se elaboró una hoja de recolección de datos en la que se concentraron los datos clínicos de los pacientes posteriormente se creó una base de datos.

La base de datos se elaboró en el programa Excel versión 2013 capturando la información clínica y terapéutica de los pacientes epilépticos con estudio molecular. Se incluyó edad, sexo, etiología de la epilepsia, tipo de crisis, la respuesta terapéutica, tratamiento, tiempo de evolución, hallazgos electrofisiológicos y los resultados de secuenciación masiva.

Finalmente se codificó y procesó en el programa SPSS versión 22.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó estadística descriptiva para las variables cualitativas presentadas con frecuencia simple y porcentajes. Para establecer asociaciones entre variables categóricas se calculó prueba exacta de Fisher, otorgando un valor significativo con  $p < 0.05$ . También se determinó el OR para la cuantificación del grado de riesgo (IC 95%).

## **ASPECTOS ÉTICOS**

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 para la Salud, en el Artículo 17 Título 2, donde se establece que fue una investigación de riesgo mínimo ya que únicamente empleo métodos de investigación documental. Toda la información fue colectada y resguardada de forma confidencial. El presente protocolo es un brazo del protocolo de investigación con título: “Estudio de alteraciones genéticas en genes relacionados con la epilepsia farmacorresistente”.

## **RECURSOS**

Humanos: Residente de neurología pediátrica quien realizó la recolección de datos, así como la captura de información en una base de datos y análisis estadístico.

Expediente electrónico: Se obtuvo la colaboración de la Unidad de Investigación Médica en enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades, CMN SXXI, para la obtención de los resultados de estudios moleculares.

Se contó con acceso a la plataforma del expediente electrónico bajo supervisión y autorización del Jefe de Neurología Pediátrica de la UMAE Pediatría, Dr. Dario Rayo Mares.

Se dispuso de un equipo de cómputo personal para la realización de la base de datos y procesamiento de textos, gráficas y tablas.

No se requirió financiamiento para la elaboración del presente estudio.

Para la secuenciación masiva se contó con el apoyo del donativo de CONACYT número 0248513

## RESULTADOS

Se incluyeron un total de 48 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, de los cuales el 75% (n=36) correspondieron al grupo de epilepsia farmacorresistente y 25% (n=12) al grupo de epilepsia controlada. Ante esta clasificación se decidió describir cada uno de los grupos según la etiología de la epilepsia, correspondiendo a etiología desconocida, estructural, metabólica o genética. En el grupo de epilepsia farmacorresistente, el 39% (n=14) correspondió a etiología estructural, seguido de la causa desconocida en un 36% (n=13), mientras que en el grupo de epilepsia controlada predominó la etiología desconocida en un 58% (n=7). La epilepsia focal se presentó con mayor frecuencia en ambos grupos. (Tabla 1)

Tabla I. Características de los pacientes pediátricos con epilepsia resistente y no a tratamiento. (N=48)

CARACTERÍSTICA	EPILEPSIA CONTROLADA (N=12)		EPILEPSIA FARMACORRESISTENTE (N=36)	
	N.	%	N.	%
<b>GÉNERO</b>				
<b>MASCULINO</b>	5	42%	20	55%
<b>FEMENINO</b>	7	58%	16	45%
<b>EDAD EN AÑOS</b>				
<b>&lt; 2 AÑOS</b>	0	0%	1	3%
<b>2 A 6 AÑOS</b>	1	8%	5	14%
<b>6 A 12 AÑOS</b>	8	67%	10	28%
<b>&gt; 12 AÑOS</b>	3	25%	20	55%
<b>TIPO DE CRISIS</b>				
<b>FOCAL</b>	6	50%	19	53%
<b>GENERALIZADA</b>	5	42%	10	28%
<b>FOCAL A BILATERAL</b>	1	8%	7	19%
<b>ETIOLOGÍA</b>				
<b>DESCONOCIDA</b>	7	58%	13	36%
<b>ESTRUCTURAL</b>	5	42%	14	39%
<b>GENÉTICA</b>	0	-	9	25%
<b>METABÓLICA</b>	0	-	0	-
<b>NÚM. DE FÁRMACOS</b>				
<b>1</b>	6	50%	7	20%
<b>2</b>	3	25%	8	22%
<b>&gt;3</b>	3	25%	21	58%

No se encontró diferencia significativa en cuanto al género en ambos grupos y respecto al número de fármacos administrados se confirmó el mayor requerimiento para los pacientes con farmacorresistencia, en ellos el 58% requirieron tres o más fármacos lo cual contrasta con solo un fármaco administrado en el 50% de los pacientes controlados.

El tiempo de evolución fue de 1 a 16 años con una mediana de 7 años. En la población total se observó predominio de la edad escolar en un 64% (n=23), sin embargo ya clasificándolos de acuerdo a su respuesta terapéutica, en el grupo farmacorresistente predominó la etapa adolescente.

Referente a lo encontrado en los estudios de electroencefalograma, el 58% los pacientes manifestaban evidencia de actividad paroxística epiléptica focal; otro 16% actividad tanto paroxística focal como generalizada, 14% generalizada y en un 12% se encontró el último estudio de electroencefalograma normal para la edad, bajo tratamiento antiepiléptico.

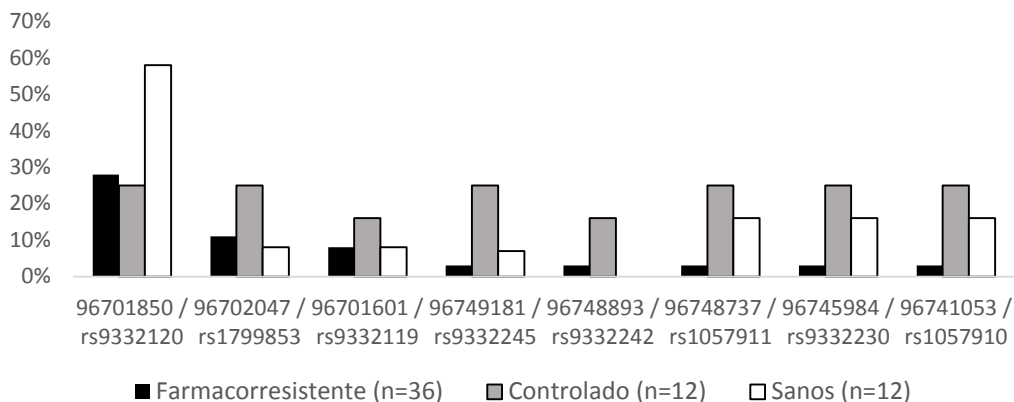
### **Polimorfismos y respuesta terapéutica**

En nuestro grupo de estudio encontramos 29 polimorfismos en los genes CYD2C9, CYD2C19, CYD2D6 y CYP3A4.

En el gen CYP2C9 se identificaron 8 polimorfismos, de éstos el rs9232120 fue el que se presentó con mayor frecuencia, tanto el grupo farmacorresistente como en los controlados y sanos. En la figura 1 se muestran los polimorfismos identificados en éste último gen y la frecuencia con que se presentaron en relación al grupo farmacorresistente, farmacosensible y pacientes sanos.



**Figura 1. Frecuencia de polimorfismos en CYP2C9 en pacientes con epilepsia**



Por otro lado, los polimorfismos que incrementaron el riesgo de presentar epilepsia fueron rs9232119 y rs1799853 (OR de 2.2 y 3.67) aunque ninguno de éstos alcanzo significancia estadística. (Tabla II)

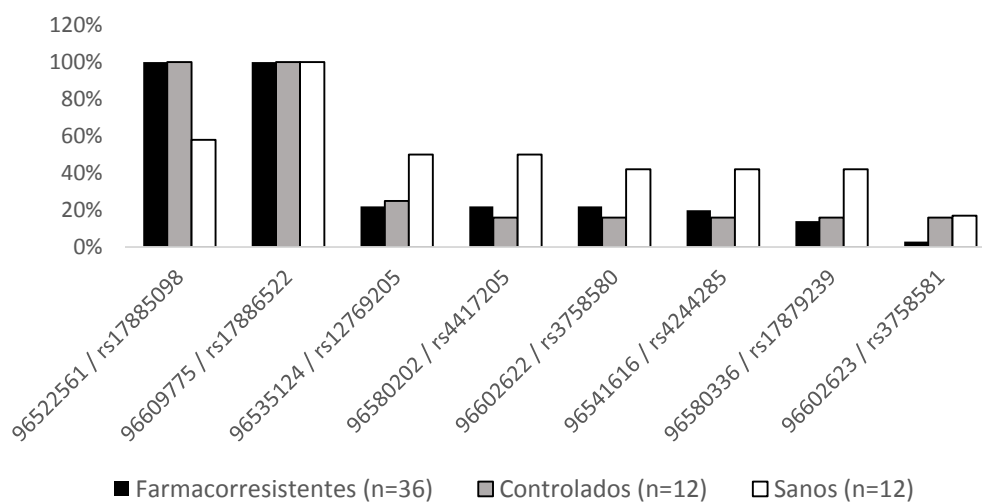
**Tabla II. Asociación de polimorfismos del gen CYP2C9 con epilepsia farmacorresistente y controlada.**

Polimorfismo	Epilepsia farmacorresistente N=36		Epilepsia controlada N=12		Sanos N=12
	N	OR [IC95%]	N	OR [IC95%]	
<b>rs1799853</b>	4	1.37 [0.13 a 13.6]	3	3.67 [0.32 a 41.6]	1
<b>rs9232119</b>	3	1.00 [0.09 a 10.6]	2	2.2 [0.17 a 28.1]	1
<b>rs9332120</b>	10	0.27 [0.07 a 1.07]	3	0.24 [0.04 a 1.35]	7
<b>rs1057910</b>	1	0.14 [0.01 a 1.74]	3	1.87 [0.24 a 14.08]	2
<b>rs9232230</b>	1	0.14 [0.01 a 1.74]	3	1.87 [0.24 a 14.08]	2
<b>rs1057911</b>	1	0.14 [0.01 a 1.74]	3	1.87 [0.24 a 14.08]	2
<b>rs9332245</b>	1	0.14 [0.01 a 1.74]	3	1.87 [0.24 a 14.08]	2
<b>rs9332242</b>	1	---	2	---	0

OR= razón de momios, IC95%= Intervalo de confianza al 95%, riesgos con base a controles.

Respecto al gen CYP2C19 los polimorfismos que se presentaron con mayor frecuencia fueron el rs17885098 y 17886522, encontrándose en el 100% de los pacientes con epilepsia farmacorresistente y farmacosensible. (Figura 2).

**Figura 2. Frecuencia de polimorfismos en CYP2C19 en pacientes con epilepsia.**



Los genes que incrementaron el riesgo de presentar epilepsia fueron rs17885098 con OR de 53 en el grupo farmacorresistente y 18 en el controlado, sin embargo tampoco fue significativo estadísticamente. (Tabla III)

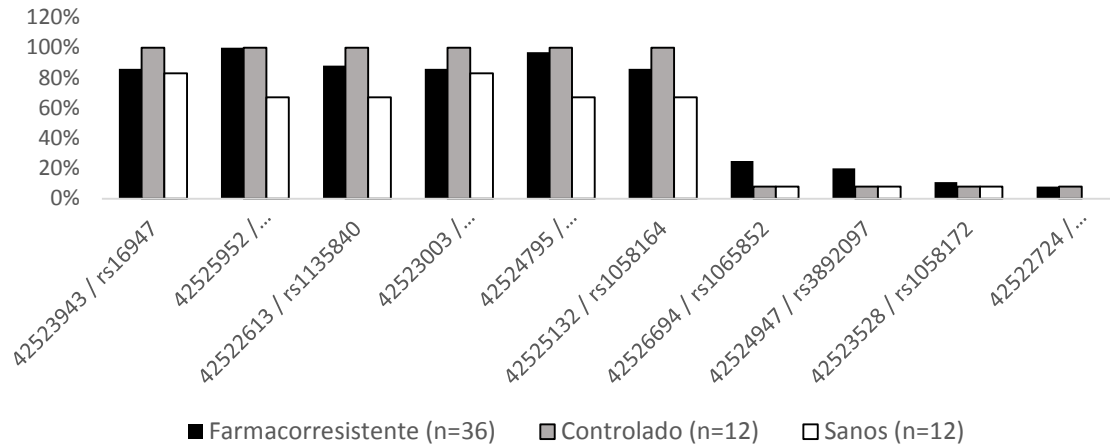
Tabla III. Asociación de polimorfismos del gen CYP2C19 con epilepsia farmacorresistente y controlada.

<i>Polimorfismo</i>	Epilepsia farmacorresistente N=36		Epilepsia controlada N=12		Sanos N=12
	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N
<i>rs17885098</i>	36	<b>53 [2.6 a 1075] *</b>	12	18 [0.88 a 380]	7
<i>rs12769205</i>	8	0.33 [0.083 a 1.33]	3	0.33 [0.059 a 1.87]	6
<i>rs4244285</i>	7	0.33 [0.082 a 1.38]	2	0.28 [0.041 a 1.87]	5
<i>rs4417205</i>	8	0.33 [0.083 a 1.33]	2	0.20 [0.03 a 1.32]	6
<i>rs17879239</i>	5	0.22 [0.051 a 0.998]	2	0.28 [0.041 a 1.87]	5
<i>rs3758580</i>	8	0.46 [0.115 a 1.89]	2	0.28 [0.041 a 1.87]	5
<i>rs3758581</i>	1	0.14 [0.011 a 1.74]	2	1.0 [0.116 a 8.5]	2
<i>rs17886522</i>	36	2.9 [0.05 a 155]	12	1.0 [0.018 a 54]	12

OR= razón de momios, IC95%= Intervalo de confianza al 95%, riesgos con base a controles.  
Prueba exacta de Fisher 2 colas p < 0.05

En los polimorfismos del gen CYP2D6 los polimorfismos que se presentaron con mayor frecuencia son rs1135840 (OR 4 en grupo farmacorresistente y 13 en el control), rs28371713 (OR 17 en grupo farmacorresistente y 13 en control) y rs71328650 (OR 38 en farmacorresistente y 13 en control). (Figura 3 y Tabla 4)

**Figura 3. Frecuencia de polimorfismos en CYP2D6 en pacientes con epilepsia.**

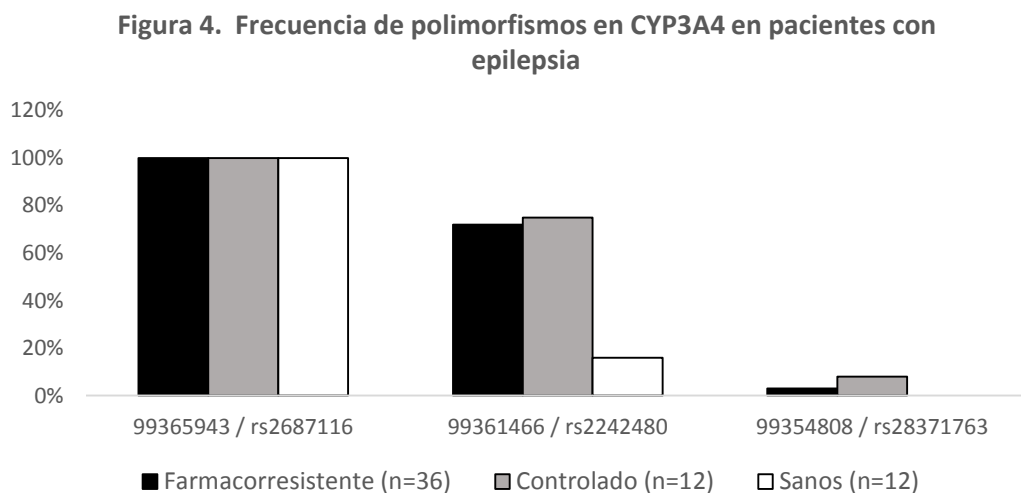


**Tabla IV. Asociación de polimorfismos del gen CYP2D6 con epilepsia farmacorresistente y controlada.**

Polimorfismo	Epilepsia farmacorresistente N=36		Epilepsia controlada N=12		Sanos N=12
	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N
<b>rs1135840</b>	32	4.0 [0.81 a 19.4]	12	13.2 [0.62 a 279]	8
<b>rs79392742</b>	3	2.9 [0.011 a 49]	1	3.26 [0.12 a 88]	0
<b>rs116917064</b>	31	1.24 [0.20 a 7.41]	12	5.95 [0.25 a 138]	10
<b>rs1058172</b>	4	0.62 [0.09 a 3.93]	1	0.45 [0.03 a 5.81]	2
<b>rs16947</b>	31	1.24 [0.20 a 7.41]	12	5.95 [0.25 a 138]	10
<b>rs28371713</b>	35	<b>17.5 [1.71 a 178] *</b>	12	13.2 [0.62 a 279]	8
<b>rs3892097</b>	7	1.20 [0.21 a 6.79]	1	0.45 [0.35 a 5.81]	2
<b>rs1058164</b>	29	2.07 [0.48 a 8.88]	12	13.2 [0.62 a 279]	8
<b>rs71328650</b>	36	<b>38.64 [1.89 a 788] *</b>	12	13.2 [0.62 a 279]	8
<b>rs1065852</b>	9	1.66 [0.30 a 9.08]	1	0.45 [0.35 a 5.81]	2

OR= razón de momios, IC<sub>95%</sub>= Intervalo de confianza al 95%, riesgos con base a controles.  
Prueba exacta de Fisher 2 colas p < 0.05

En el gen CYP3A4 se identificaron 3 polimorfismos, de éstos el rs2687116 se presentó en el 100 % de los pacientes con epilepsia y sano, seguido del rs2242480 el cual se presentó en el 80% de los casos.



En cuanto al mayor riesgo de presentar epilepsia, encontramos el polimorfismo rs2242480 con OR de 13 y  $p < 0.05$ . (Tabla V)

**Tabla V. Asociación de polimorfismos del gen CYP3A4 con epilepsia farmacorresistente y controlada.**

Polimorfismo	Epilepsia farmacorresistente N=36		Epilepsia controlada N=12		Sanos N=12
	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N	OR [IC <sub>95%</sub> ]	N
<b>rs28371763</b>	1	-----	1	-----	0
<b>rs2242480</b>	26	13.0 [2.41 a 70] *	9	15 [2.02 a 111] *	2
<b>rs2687116</b>	36	2.9 [0.05 a 155]	12	1.0 [0.018 a 54]	12

OR= razón de momios, IC95%= Intervalo de confianza al 95%, riesgos con base a controles.  
Prueba exacta de Fisher 2 colas  $p < 0.05$

Al analizar el comportamiento de los 29 polimorfismos de los genes CYP2C9, CYP2C19, CY2D6 y CYP3A4 con respecto a la etiología, sólo se encontró significancia estadística en rs2242480. (Tabla VI)

**Tabla VI. Comparación de polimorfismos de los genes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 en pacientes con epilepsia según su etiología.**

Polimorfismo	Etiología Desconocida (n=20)		Etiología Estructural/Genético (n=28)		Valor de p
	N	(%)	N	(%)	
	<i>rs17886522</i>	29	100%	28	
<i>rs17885098</i>	20	100%	28	100%	0.87
<i>rs2242480</i>	20	100%	15	54%	<b>0.01</b>
<i>rs2687116</i>	20	100%	28	100%	0.87
<i>rs71328650</i>	20	100%	28	100%	0.87
<i>rs116917064</i>	18	90%	25	89%	0.93
<i>rs1135840</i>	17	85%	27	96%	0.19
<i>rs28371713</i>	17	85%	28	100%	0.87
<i>rs1058164</i>	16	80%	25	89%	0.37
<i>rs16947</i>	16	80%	27	96%	0.10
<i>rs9332120</i>	7	35%	6	21%	0.30
<i>rs3758580</i>	6	30%	4	14%	0.19
<i>rs12769205</i>	5	25%	6	21%	0.77
<i>rs1065852</i>	4	20%	6	21%	0.90
<i>rs4244285</i>	4	20%	5	18%	0.85
<i>rs4417205</i>	4	20%	5	18%	0.85
<i>rs3892097</i>	4	20%	4	14%	0.60
<i>rs1057910</i>	3	15%	1	3%	0.19
<i>rs1057911</i>	3	15%	1	3%	0.19
<i>rs1058172</i>	3	15%	2	7%	0.38
<i>rs1799853</i>	3	15%	4	14%	0.94
<i>rs79392742</i>	3	15%	1	3%	0.19
<i>rs9232230</i>	3	15%	1	3%	0.19
<i>rs9332242</i>	3	15%	0	0%	0.11
<i>rs17879239</i>	2	10%	5	18%	0.45
<i>rs3758581</i>	2	10%	1	3%	0.38
<i>rs9232119</i>	2	10%	3	11%	0.93
<i>rs9332245</i>	2	10%	1	3%	0.38
<i>rs28371763</i>	1	5%	1	3%	0.80

\* Prueba exacta de Fisher 1 cola.

Naranja CYP2C9, Azul CYP2C19, Verde CY2D6 y Morado CYP3A4.

## DISCUSIÓN

La epilepsia es el trastorno neurológico crónicos más frecuente, con una prevalencia en México en la edad pediátrica entre 180-400 por 100 000 habitantes, considerada dentro las principales enfermedades vinculadas a mortalidad por enfermedades no infecciosas en la población infantil de México (1,2,3).

A pesar de las múltiples opciones terapéuticas, el 25% de los pacientes con epilepsia son resistentes a fármacos antiepilépticos, esta variabilidad en la respuesta terapéutica está influida por muchos factores, uno de ellos es la existencia de polimorfismos que modifican el transporte a través de la barrera hematoencefálica, su efecto sobre los receptores en el sistema nervioso central, su metabolismo y excreción (11).

El presente estudio es el primero en incluir pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia y presencia de polimorfismos en genes CYP mediante una medición transversal.

Al analizar la población de estudio se encontró que podíamos hacer un análisis por grupos en cuanto a la respuesta farmacológica, resultando que el 75% de los pacientes tuvieron resistencia farmacológico lo cual dista de lo reportado en la literatura, sin embargo, recordemos que este es el brazo de un protocolo realizado por la Unidad de Investigación de Enfermedades Neurológicas de Centro Médico Nacional Siglo XXI, relacionado con fármacorresistencia, las características generales de los pacientes no es diferente a los de lo informado en estudios previos, incluyendo género, la edad y tipo de crisis.

La mitad de los pacientes con epilepsia controlada fueron tratados con monoterapia y más de la mitad de los pacientes con farmacorresistencia con más de 3 FAEs lo que nos orienta a la necesidad de múltiples esquemas farmacológicos y su falla en el control de eventos epilépticos.

Los polimorfismos de CYP han sido estudiados ampliamente en diversas poblaciones, con heterogeneidad en la frecuencia de diferentes alelos o genotipos. En este estudio se detectaron 29 polimorfismos en los genes CYD2C9, CYD2C19, CYD2D6 y CYP3A4, cabe comentar que dichos polimorfismos también se buscaron en un grupo de personas sanas con la finalidad de determinar si había alguna

diferencia descriptiva establecida por la presencia de dichos polimorfismos, esto mencionado ya que sabemos la existencia simultanea de los mismos, de genomas y alelos para locus determinados y que la frecuencia de uno de los alelos de estos está presente en la población superior al 1%.

Existen algunas investigaciones que han correlacionado la presencia de alteraciones en genes CYP con fenotipos característicos en pacientes epilépticos, entre las isoformas que intervienen en el metabolismo de los antiepilépticos con variantes probadas y con significativa influencia en población caucásica son el CYP2C9 y CYP2C19, implicados principalmente en el metabolismo de fenitoína, sus niveles séricos y presentación de reacciones adversas.

En la muestra estudiada en el gen CYP2C9 se identificaron 8 polimorfismos, de éstos el rs9232120 fue el que se presentó con mayor frecuencia, tanto el grupo farmacorresistente como en los controlados y sanos lo que nos sugiere que su presencia no determina un factor de riesgo o de protección ante la respuesta a FAE, no obstante al análisis estadístico de los resultados nos indica que los polimorfismos que incrementaron el riesgo de presentar epilepsia fueron rs9232119 y rs1799853, sin alcanzar una significancia estadística.

Los polimorfismos en el gen CYP2C19 que se presentaron con mayor frecuencia fueron el rs17885098 y 17886522, encontrándose en el 100% de los pacientes con epilepsia farmacorresistente y farmacosensible, siendo el primero el que represento un incremento en el riesgo de presencia de epilepsia, estadísticamente indiferente. Como se explicó anteriormente estos genes están relacionados con el metabolismo de la fenitoína, lo que le da gran importancia siempre y cuando los pacientes se encuentren con este medicamento, sin embargo, en los niños estudiados es el fármaco utilizado con menor frecuencia por lo que podrían realizarse estudios posteriores donde se intente demostrar la presencia de dichos polimorfismos relacionado con otros FAEs, principalmente en CYP2C9 en el que, dependiendo del cambio de nucleótido y de la variedad alélica, nos orientara el nivel de actividad enzimática relacionada.



En los polimorfismos del gen CYP2D6 los polimorfismos que se presentaron con mayor frecuencia son rs1135840, rs28371713 y rs71328650, con gran variabilidad en su presentación en los grupos conformados en este protocolo.

En el gen CYP3A4 el polimorfismo rs2687116 se presentó en el 100 % de los pacientes con epilepsia y sanos, seguido del rs2242480 el cual se presentó en el 80% de los casos. Esta isoforma se encuentra relacionada con gran variedad de fármacos incluyendo los medicamentos antidepresivos, opioides neurolépticos, entre otros, encontrándose tan solo en 5-10% en población caucásica y se relaciona con metabolismo lento, en la selección de este estudio todos los pacientes presentaron un polimorfismo, sin que podamos definir si se encuentra estrictamente relacionado con el fármaco ya que pacientes sanos también tuvieron expresión del mismo, no obstante sería interesante la realización de estudios ulteriores en los cuales se tome encuenta los diferentes fármacos y los niveles séricos de los mismos, para poder definir si su presencia se encuentra relacionado con un medicamento en específico y orientarnos al fenotipo del metabolismo de los mismos.

Al análisis estadístico se detectó que no hay significancia estadística en los hallazgos en la presencia de polimorfismos de los las diferentes isoformas de CYP, este escenario podría estar determinado por la conformación de la muestra, el tamaño y las características de la misma.

Por otro lado se decidió analizar el comportamiento de los 29 polimorfismos con respecto a la etiología encontrando que el rs2242480 presente en el 100% de los pacientes con etiología desconocida con una  $p < 0.01$ .

Los resultados de esta tesis no muestran significancia estadística con la que se pueda definir la relación existente entre las isoformas de CYP, los polimorfismos y la presencia de epilepsia, es muy probable que se deba a la conformación de la muestra, la subdivisión de la misma y la etiología de la epilepsia, lo que confiere debilidades de esta tesis, empero los datos presentados pueden ser el origen de nuevas preguntas de investigación que desemboquen en estudios cuya estructura incluya la comparación de grupos sanos y con presencia de epilepsia, por otro lado

subgrupos de pacientes que tengan manejo con monoterapia y causa desconocida lo que podría arrojar resultados significativos, por otro lado los niveles séricos del o de los fármacos utilizados también podrían orientarnos en la presencia de las isoformas, variedades alélicas, polimorfismos y la actividad enzimática.

## CONCLUSIONES

- Se identificaron 8 polimorfismos en el gen CYP2C9, el rs9232120 fue el que se presentó con mayor frecuencia, sin diferencia estadística entre grupos.
- El 100% de los pacientes con epilepsia tuvo polimorfismos en el gen CYP2C19 siendo los más frecuentes el rs17885098 y 17886522.
- Los polimorfismos más frecuentes en el en CYP2D6 fueron el rs113584, rs28371713 y el rs71328650.
- En el gen CYP3A4 se identificaron 3 polimorfismos, de éstos el rs2687116 se presentó en el 100 % de los pacientes con epilepsia y sano, seguido del rs2242480 el cual se presentó en el 80% de los casos
- No hubo resultados estadísticamente significativos en relacion a la presencia de epilepsia, respuesta a tratamiento y/o etiología.

## BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO). Epilepsy: epidemiology, aetiology and prognosis. 2012;(Fact sheet No. 999. Geneva, Switzerland. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en.>)
2. Fernández S, Hernández AM. Mortalidad en menores de 15 años por enfermedades no transmisibles. México, 2000-2014. 2015;72:80-3.
3. Cruz M, Gallardo J, Paredes S, Legorreta J, Flores M y Andersson N. Factores asociados a epilepsia en niños en México: un estudio caso-control. Bol Med Hosp Infant Mex. 2017;74 (5):334-40.
4. Burneo JG, Tellez-Zenteno J, Wiebe S. Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. Epilepsy Res. 2005;66 (1-3):63-74.
5. Pan American Health Organization. Epilepsy in Latin America. Santiago Chile. 2013;1-108.
6. Soto C, Ceja H, Soto JL, Pérez RD. Perfil epidemiológico de los niños con epilepsia. Arch Invest Pediatr Mex. 2003;3:395-400.
7. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia. 2005;46:470-47.
8. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia. 2014;55:475.
9. Callaghan B, Schlesinger M, Rodemer W, et al. Remission and relapse in a drug-resistant epilepsy population followed prospectively. Epilepsia 2011. :52:61.
10. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. Epilepsia 2010. 51:1069-77.
11. Espinosa CA, Sobrino F. Farmacorresistencia en epilepsia. Conceptos clínicos y neurobiológicos. Rev Neurol. 2015;61 (4):159-66.
12. Drug-resistant epilepsy. N Engl J Med. 2011;365:919-26.
13. Chapell R, Reston J, et al. Management of treatment-resistant epilepsy. Evid Rep Technol Assess Summ. 2003;77:1-8.
14. Hesdorffer DC, Tomson T, Benn E, Sander JW, et al. Combined analysis of risk factors for SUDEP. Epilepsia 2012. 52:1150-9.

15. Glauser TA. Advancing the medical management of epilepsy: disease modification and pharmacogenetics. *J Child Neurol.* enero de 2002;17:S85-93.
16. Targas E, Contreras G Ríos L. Tratamiento farmacológico de las Epilepsias. *Leitura Médica Ltda.* 2014;
17. Rosemary J, Adithan C. The pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: ethnic variation and clinical significance. *Curr Clin Pharmacol.* 2007;2:93-109.
18. Saldaña AM, Sánchez J, Márquez DA, García AG, Flores SE. Farmacogenética y metabolismo de fármacos antiepilépticos: implicación de variantes genéticas en citocromos P450. *Rev Neurol.* 2013;56:471-9.
19. Checa MA. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev Inst NAI Enf Resp Mex.* julio de 2007;20(3):213-21.
20. Chen Q, Zhang T, Wang JF, Wei DQ. Advances in human cytochrome p450 and personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2011;12:436-44.
21. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: Properties and polymorphisms. *Naunyn Schmi- Edebergs Arch Pharmacol.* 2004;89-104.
22. Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Clin Pharmacol.* 2001;349-55.
23. Xie HG, Prasad HC, Kim RB,. CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;54:1257-70.
24. Dorado P et. al. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J.* 2011;11:108-12.
25. Escalante D, Feria IA, Ribas RM, Rayo D, Orozco S, et. al. MDR-1 and MRP2 Gene Polymorphisms in Mexican Epileptic Pediatric Patients with Complex Partial Seizures. *Front Neurol.* octubre de 2014;184.
26. Ponce Navarrete V. Expresión de polimorfismos para el gen SCN1A en pacientes pediátricos con epilepsia según su etiología y respuesta terapéutica. [Cd. de México]: UNAM; 2017.
27. Rangel Ramírez MP. Comparación de los niveles séricos de interleucinas (IL-1 beta, IL-6 y TNF alfa) entre subgrupos de pacientes pediátricos mexicanos con epilepsia farmacorresistente y epilepsia controlada. UNAM; 2016.

## **ANEXO 1**

### **METODOLOGÍA PARA LA SECUENCIACIÓN MASIVA**

La secuenciación masiva supone 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 obtendrán fragmentos entre 200 y 300 pb, posteriormente los fragmentos serán ligados por los extremos a adaptadores específicos para las plataformas de Illumina y se amplificarán por PCR utilizando el kit de preparación de bibliotecas HaloPlex Target Enrichment para Illumina de Agilent Technologies. Las bibliotecas amplificadas por PCR serán enriquecidas únicamente para las regiones de interés (Gen A, B y C) por captura con sondas complementarias a las regiones seleccionadas.

Las muestras serán mezcladas equimolarmente para una concentración final de 20 pM que será cargada 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 será de 2x150 pareada. Las secuencias obtenidas en formato .fastq serán 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 secuencias 5000 pares de bases, por paciente lo que permitirá identificar en cada paciente polimorfismos de 10 genes candidatos que se han reportado con mayor asociación con la farmacorresistencia. Los polimorfismos relevantes, serán corroborados por secuenciación tipo Sanger.

## ANEXO 2



### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLITICAS 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 medico tratante, si hay algo en los resultados que ayude a mejorar tu tratamiento será informado a tu medico 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):

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 horas. Dr. Darío Rayo Mares, Servicio de Neurología 56276900 ext 21504, Hospital de Pediatría, CMN, Siglo XXI, de 8.00 a las 14.30 horas.

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

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

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  
Nombre, dirección, relación y firma  
Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma