



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE

TESIS

**TÍTULO: CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES TSC1 Y TSC2 MEDIANTE
ESTUDIO MOLECULAR EN PACIENTES CON ESCLEROSIS TUBEROSA EN
EL CMN 20 DE NOVIEMBRE.**

**QUE PARA OBTENER EL:
TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
NEUROLOGÍA PEDIÁTRICA**

Facultad de Medicina



**PRESENTA:
YAZMIN EVELYN FLORES JURADO**

**TUTOR DE TESIS
MTRA. SILVIA GARCIA**

**COTUTORAS
DRA VERONICA RODRIGUEZ
DRA LLUVIA ITZEL LEON REYES**

Ciudad de México, Octubre de 2022.



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.

DEDICATORIA:

“Al personal de salud por la labor y dedicación diaria y en especial a mis tutores por su ayuda, paciencia y dedicación”

A los niños por su sinceridad, sonrisa transparente y su fortaleza, pero al mismo tiempo por la vulnerabilidad que pueden tener, para brindarles el mayor apoyo para que en un futuro sean individuos independientes y fructíferos.

ÍNDICE

PAGINA

DEDICATORIAS	2
ÍNDICE	3
1. ABREVIATURAS	4
2. RESUMEN	5
3. INTRODUCCIÓN	6
4. MARCO TEÓRICO	7
5. JUSTIFICACIÓN	12
6. OBJETIVOS	12
6.1. OBJETIVO GENERAL	12
6.2 OBJETIVO ESPECIFICOS	12
7. HIPÓTESIS	12
8. MATERIAL Y MÉTODOS	12
8.1. TIPO DE ESTUDIO	12
8.2 POBLACION DE ESTUDIO Y TAMAÑOS DE LA MUESTRA	13
8.3 CRITERIOS DE INCLUSION Y ELIMINACIÓN	13
8.4 VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN	13
8.5 IMPLICACIONES ÉTICAS DEL ESTUDIO	15
9. CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD	15
10. RECURSOS	16
11. RESULTADOS	17
12. DISCUSIÓN	21
13. CONCLUSIÓN	23
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
15. ANEXOS	27
I. ASENTIMINETO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO	28
II. AVISO DE PRIVACIDAD	31

1.- ABREVIATURAS

ADN= Ácido desoxirribonucleico
CET= Complejo de Esclerosis Tuberosa
ERM= Ezrina-radixina-moesina
NMI= Sin mutacion identificada
MLPA= Amplificación de sonda dependiente de ligadura multiplex
AAN=American Academy of Neurology
LAM = Linfangioleiomiomatosis
mTOR = Objetivo mecanicista de la rapamicina
mTORi = Inhibidor de mTOR
SEGA = Astrocitoma subependimario de células gigantes
SEN= Nódulos subependimarios
AML= Angiomiolipoma renal
LOVID= Leiden Open Variation Database
6MWT = prueba de caminata de 6 minutos
TC = Tomografía computarizada
EEG = Electroencefalografía
TFG = Tasa de filtración glomerular
MRI = Imágenes por resonancia magnética
PFT = Prueba de función pulmonar
TAND = Trastorno neuropsiquiátrico asociado a CET

2.- RESUMEN

Un número considerable de enfermedades neurológicas son monogénicas. Las enfermedades neurológicas de origen genético representan un problema de Salud Pública por su curso crónico e invalidante. Para mejorar la calidad en la atención de los pacientes con este grupo de enfermedades se ha desarrollado la medicina de precisión. El Complejo Esclerosis tuberosa es la segunda facomatosis más frecuente, cursa con diversas mutaciones y cuyos fenotipos podría relacionarse genotipos definidos.

Para lo que se realizara mediante previa información y consentimiento de tutor u asentimiento del paciente una extracción de sangre la cual se colocara en tubo morado, acorde a técnicas estandarizadas para ser congelado y posteriormente realizar análisis masivo de ADN y secuenciación en pacientes previamente seleccionados que cumplan criterios diagnósticos a fin de ampliar con estudio genético.

Dentro de los resultados esperamos ver la correlación fenotipo y genético. Así como determinar si hay mas variantes a parte de las mencionadas en la literatura, comparando datos demográficos, criterios diagnósticos y manifestaciones clínicas.

Esperando con este estudio puedan seguirse líneas de investigación en un futuro y aportar un poco sobre esta síndrome neuro cutáneo.

3.- INTRODUCCIÓN

La genética había sido tradicionalmente una disciplina basada en el comportamiento de una enfermedad a través de varias generaciones y se reestructuró e incorporó a la biología molecular como parte de su arsenal diagnóstico cotidiano lo que ha permitido conocer mejor las modificaciones biológicas moleculares de un padecimiento e con curso inexorablemente como el Complejo de esclerosis tuberosa (CET) con lo que hubo cambios paradigmáticos en la medicina de esta y de otras enfermedades de origen genético¹.

El desarrollo de la medicina genómica ha permitido una nueva perspectiva del DNA como una molécula transcribible rodeada y sometida por elementos de control y regulación, que se transcribe y se traduce en proteínas,² este paradigma ha sido esencial para el entendimiento de los mecanismos en el desarrollo de enfermedades genéticas, tanto monogénicas con herencia mendeliana, como las enfermedades comunes con herencia multifactorial o compleja.

Las enfermedades monogénicas suman un poco más de seis mil, de ellas un respetable número corresponden a las enfermedades neurológicas hereditarias. Muchos de los genes responsables estas enfermedades ya han sido localizados en el genoma humano, se han caracterizado e identificado los productos génicos de los mismos y con ello, en algunas condiciones, se ha podido diagnosticar la enfermedad en etapa preclínica, identificar portadores y ofrecer un diagnóstico prenatal y se trabaja arduamente en lograr tratamientos óptimos para resarcir o al menos mitigar los estragos de estas anomalías genéticas³

El complejo de esclerosis tuberosa es un trastorno genético de transmisión autosómico dominante causado por mutaciones y pérdida de función en los genes TSC1 y TSC2, cuya función es conducir a la activación constitutiva de rapamicina C1 en mamíferos (mTORC1) y desacoplamiento de las entradas reguladoras^{4,5}. Debido a que *mTORC1* integra una serie de señales moleculares que controlan la síntesis de proteínas y el metabolismo energético su activación desenfrenada aumenta el crecimiento y la división celular, lo que da como resultado el desarrollo de tumores benignos en el cerebro y otros órganos entre los que destacan corazón, riñón, pulmón, ojo y piel)^{5,6}.

En los seres humanos, las malformaciones cerebrales suelen manifestarse a través de una serie de síntomas neuropsiquiátricos, entre los que se encuentran discapacidad intelectual, signos de autismo y las crisis refractarias, entre otros⁶.

4.- MARCO TEÓRICO

El complejo de esclerosis tuberosa (CET) es un trastorno autosómico dominante por lo que un padre afectado tiene un 50% de riesgo de tener un hijo afectado. Debido a la falta de una sólida correlación genotipo-fenotipo y la alta variabilidad fenotípica incluso entre familias, el fenotipo clínico y el pronóstico no se pueden predecir de manera confiable⁶. Aunado a la detección de diversas variantes, verbigracias si se trata de un padre mosaico, el riesgo reproductivo no se puede calcular con precisión, por lo que el riesgo de recurrencia se estima en hasta un 50%⁷.

Epidemiología

Afecta aproximadamente a 1 de cada 6.000 a 10.000 personas, dado que la penetrancia es variable y las manifestaciones clínicas pueden ser sutiles hacen predecir que la incidencia en realidad puede ser mayor^{1,7}

Genética

Los genes supresores, TSC1 localizado en el cromosoma 9q34 y TSC2 en el cromosoma 16p13, están implicados en su patogenia⁸. Hasta ahora, se han identificado más de 1200 tipos diferentes de mutaciones en los genes TSC1 y TSC2. La incidencia de mutaciones en el gen TSC2 es aproximadamente 5 veces mayor que la del gen TSC1; las mutaciones en el gen TSC2 también conducen a fenotipos clínicos más graves que los del gen TSC1.^{1,4,7} Alrededor de un tercio de los pacientes con CET tienen una forma familiar, en la que el trastorno sigue una herencia claramente dominante, mientras que los otros dos tercios son casos esporádicos resultantes de mutaciones germinales *de novo* en uno de los genes TSC.^{4,8}

Los espectros de mutación de los genes TSC son muy heterogéneos y no se han informado puntos críticos para las mutaciones. Hay muchas mutaciones en cada gen que se ven recurrentemente, pero ninguna mutación individual explica más que alrededor del 1% de todos los pacientes con CET. A pesar de la penetración completa de la enfermedad en pacientes con CET, la variabilidad fenotípica puede dificultar la determinación del estado de la enfermedad entre los familiares de las personas afectadas.^{5,6}

El gen TSC2 también conocido como LAM, TSC4. PPP1R160

Contiene 43 exones distribuidos en un área genómica de aproximadamente 40 286 pares de bases en el cromosoma 16p13, produce una transcripción de 5,5 kb y codifica una proteína de 200 kD denominada tuberina o proteína TSC2. Los dominios funcionales incluyen el dominio de interacción hamartina N-terminal (exones 1 a 23) y el dominio activador de GTPasa (GAP) (exones 35 a 40)^{7,8} con expresión en más de 25 tejidos

El espectro de mutaciones en TSC2 es mayor se enumeró 3238/8157 variantes hasta abril de 2020, en Leiden Open Variation Database LOVD que representaban a indeles pequeños los más comunes (35.6%), seguidas de las variantes sin sentido, variantes del sitio de empalme, deleciones genómicas⁷ y eliminación de genes contiguos de TSC2 y PKD1⁹

En general, el TSC2 representa la mayoría de los casos (70 %), es más común *de novo* y es más probable que se asocie con una mayor gravedad de la enfermedad, como al inicio más temprano de crisis y enfermedad renal poliquística.

El gen TSC1

Se extiende sobre una región genómica de 55 kb⁶, contiene 23 exones, en donde los últimos 21 contienen una secuencia codificante y el segundo se empalma alternativamente. Codifica la hamartina proteína que interactúa con la tuberina^{7,10}. Los dominios funcionales incluyen el dominio de interacción de la proteína N-terminal (exones 4-8), el dominio de bobina enrollada de interacción de tuberina (exones 17-21), TBCD7 (exones 22-23) y el dominio de interacción HSP90 (exón 23)^{4,5,7,9}. Se demostró que la hamartina y la tuberina se estabilizan con la ayuda de TBC1D7 y actúan en un complejo multimérico, que suprime el crecimiento celular al inhibir la activación de mTOR, una quinasa maestra que regula múltiples procesos, incluida la traducción, la biogénesis de ribosomas y macromoléculas, la neoangiogénesis y autofagia¹¹. Además de unirse y estabilizar la tuberina, la hamartina también interactúa con el N-terminal de la familia de proteínas de unión a actina altamente reguladas de ezrina-radixina-moesina (ERM) y desempeña un papel clave en la adhesión celular, la movilidad y la activación de los pequeña proteína de unión a GTP Rho^{2,11}. Las proteínas ERM forman enlaces cruzados entre los filamentos de actina y la membrana plasmática, desempeñando un papel clave en la organización de las balsas de proteínas y lípidos en la membrana superficial, uniendo las proteínas transmembrana y los andamios del citoesqueleto. La interacción de la hamartina con la moesina, una proteína concentrada en el cono de crecimiento neuronal, sugiere un papel clave para el complejo hamartina-tuberina en el crecimiento y la motilidad axonal y en la elongación de las neuritas^{2, 7,11}.

La base de datos de variaciones de Leiden (LOVD) enumera 1121/3658 variantes únicas de TSC1. Las variantes que causan enfermedades se distribuyen en toda la región de codificación, excepto en el exón 23. Las variantes de truncamiento de proteínas sin sentido representan el principal tipo de mutación causante de enfermedad (40 %), seguidas de pequeñas indeles, variantes del sitio de empalme (8,3 %) y variantes sin sentido raras en la región 5 'y rara vez en los exones 4-15 (2%). En general, TSC1 representa aproximadamente el 20-25% de los casos del trastorno^{4, 7,9,11}.

Diagnostico

Los criterios para el diagnóstico de CET requieren lesiones asociadas de dos o más sistemas de órganos o al menos dos lesiones diferentes del mismo órgano para confirmar el diagnóstico. La adición de pruebas basadas en el ADN complementa el diagnóstico clínico y permite un asesoramiento genético más preciso¹². Los criterios clínicos actualizados de diagnóstico tienen solo dos cambios con respecto a la versión del 2012 y ahora incluyen 11 características principales y siete características menores (tabla 1). Se encontró que el principal criterio de la versión anterior denominada "displasias corticales" era demasiado inespecífico en la práctica y potencialmente confuso, dado que el **CET** es una de varias causas de displasias corticales focales se prefirió modificar por "múltiples tubérculos corticales y/o líneas de migración radial", que es más específico para CET^{12,13}.

De tal manera que el Diagnóstico definitivo: son 2 criterios mayores o 1 criterio mayor y 2 criterios menores

Diagnóstico Posible: ya sea 1 criterio mayor o ≥ 2 criterios menores.

Tabla 1 Criterios Diagnósticos del CET 2016. Adaptado de Northrup H, Aronow M, Bebin E. et al. *Pediatric Neurology* 123 (2021) 50-66

Tabla 1. CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE CET	
<p>Diagnóstico genético: una variante patogénica en <i>TSC1</i> o <i>TSC2</i> es diagnóstica de TSC. Algunas variantes compatibles con la producción de proteína [p. ej., algunos cambios sin sentido] están bien establecidas como enfermedad -causantes; otros tipos de variantes deben considerarse con precaución).</p>	
CRITERIOS MAYORES	CRITERIOS MENORES
Macula hipomelanotica (>3y >5mm de diámetro) Angiofibroma >3 Fibroma ungueal >2 Placa shagreen Múltiples hamartomas retinianos Rabdomioma cardiaco Múltiples tuberos corticales y/o línea de migración radial Nódulo subependimario >2 SEGA Angiomiolipoma >2 LAM	Lesiones en confeti Fibroma intraoral >2 Alteración dentales esmalte/hoyuelos Parche retinal acromico Quiste renal Hamartoma no renal Lesiones óseas escleróticas
Abreviaturas: LAM = Linfangiomiomatosis. CET = complejo de esclerosis tuberosa SEGA: astrocitoma de cels gigantes subependimario	

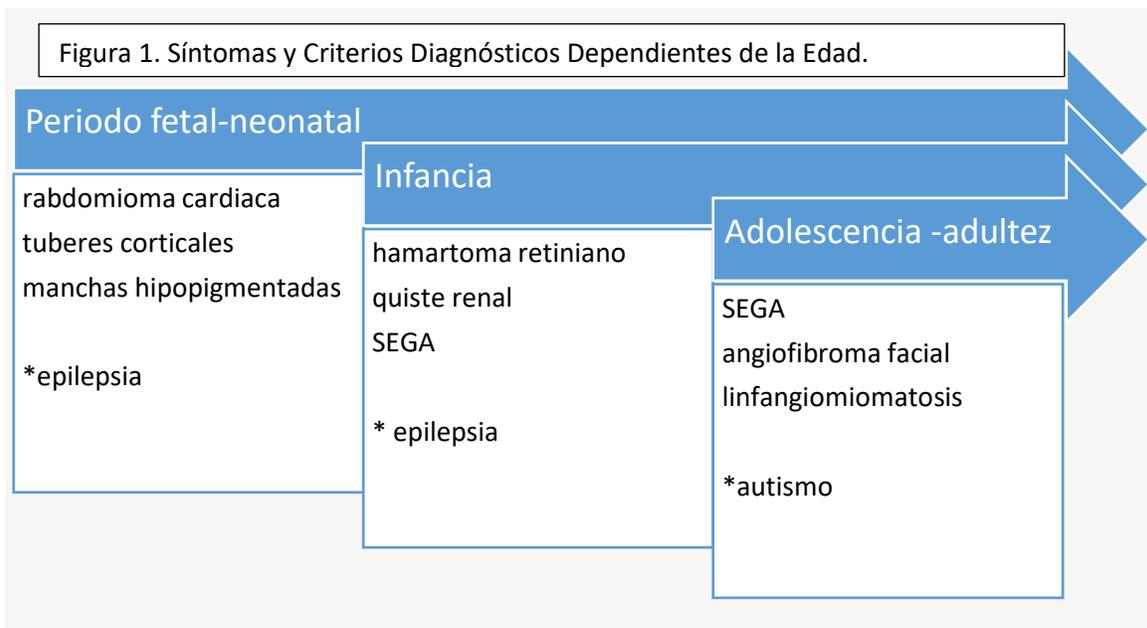


Figura 1 Adaptado de Fuente Mizuguchi M, Ohsawa M, Kashii H, Sato A. Brain Symptoms of Tuberous Sclerosis Complex: Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2021.

Seguimiento

Deberá ser acorde a los criterios, síntomas presentador y curso de la enfermedad.

Los pacientes son monitoreados con un chequeo mínimo anual incluida la detección de trastornos Neuropsiquiátricos asociados^{12,13}.

Tabla 2 Recomendaciones de seguimiento por órganos o áreas	
Genético	Obtener antecedentes familiares de 3 generaciones para evaluar miembros adicionales en riesgo de CET, ofrecimiento de prueba genética
Cerebro	EEG de rutina inicial. Si es anormal o si hay características de TAND, seguimiento con video-EEG de 8 a 24 h para evaluar la actividad clínica. La RM del cerebro se realiza a intervalos de 1 a 3 años en pacientes asintomáticos hasta los 25 años. Excepto para seguimiento de rutina en pacientes que han sido diagnosticados con SEGA u otras circunstancias en caso de cráneo hipertensivo o empeoramiento de crisis
Riñón	Obtenga una resonancia magnética del abdomen para evaluar la presencia de angiomiolipomas y quistes renales. Evaluar la función renal mediante la determinación de la TFG
Pulmón	Realice una TC torácica inicial en todas las mujeres y hombres sintomáticos, a partir de los 18 años de edad. Realice PFT de referencia y 6MWT en pacientes con evidencia de enfermedad pulmonar quística compatible con LAM en la TC de tórax de detección
Piel	Realizar inspección y examen clínico detallado
Diente	Envío a odontólogo mínimo cada 6 meses con ortopantomografía
Corazón	Considere la ecocardiografía fetal para detectar personas con alto riesgo de insuficiencia cardíaca después del parto cuando se identifiquen rabiomas mediante ecografía prenatal. Obtenga una ecocardiografía en pacientes pediátricos, especialmente si son menores de tres años. Obtenga una electrocardiografía en todas las edades para evaluar los defectos de conducción subyacentes.
Ojo	Revisión completa derivando a oftalmología
TAND	Brindar apoyo psicológico, psiquiátrico y social a las familias en torno al diagnóstico, aceptar el diagnóstico de TSC y TAND, y garantizar que se implementen estrategias para apoyar el bienestar del paciente.
Abreviaturas: 6MWT = prueba de caminata de 6 minutos, TC = tomografía computarizada EEG = Electroencefalografía, TFG = tasa de filtración glomerular, LAM= Linfangiomatosis MRI = Imágenes por resonancia magnética, PFT = prueba de función pulmonar, SEGA = astrocitoma subependimario de células gigantes, TAND = trastorno neuropsiquiátrico asociado a TSC, CET = complejo de esclerosis tuberosa	

Tabla 2 adaptado de Fuente Mizuguchi M, Ohsawa M, Kashii H, Sato A. Brain Symptoms of Tuberous Sclerosis Complex: Pathogenesis and Treatment. Int J Mol Sci. 2021.

Tratamiento

Los inhibidores de mTOR son útiles en el tratamiento de tumores asociados con CET en el cerebro, corazón y riñones (everolimus)¹⁴, así como en la piel y los pulmones (sirolimus)¹⁵.

En epilepsia refractaria al tratamiento, everolimus está aprobado como tratamiento adyuvante para niños y adultos¹⁶ y opciones a considerar como la cirugía de epilepsia, la

estimulación del vago y la dieta cetogénica. Sin embargo, la estimulación del nervio vago limitará las posibilidades de seguimiento con una resonancia magnética.

Pronostico

Estos pacientes cursan con aislamiento, retraimiento social y pueden ser objeto de discriminación ¹⁷. Así la alta proporción de pacientes que presentan trastornos psiquiátricos podría contribuir, junto con la discapacidad intelectual, a la limitada autonomía alcanzada por estos pacientes en su vida social, profesional y personal ¹⁸

Aunado a que en la edad adulta pueden presentar afectaciones renales y SEGA resulta difícil establecer un pronóstico certero ^{18,19}

5.- JUSTIFICACION

La implementación de algoritmos de diagnóstico para enfermedades neurológicas de origen genético y sobre todo en las que se ha descrito heterogeneidad genética de un mismo cuadro clínico representa un problema de salud por su frecuencia, su curso crónico e invalidante. De igual manera en enfermedades complejas cuyo componente genético es alto se ha definido estrategias de estimación de riesgos y en ciertos casos se ha llegado a consensos sobre la utilidad de las pruebas moleculares para facilitar el asesoramiento genético. Por esto, para mejorar la calidad en la atención de los pacientes, particularmente en los hospitales de tercer nivel, estamos iniciado diferentes esfuerzos por desarrollar la medicina genómica e impulsar una medicina de precisión, sin embargo, para tales efectos es necesario conocer las enfermedades prioritarias y delinear los blancos diagnósticos y terapéuticos a abordar con la tecnología disponible y de forma sustentable. Existen alrededor de 250 genes vinculados con alrededor de 85 padecimientos neurológicos, sin embargo, los cambios en el DNA en estos genes y la prevalencia de estas enfermedades es diferente en distintas poblaciones.

Para dar respuesta a esta necesidad estamos proponiendo unos paneles en donde se analizarán genes específicos de las enfermedades neurológicas de componente genético más prevalentes de México. En dicho proyecto mediante una extracción de hemoderivado colocado en un tubo morado se realizará extracción de ADN y posteriormente un estudio de secuenciación a fin caracterizar el genotipo de los pacientes con criterios de esclerosis tuberosa.

Económica

Debido a que el CET es un padecimiento crónico requiere atención multidisciplinaria, seguimiento de comorbilidades, manejo hospitalario y tratamiento especializado siendo que a la fecha no hay un Gold estándar de tratamiento a fin de mejorar pronóstico y calidad de vida. Por lo que dicho estudio pudiera ser pauta para nuevas estrategias

Científica

Evaluar si existen asociaciones genotipo fenotipo den pacientes con CET, además de que los resultados obtenidos sirvan de referencia bibliográfica para futuras líneas de investigación.

6.- OBJETIVOS

6.1 General

Saber sobre los genes implicados en CET TSC1 y TSC2 correlacionando con la de la literatura.

6.2 Específicos

Describir la demografía y el fenotipo clínico de los pacientes con CET.

7.- HIPÓTESIS

Estudio de descubrimiento

8.- MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio transversal Descriptivo y Analítico

Tiempo de ejecución. 1 año (recolección de datos)

8.1 Población de estudio.

Enfermos con el diagnóstico clínico hecho por un experto y en base a los criterios consensados

8.2 Universo de trabajo

Enfermos con esclerosis tuberosa

8.3 Criterios de inclusión

Pacientes que cumplan con los criterios diagnósticos para CET.

Ser evaluado y diagnosticado con criterios clínicos y paraclínicos previamente por neurólogo

Que el paciente y su tutor legal firmen la carta de consentimiento bajo información, en casos de niños con la capacidad de comprender den su asentimiento.

8.4 Criterios de exclusión.

Anormalidades en la hemostasia que contraindique la obtención de muestra sanguínea

Imposibilidad para obtener muestra de sangre por cualquier otro motivo.

No autorización de extracción de hemoderivados por parte del paciente o tutor.

8.5 Criterios de eliminación.

Muestra inadecuada o mal procesada

Que se retire su consentimiento

8.6 Tipo de muestreo- Muestreo no probabilístico.

Será consecutivo. (Estudio piloto) atendidos en el CMN 20 de Noviembre

8.7 Variables

Se registrarán las siguientes variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de Medición
<i>Edad</i>	Años	Número de años desde la fecha de nacimiento	Cuantitativa	Años
<i>Niños</i>	En meses cumplidos	Numérica discreta	Cuantitativa	Meses
<i>Adultos</i>	Años cumplidos	Numérica discreta	Cuantitativa	Años
<i>Sexo</i>	Genero biológico de una persona (masculino/femenino)	Genero biológico	Cualitativa nominal	1.Masculino 2. Femenino

<i>Padecimiento clínico</i>	Cumplir criterios consensados	Cualitativa nominal		Criterios mayores Y Menores
<i>Variantes génicas</i>	Tipo de variantes	Cualitativa nominal		

Variable
Antecedentes familiares
Padre
Madre
Consanguinidad
Diagnóstico
Definitivo
Posible

Los criterios diagnósticos
Mayores y Menores que se citan en la tabla 1.

El análisis estadístico fue descriptivo se realizó de acuerdo con la distribución de los datos; medianas. Las variables cualitativas fueron resumidas como frecuencias absolutas, relativas y porcentajes.

Todos los análisis realizados fueron llevados a cabo con Graph-Pad Prism V9.01

Una vez obtenidas las variables genéticas se revisarán con el programa Alamut (pendiente)

8.- Metodología

Primero se buscó en expediente electrónico con clave CIE-10 de esclerosis tuberosa y tumor cardiaco o rabiomioma cardiaco con 10 años para una mayor cohorte de 2011-2022 y se recabaron datos posteriormente se les contacto y dio previa información, una vez confirmado se sito en hospital para firma de consentimiento informado, explicando posibles efectos adversos se procedió a realizar antisepsia en sitio de punción, se colocará ligadura y una vez visualizando la vena a puncionar se extraerán 5cc de sangre, una vez extraída la muestra se desechará la aguja en contenedor de RPBI acorde a NOM. Posteriormente la muestra obtenida se refrigeró a -20 °.–Pendiente la secuenciación masiva.

Análisis de las variaciones genéticas. Los paneles propuestos se realizarán en el equipo ION-S5 con ayuda del IONCHEF, utilizando chips 520, siguiendo las indicaciones del proveedor. Para tal efecto y tomado las plataformas de diseño se generará la propuesta para cada uno de los paneles. Por último, se validarán las variaciones genéticas observadas por Secuenciación en una corte independiente que constarán de 5 pacientes por panel. Producto: Paneles diagnósticos adecuados a nuestra población de utilidad en la práctica clínica cotidiana.

9.- IMPLICACIONES ÉTICAS DEL ESTUDIO

Nos apegaremos irrestrictamente a las normas de buenas prácticas clínicas a lo consignado en los códigos de Helsinki y Belmont sobre investigación se seres humanos. Para la realización de este estudio se someterá a la revisión y a la aprobación del Comité de Investigación, de Bioseguridad y de Ética en Investigación del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. El proceso de obtención del consentimiento informado será por el médico que del grupo de trabajo identifique la paciente e idealmente se contactará al padre biológico. Se le explicará la naturaleza de la investigación, sus alcances y limitaciones y de estar en disposición de participar en la investigación se realizará una lectura acompañada de la carta de consentimiento escrito bajo información (anexo 1), la cual una vez que sea firmada bajo el principio ético de autonomía, el caso será incluido. Se mantendrá la privacidad de los datos personales para lo que se emplearán folios para identificación de las muestras de forma impersonal y solo el investigador principal tendrá la información completa de cada caso. En caso necesario (esto es, un hallazgo incidental o un evento genético relevante generado por la investigación en sí) y una vez verificado el o los resultados, será un médico especialista en genética quien abordará el caso y las acciones que correspondan. La información del presente estudio proviene de datos recolectados del cuestionario de factores de riesgo, así como de la revisión de historias clínicas o de bases de datos, y la toma de una sola muestra sanguínea de sangre periférica de 5 ml, donde la única molestia probable es un pequeño hematoma el cual se desvanece 2 días posteriores a la toma. Para garantizar la confidencialidad y privacidad de los datos obtenidos del cuestionario de factores de riesgo de PE así como los datos obtenidos del estudio de los genes, se utilizará en la base de datos obtenida, números de folios para identificación de las pacientes y de esta forma conservar el anonimato. Todos los cuestionarios y resultados que se obtengan se guardaran en un archivo exclusivo que solo será manejado por el investigador responsable.

De acuerdo con los Artículos 16, 17 y 23 del CAPÍTULO I, TÍTULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, del REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Los investigadores confirmamos que la revisión de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización, que contamos con la capacidad para llevarlo a buen término, nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad, a salvaguardar la confidencialidad de los datos personales de los participantes en el estudio, pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo.

9.1 Consentimiento informado y aviso de privacidad

Anexo 1, 2

9.2 Conflicto de intereses.

Los investigadores declaramos no tener conflicto de intereses

10. CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD.

Esta investigación se desarrollará en seres humanos ajustándonos a los principios científicos y éticos que dicta la NOM-012- SSA2-2012: Que norma la ejecución de proyectos

e investigación para la salud en humanos. El protocolo se someterá a la aprobación de los comités de Investigación, Bioseguridad y Ética de la institución, será realizado por profesionales de la salud con la capacidad de suspender la investigación en cualquier momento si sobreviene el riesgo de lesiones, invalidez o muerte del sujeto en quien se realice la investigación. De acuerdo con el tipo de investigación esta se encuentra clasificada de Riesgo Mínimo ya que se realizará una extracción de muestra de sangre periférica del antebrazo, la única molestia probable es un hematoma pequeño, mismo que se desvanece transcurridos dos días posteriores a la extracción. Se seguirá lo establecido en Ley General para la prevención y gestión integral de los residuos; la NOM-007-SSA3-2011. Para La Organización y Funcionamiento De Los Laboratorios Clínicos; Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo; Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-005-STPS-2017, Manejo de sustancias químicas peligrosas o sus mezclas en los centros de trabajo-Condiciónes y procedimientos de seguridad y salud; NOM-009-STPS-2011. Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo; NOM-018-STPS-2015. Que establece el sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo y para las medidas del manejo de desechos biológicos y material contaminado se seguirán los lineamientos De la PROY-NOM-007-SSA3-2009

11.- RECURSOS

11.1 Humanos

Residente de 5to año de Neurología Pediátrica, y tutores.

11.2 Materiales

Computadora con acceso a sistema SIAH para búsqueda de Expediente clínico virtual de pacientes con esclerosis tuberosa.

El laboratorio del CMN "20 de Noviembre"-ISSSTE en donde se realizaran los experimentos se encuentra en el edificio de Investigación y está dividido en varias secciones: la primera está diseñada para que cada etapa del proceso, por ejemplo extracción de los ácidos nucleicos y realización de las mezclas de PCR, estén físicamente separadas para evitar la contaminación cruzada entre las muestras. La otra sección está destinada para realizar experimentos de diferente naturaleza por ejemplo western blots, inmunofluorescencia, ELISAS, electroforesis de ácidos nucleicos etc. y finalmente tiene un área que cuenta con las instalaciones para el cultivo celular. Por lo que en resumen este laboratorio cuenta con: seis campanas de flujo laminar nivel II, un termociclador tiempo real, termociclador punto final, centrifugas clínicas, centrifugas de alta velocidad eppendorf, equipo Nanodrop, lector de absorbancia, sistema de transferencia semihumedas, microscopio invertido, baño maría, incubadora para células eucariontes, vortex, micropipetas, cámaras de electroforesis horizontal y vertical y fuentes de poder. Equipo: El proceso de secuenciación se realizara en el equipo ION-S5 con ayuda del ION-CHEF, utilizando chips 520, siguiendo las indicaciones del proveedor. El análisis bioinformático se realizará con el software Alamut Visual V.2.9.0.

11.3 RECURSOS FINANCIEROS.

ISSSTE a través del programa E015.

11.4 APORTACIONES O BENEFICIOS GENERADOS PARA EL INSTITUTO.

Ofrecer a los pacientes diagnósticos precisos y oportunos eficientizando equipamiento y costos. Realizar al menos una solicitud de patente que prevea los paneles propuestos en una agrupación dirigida a pacientes específicos

12.- RESULTADOS

Se incluyeron a pacientes que fueron atendidos en el Servicios de Neurología Pediátrica los últimos 10 años (2012-2022), con búsqueda en expediente electrónicos inicialmente 33 pacientes, sin embargo, fueron excluidos 6, 2 correspondían a diagnóstico de Neurofibromatosis, 2 no tenían criterios diagnósticos y 2 si cumplían criterios, pero decidieron darse de alta y no tenían seguimiento en el hospital.

Dentro del grupo predominó el sexo masculino correspondiendo al 70.3% de los casos y 8 mujeres representando el 29.6%. No hubo casos de consanguinidad y solo 5 pacientes tenía antecedente familiar en 4 casos por parte del padre y 1 por línea materna siendo diagnóstico por criterios clínicos representa el 18.51% Como se muestra en el siguiente flujograma

Flujograma del estudio.

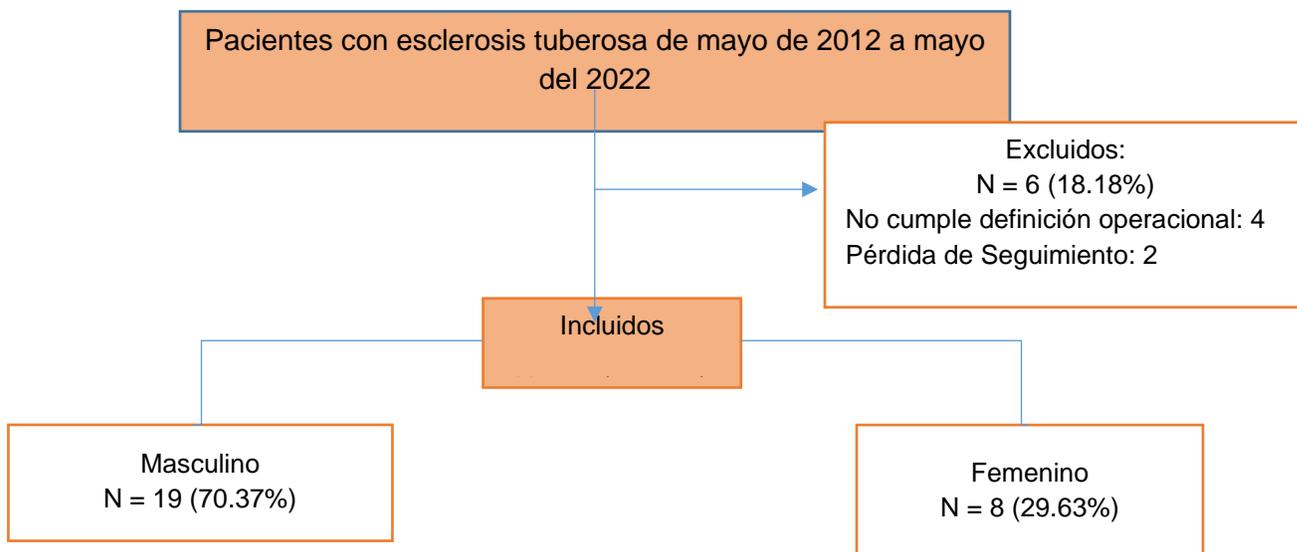


Tabla 3 Características socio – demográficas de la cohorte de estudio

Variable	N = 27 (100%)
Edad	14.0 [7.0 - 21] ^b
Masculino	19 (70.37%)
Antecedentes familiares	5
Padre	4 (14.81%)
Madre	1 (3.7%)
Consanguinidad	0 (0%)
Diagnóstico	

Definitivo	26 (96.28%)
Posible	1 (3.7%)
p valores expresados en mediana y ric [25 75%]	

La mediana de edad al inicio de los síntomas fue de 3 meses (media, 2.5 ± 5.5 meses) rango, 0-5 años). Así como una edad de diagnóstico a los 3 años. Solo se reportó el caso de un paciente con diagnóstico posible debido a solo tenía un criterio mayor (Rabdomioma) y asintomático sin contar con estudio genético..

Tabla 4 Características socio – demográficas de la cohorte de estudio – Características de la enfermedad

Variable	N = 27 (100%)
Edad al diagnóstico (años)	3.0 [1.0 – 6.0] ^p
Edad al inicio de los síntomas (meses)	3.0 [2.5 – 5.5] ^p
Diagnóstico Definitivo	26 (96.29%)
Criterios diagnósticos	
Mayores	26 (96.29%)
Tuberes corticales múltiples	26 (96.29%)
Manchas Hipocrómicas	26 (96.29%)
Rabdomioma Cardíaco	24 (88.88%)
Placa de Shagrin	7 (25.92%)
Nódulo Subependimario	5 (18.51%)
SEGA	5 (18.51%)
Angiofibroma Facial	5 (18.51%)
Hamartoma Retiniano	4 (14.81%)
Angiomiolipoma Renal	3 (11.11%)
Menores	14 (100%)
Manchas Confeti	13 (72%)
Fibroma Intraoral	4 (22 %)
Quiste Renal	1 (6%)
Desarrollo de criterios	10 (100%)
SEGA	3 (30%)
Hamartoma Retiniano	2 (20%)
Rabdomioma Cardíaco	4 (40%)
Tuberes corticales	1 (10%)

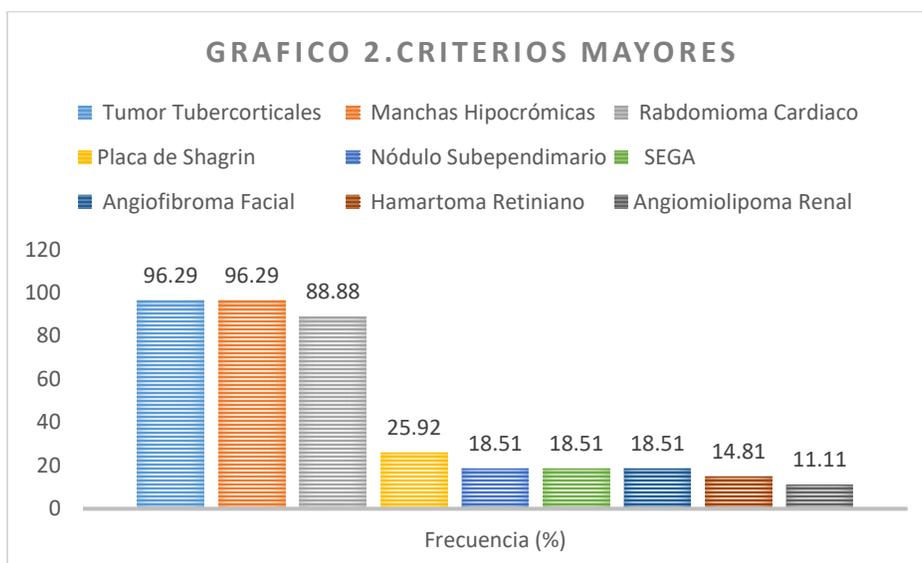
^p Valores expresados en mediana y RIC [25 – 75%]

Abreviaturas: SEGA

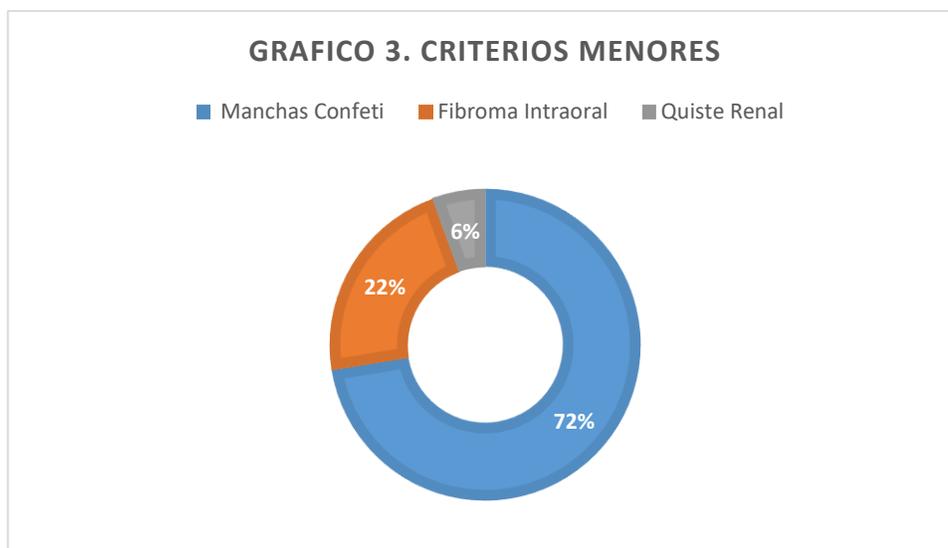
El Rabdomioma cardíaco se presentó en 7 pacientes como hallazgo prenatal y fue confirmado al nacimiento

Dentro de los criterios diagnósticos los mayores predominaron manchas hipocromicas, tuberes corticales y rabdomiomas en 26 pacientes correspondiendo al 96.29%, seguido de rabdomiomas cardiacos en 24 pacientes (88.8%), en 7 pacientes placa shagrin, en 5 pacientes correspondiente al 18.51% tenían nódulo subependimario, SEGA y Angiofibroma Facial. En menor frecuencia hamartoma retiniano y angiomiolipoma renal en 14.81% y 11.11% respectivamente. Como se muestra en la siguiente tabla

Por otra parte, se desarrollaron nuevos criterios en 10/27 pacientes a lo largo de su seguimiento que por orden de frecuencia se observó rabiomioma en 4 (40%, SEGA en 3 pacientes (30%) 2 pacientes hamartoma retiniano y 1 tuberes corticales



En lo que respecta a los criterios menores los representativos fueron 3 con lesión dérmica, seguido de fibroma oral en 22% y quiste renal en 1 paciente correspondiendo al 6% representado en el grafico 3.



De las manifestaciones clínicas como síntoma inicial 7 debutaron como taquicardia o desaturación asociado a Rabdomioma cardiaco y el resto 20/27 presentaron crisis.

Tabla 5. Tratamiento empleado

Variable	N = 27 (100%)
Farmacológico	26 (96.29%)
LVT	15 (57.69%)
AVP	9 (34.61%)

CBZ	7 (26.92%)
Everolimus	5 (19.23%)
VGB	5 (19.23%)
TP	4 (15.34%)
OXC	4 (15.38)
Fenitoina	3 (11.53)
No farmacológico	1 (100%)
Dieta Cetogénica	1 (100%)

^b Valores expresados en mediana y RIC [25 – 75%]
Abreviaturas:

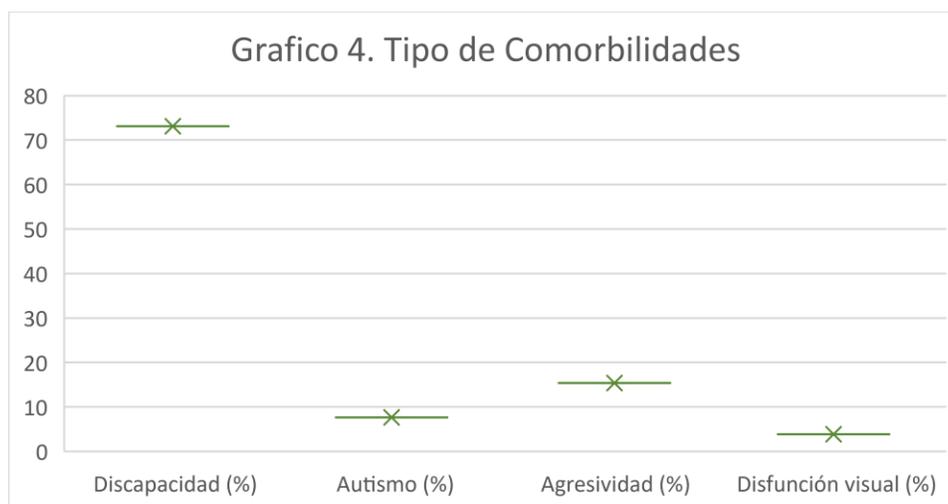
En cuanto al tratamiento se encontró que 27 pacientes (96.29%) tenía algún tipo de tratamiento con algún antiepiléptico ya sea en monoterapia o politerapia y un paciente por crisis refractarias en tratamiento con everolimus.

Tabla 6 Comorbilidades asociadas

Variable	N = 27 (100%)
Comorbilidades asociadas	26 (96.29%)
Tipo de comorbilidades	
Discapacidad	19 (73.07 %)
Autismo	2 (7.69 %)
Agresividad	4 (15.38%)
Disfunción visual	1 (3.84 %)
Tiempo de aparición de comorbilidades (años)	7.0 [5.0 – 8.5] ^b

^b Valores expresados en mediana y RIC [25 – 75%]

Dentro de las comorbilidades de nuestro grupo la más frecuente fue de 19 paciente el 73.07% por algún grado de discapacidad intelectual, englobada de manera general ya que no se hizo diferenciación de la gravedad de esta, agresividad 4 pacientes (15.38%) y autismo en 2 pacientes siendo el 7.69%, como se representa en la tabla 6 y grafico 4



En el caso del paciente con disfunción visual también cursaba con Hamartoma retiniano. El diagnostico de autismo fue acorde a lo reportado en expediente electrónico.

13.- DISCUSIÓN

Se realizó una búsqueda en la literatura de genotipo y fenotipo en pacientes con CET encontrando 3 poblaciones diferentes, China, India y Grecia.

En 77 pacientes del suroeste de China de los cuales 47 correspondían a hombres 30 a mujeres incluyeron 13 casos índice y 64 esporádicos cumpliendo criterios diagnósticos del CET acorde a criterios del 2012, en éstos las edades de los pacientes índice en su primer examen fueron de 0.9 a 65 años, con una mediana de edad de 10 años y una edad promedio de 14.3 ± 13.8 años. La edad de los pacientes al diagnóstico se centra principalmente en menores de 10 años, lo que se puede observar de forma evidente en el grupo TSC2 siendo masculinos 61% 44/77 sin diferencias significativas en distribución de las características clínicas se reportaron nódulos subependimarios (83.1 %), crisis 58/77 (75.3 %) y lesiones cutáneas como angiofibroma facial (68.8 %) y máculas hipomelanóticas (68.8 %)

La correlación fenotípica la manchas hipomelanóticas ocurrieron más en pacientes con mutación en el gen TSC2 y la placa Shagrin rel al Tsc1 (44.4% Frente a 26.7%)¹⁹

Se realizó estudio de genes TSC1, TSC2, mediante secuenciación Sanger para todos los exones codificantes de los genes TSC1 Y TSC2 y amplificación de sonda dependiente de ligadura multiplex MLPA. Un cambio de nucleótido se consideró como una variante de significado desconocido cuando era nuevo y los padres no estaban disponibles para el estudio. Se identificaron mutaciones en un total de 63/77 (81,8 %) casos, incluidas 18 mutaciones en TSC1 puntuales en 18 paciente (8 mutaciones sin sentido, 6 cambio de marco, 1 con cambio en el marco, 1 mutación sin sentido y 2 en el sitio de empalme), Y en el exon 8 del gen tsc1 detectaron >mutaciones 5/63; 7.9 del total de las mutaciones y 45 mutaciones en TSC2 (13 sin sentido (13/40, 32%), 3 sin sentido (3/40, 8%), 6 de empalme (6/40, 15%) 6 de cambio de marco (6/40, 15%), 12 mutaciones de cambio de marco (12/40, 30%) y 5 deleciones grandes). Grandes deleciones se presentaron exclusivamente en el gen TSC2, lo que representa el 7.9% de todas las mutaciones en este estudio ²⁰.

Los exones 27 y 40 del gen TSC2 revelan una frecuencia relativamente mayor de mutaciones en este estudio. Casi todas las mutaciones de cambio en marco identificadas en el TSC2 El gen se distribuyó en los dominios de la proteína activadora de GTPasa (GAP) y Rabaptin (exón 34–40. Catorce nuevas mutaciones fueron identificadas en este estudio.

En comparación con nuestra cohorte encontramos que la edad de presentación fue más temprana respecto a este estudio ya que la mediana de edad al inicio de los síntomas fue de 3 meses (media, 2.5 ± 5.5 meses) rango, 0-5 años). Así como una edad de diagnóstico a los 3 años posiblemente porque se realizó búsqueda de pacientes en seguimiento por Neurología Pediátrica, se encontraron pacientes adultos quizá por tratarse de un hospital de referencia. En las manifestaciones clínicas a diferencia de lo que reportan de fenómenos fueron tuberos corticales y maculas hipopigmentadas de los criterios mayores y manchas confeti de los menores.

En la población de la India en noventa y ocho pacientes con TSC por criterios diagnósticos y edad comprendida de 0-16 años, se inscribieron para las pruebas genéticas de TSC

después de una evaluación clínica y neuro-conductual. De los 98 pacientes fueron hombres 59 (60%) y mujeres 39 (40%). 9 fueron no incluidos por no consentir al estudio: 89 pacientes de estos 83 (84.7%) casos se clasificaron como definitivos mientras que 6 (6.1%) se clasificaron como posible diagnóstico de CET²⁰. Las Manifestaciones con mayor frecuencia detectados fueron: dermatológicas (mancha confeti, placa Shagrin, macula hipomelanoticas y fibroma), tuberos de predominio frontal en los pacientes con autismo, alteraciones renales en 30%, y 10% presentaron alteración oftalmológica. Crisis referidas como tónico clónico generalizada 28%, espasmos infantiles 27% espasmo flexores 13.5%, crisis focal 13.5 y mioclonias en 9% ²¹. Comorbilidades en 17/89 (19% autismo en base a escala DSM-V y CARS), discapacidad intelectual 56/89 (62%) En la evaluación del desarrollo y comportamiento para establecer el nivel de gravedad ésta fue leve en 23(26%), moderada en 19 (21%) y grave en 14 (15%) enfermos²¹. En los estudios de MLPA y Secuenciación Sanger a los casos negativos para MLPA, así como secuenciación de exoma completo en un paciente que no se encontró ninguna variable. Se identificaron en 15/89 (15.3%) grandes reordenamientos en aproximadamente el 1 % en los genes TSC1 y el 14.3 % en los genes TSC2. El presente estudio observó la presencia de duplicaciones en dos (2%) casos, ambos relacionados con genes contiguos TSC2/PKD1 en 7 pacientes que, según nuestro conocimiento, se informa por primera vez. Se identificaron un 8,1% de pequeñas variantes en el gen TSC1 y un 85,7% en el gen TSC2, de las cuales 23 eran variaciones novedosas y en seis (6,1%) no se encontraron variantes. En la secuenciación de genes TSC1/TSC2, en los 83 casos restantes de TSC, 23 (2.7 %) eran familiares y 60 (72.3 %) eran esporádicos. En 23 casos familiares, se identificaron variantes causantes de la enfermedad en cinco casos (6%) en el gen TSC1.

Respecto a nuestra cohorte fueron similares las comorbilidades siendo la discapacidad intelectual, seguido de agresividad 4 pacientes (15.38%) y autismo en 2 pacientes 7.69%. este último probablemente con menor frecuencia porque no se indagó con pruebas de diagnósticas pertinentes, lo que explicaría un mayor porcentaje de agresividad. En lo que respecta a los criterios mayores al igual que nuestros pacientes fueron los tuvieres corticales y las lesiones dérmicas. Nosotros encontramos como síntoma inicial en 20/27 crisis epilépticas las cuales se modificaron según la evolución y edad del paciente.

En población griega se estudiaron a 20 pacientes (65%) pacientes de los cuales 13 tenían diagnóstico definitivo y 7(35%) un diagnóstico probable conforme²². Dentro de los criterios y manifestaciones las displasias corticales se encontraron en TSC1: 5/6 (83%); TSC2: 5/7 (71%), el desarrollo de SEGA fue una característica de los probandos TSC2 únicamente (TSC1: 1/5 (20 %); TSC2: 5/7 (71%). Las crisis epilépticas fueron más graves en los pacientes TSC2 y esto fue seguido por características Trastorno neuropsiquiátrico asociado a CET (TAND) más pronunciadas. Además, se observaron múltiples hamartomas retinianos y un solo caso de LAM solo en pacientes con TSC2, mientras que la Linfangioleiomiomatosis LAM estuvo presente en pacientes con TSC1 y TSC2 en porcentajes bastante similares (TSC1: 2/6 o 33 %; TSC2: 3/7 o 43 %) ²¹. En el estudio, se realizó un análisis mutacional en los exones codificantes y las uniones intrón/exón de TSC y TSC2. De los pacientes con diagnóstico definitivo 11/13 se encontró una mutación TSC1 31% y en TSC2 en 54%, en el resto solo se detectaron 2/7 mutaciones de TSC1 en 29% de los casos. Se identificaron para el primer grupo 13 mutaciones con 5 nuevas variantes (c.1681_1700del20

(p.Ser561Glyfs*20) y c.2263 C > T (p.Gln755*) en *TSC1*; c.648 + 1 G > T, c.826delA (p.Met276CysFs*17) y c.4942 A > T (p.Ile1648Phe) en *TSC2*²². 6 mutaciones del *TSC1* incluían (3 mutaciones sin sentido, 2 delecciones, 1 mutación *missense* 4/6 ya se habían informado en LOVID Leiden Open Variation Database; de éstas 3 eran mutaciones *de novo* y 3 familiares ²². Del gen *Tsc2*, 7 mutaciones correspondían a 1 inserción, 1 delección, 2 mutaciones sin sentido, 3 mutaciones en sitio de empalme, una de ellas de origen familiar y el resto *de novo*.

En nuestra cohorte solo un paciente tenía diagnóstico posible y el resto cumplían con diagnóstico definitivo acorde a criterios diagnósticos y 2 pacientes presentaron Delección y Mutación del gen *TSC1* y el otro afectación en *TSC2* y un polimorfismo heterocigoto C3324c >T en proteína pGly1108Gly. Debido a que actualmente las muestras están pendientes de ser procesadas se continuará surgiendo información.

14.- CONCLUSIONES

En nuestros paciente se observó un predominio del sexo masculino (70.3% de los casos)

Hubo una correlación entre las manifestaciones clínicas y criterios diagnósticos principalmente los que afectan a piel, cerebro y corazón con epilepsia

Aún pendiente de secuenciación masiva para observar si existe asociación más estrecha de genotipo fenotipo lo que resultaría importante ya que no existen estudios al respecto en población mexicana.

15. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- ¹ Salussolia CL, Klonowska K, Kwiatkowski DJ, Sahin M. Genetic Etiologies, Diagnosis, and Treatment of Tuberous Sclerosis Complex. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2019;20:217-240
- ² Kútna V, O'Leary VB, Newman E, Hoschl C, Ovsepian SV. Revisiting Brain Tuberous Sclerosis Complex in Rat and Human: Shared Molecular and Cellular Pathology Leads to Distinct Neurophysiological and Behavioral Phenotypes. *Neurotherapeutics.* 2021 Apr;18(2):845-858.
- ³ Darling TN, Thiele EA, Moss J. TSC1 and TSC2 Genotype in Tuberous Sclerosis Complex: Are Other Manifestations of this Multisystem Disease Affected by Genotype *Ann Am Thorac Soc.* 2021 May;18(5):775-777
- ⁴ Sudarshan S, Kumar M, Kaur P. Decoding of novel missense TSC2 gene variants using in-silico methods . *BMC Med Genet.* 2019;20(01):164-172
- ⁵ Kingswood JC, D'Augères GB, Belousova E, Ferreira JC, Carter T, Castellana R, et al. Tuberous Sclerosis registry to increase disease Awareness (TOSCA) – Baseline data on 2093 patients. *Orphanet J Rare Dis* 2017; 12: 1-13
- ⁶ Ebrahimi-Fakhari D, Mann LL, Poryo M, Graf N, Von Kries R, Heinrich B, et al. Incidence of tuberous sclerosis and age at first diagnosis: new data and emerging trends from a national, prospective surveillance study. *Orphanet J Rare Dis* 2018; 13: 117.
- ⁷ Laura S. Farach, Deborah A. Pearson, John P. Woodhouse, Jeremy M. Schraw, Mustafa Sahin, Darcy A. Krueger, Joyce Y. Wu, Elizabeth M. Bebin, Philip J. Genotipos complejos de esclerosis tuberosa y fenotipo de desarrollo, *neurología pediátrica*,2019(96);Pág 58-63.
- ⁸ Hung CC, Su YN, Chien SC, et al. Molecular and clinical analyses of 84 patients with tuberous sclerosis complex. *BMJ* 2020 30(15)1-10
- ⁹ Yang G, Shi ZN, Meng Y, et al. Phenotypic and genotypic characterization of Chinese children diagnosed with tuberous sclerosis complex. *Clin Genet.* 2017;91(5):764-768.
- ¹⁰ Rosset C, Vairo F, Bandeira IC, et al. Molecular analysis of TSC1 and TSC2 genes and phenotypic correlations in Brazilian families with tuberous sclerosis. *PLoS One.*2017;12(10):e0185713. Published 2017 Oct 2. doi:10.1371/journal.pone.0185713
- ¹¹ Krueger DA, Capal JK, Curatolo P, Devinsky O, Ess K, Tzadok M, et al. Short-term safety of mTOR inhibitors in infants and very young children with tuberous sclerosis complex (TSC): Multicentre clinical experience. *Eur J Paediatr Neurol* 2018; 22: 1066-73
- ¹² Northrup H, Aronow ME, Bebin EM, Bissler J, Darling TN, de Vries PJ, Frost MD, Fuchs Z, Gosnell ES, Gupta N, Jansen AC, Jóźwiak S, Kingswood JC, Knilans TK, McCormack FX. International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Group. Updated International Tuberous Sclerosis Complex Diagnostic Criteria and Surveillance and Management Recommendations. *Pediatr Neurol.* 2021 Oct;123:50-66. doi: 0.1016/j.pediatrneurol.2021
- ¹³ Volpi A, Sala G, Lesma E, Labriola F, Righetti M, Alfano RM, et al. Tuberous sclerosis complex: new insights into clinical and therapeutic approach. *J Nephrol* 2019; 32: 355-63

Roach ES, Sparagana SP. Diagnosis of tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol*. 2004;19(9):643-649

¹⁴ French JA, Lawson JA, Yapici Z et al. Terapia adyuvante con everolimus para las convulsiones de inicio focal resistentes al tratamiento asociadas con la esclerosis tuberosa (EXIST-3): un estudio de fase 3, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. *Lancet* 2016;388:2153-63

¹⁵ Cantarín-Extremera V, Bernardino-Cuesta B, Martín-Villaescusa C, Melero-Llorente J, Hernández-Martín Á, Aparicio-López C, de Lucas-Collantes C, Tamariz Martel-Moreno A, Duat-Rodríguez A, Ruiz Falcó-Rojas ML. Complejo esclerosis tuberosa: análisis de los ámbitos de afectación, progreso en el tratamiento y traslación a la práctica clínica habitual en una cohorte de pacientes pediátricos. *Rev Neurol* 2021;73 (05):141-150

¹⁶ Mizuguchi M, Ohsawa M, Kashii H, Sato A. Brain Symptoms of Tuberous Sclerosis Complex: Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 22;22(13):6677. doi: 10.3390/ijms22136677. PMID: 34206526; PMCID: PMC8268912.

¹⁷ Bar C, Ghobeira R, Azzi R, Ville D, Riquet A, Touraine R, Chemaly N, Nabbout R. Experience of follow-up, quality of life, and transition from pediatric to adult healthcare of patients with tuberous sclerosis complex. *Epilepsy Behav*. 2019 Jul;96:23-27. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.04.027. Epub 2019 May 9. PMID: 31077938.

¹⁸ Pauline Both, Lyenne ten Holt, Sabine Mous, Joke Patist, André Rietman, Gwen Dieleman, Leontine ten Hoopen, Menno Vergeer, Marie-Claire de Wit, Karen Bindels-de Heus, Henriëtte Moll, Agnies van Eeghen, Tuberous sclerosis complex: Concerns and needs of patients and parents from the transitional period to adulthood, *Epilepsy & Behavior*, Volume 83, 2018, Pages 13-21, ISSN 1525-5050

¹⁹ Lin S, Zeng JB, Zhao GX, Yang ZZ, Huang HP, Lin MT, Wu ZY, Wang N, Chen WJ, Fang L. Tuberous Sclerosis Complex in Chinese patients: Phenotypic analysis and mutational screening of TSC1/TSC2 genes. *Seizure*. 2019 Oct;71:322-327

²⁰ Sudarshan S, Kumar A, Gupta A, Bhari N, Sethuraman G, Kaushal T, Pradhan A, Sapra S, Gupta N, Kaur P, Gulati S, Chakrawarty B, Danda S, Bhatt M, Kapoor S, Girisha KM, Sankhyan N, Kabra M, Chowdhury MR. Mutation Spectrum of Tuberous Sclerosis Complex Patients in Indian Population. *J Pediatr Genet*. 2020 Sep 7;10(4):274-283. doi: 10.1055/s-0040-1716495. PMID: 34849272.

²¹ Avgeris S, Fostira F, Vagena A, Ninios Y, Delimitsou A, Vodicka R, Vrtel R, Youroukos S, Stravopodis DJ, Vlassi M, Astrinidis A, Yannoukakos D, Voutsinas GE. Mutational analysis of TSC1 and TSC2 genes in Tuberous Sclerosis Complex patients from Greece. *Sci Rep*. 2017 Dec 1;7(1):16697. doi: 10.1038/s41598-017-16988-w. PMID: 29196670

²³ <https://www.omim.org>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome> y <http://chromium.lovvd.nl/LOVD2/TSC/home.php> revisados 25 septiembre del 2022



GOBIERNO DE MÉXICO



ISSSTE
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
Dirección
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
COMBIOÉTICA 09-CEI-001-20210303

ANEXO 1

CARTA DE ASENTIMIENTO ESCRITO INFORMADO

CARACTERIZACION DE LOS GENES TSC1 Y TSC2 MEDIANTE ESTUDIO MOLECULAR EN PACIENTES CON ESCLEROSIS TUBEROSA EN EL CMN 20 DE NOVIEMBRE

Ciudad de México., a _____ de _____ del año 2022

La investigación a la que se me invita es un estudio que hacen los doctores para saber sobre mi enfermedad.

De mi sangre sacarán en el ADN (donde se encuentra la información de la herencia) para ver si se encuentra la causa de mi enfermedad

Se van usar unos aparatos muy nuevos por personas que saben mucho sobre estas pruebas

Esta prueba puede dar a mi doctor la información sobre la enfermedad que tengo y él me dará el mejor tratamiento.

A mis papás (tutor-es) ya les dijeron de la prueba y están de acuerdo

Me van a sacar sangre del pliegue de mi codo y eso me podrá doler y sacarme un moretón chiquito.



(SI)



(NO) quiero.

Datos de la Responsables de la investigación a la cuales puedo comunicarme en caso de dudas o preguntas relacionadas. Silvia García rolasil@yahoo.com.mx, Teléfono: 52005003 ext. 14609. Dra. Sofía Lizeth Alcaraz Estrada E-mail: socializeth@gmail.com, Teléfono: 52005003 ext. 14509; Dr. José Antonio Venta Sobero, Teléfono: 52005003; Presidenta del Comité de Ética Zoé Sondón zoesondon@yahoo.com.mx

Dra. Silvia García
Responsable

(Nombre completo y firma)
Paciente o tutor

(Nombre completo y firma)
Testigo

(Nombre completo y firma)
Testigo



**GOBIERNO DE
MÉXICO**



ISSSTE
INSTITUTO DE SEGURIDAD
Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO

Dirección
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
COMBIOÉTICA 09-CEI-001-20210303

ANEXO 1.1 CARTA DE CONSENTIMIENTO ESCRITO INFORMADO

NOMBRE DEL ESTUDIO: CARACTERIZACION DE LOS GENES TSC1 Y TSC2 MEDIANTE ESTUDIO MOLECULAR EN PACIENTES CON ESCLEROSIS TUBEROSA EN EL CMN 20 DE NOVIEMBRE

Ciudad de México., a _____ de _____ del año 2022

Por favor tome el tiempo necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga, para decidir si participa deberá tener conocimiento suficiente acerca de los beneficios y riesgos del presente estudio.

La investigación a la que se le está invitando a participar tiene como objetivo estudiar su ADN (material donde se encuentra la información genética –herencia- que se localiza en todas la células de su cuerpo) a través de una técnica que se llama secuenciación, esto es, mediante el uso de tecnología avanzada y novedosa en nuestro país se estudiará el ADN, con el propósito de intentar explicar, al menos parcialmente, la causa de su enfermedad (o de su hijo). Este estudio podría ayudar al diagnóstico de la enfermedad neurológica que le aqueja (a su hijo).

En esta prueba, se pueden identificarán aquellos cambios en el ADN cuyo significado clínico no sea evidente y no estén registrados como cambios presentes en población sana. En estos casos, podrían realizarse estudios predictivos de bioinformática (por computadora) para estimar los posibles efectos de estas variantes.

En ocasiones, se requerirá una nueva muestra si es necesario la realización de otras pruebas genéticas, a partir de este estudio. Es una práctica rutinaria, si la persona lo acepta **(si) (no)** que los excedentes de muestra (ADN) sean almacenados, durante un máximo de 5 años, para poder ser utilizados en caso de una repetición del estudio para confirmación diagnóstica o para estudios de investigación vinculados con otras enfermedades. El material generado a partir del ADN obtenido de las muestras, denominado librerías genómicas, serán destruidos después de ese tiempo.

Limitaciones

En casos excepcionales, no se puede realizar la lectura de regiones específicas del ADN lo que limita la obtención de resultado confiable para cierta región de su ADN.

Informe de Resultados

La interpretación clínica de los resultados se basará en la información científica actualizada disponible, la información clínica facilitada y el tipo de estudio solicitado y será su médico tratante quien se la proporcionará y le proporcionará toda la información que usted solicite. Mediante la realización de esta

prueba se puede obtener información genética de la persona estudiada o sobre los miembros de su familia no relacionada con la preocupación médica para la cual esta prueba ha sido solicitada.

Conocer esta información podría causar ansiedad y estrés psicológico. Esta información podría revelar un riesgo genético de desarrollar una enfermedad más adelante en la vida. Estos hallazgos podrían estar en relación con:

- 1) Enfermedades distintas a la razón médica por la que se ha solicitado la prueba de secuenciación
- 2) Trastornos que no tienen tratamiento actualmente.
- 3) No paternidad (el padre no es el progenitor biológico) u otros parentescos familiares no esperados.

Siguiendo las recomendaciones del colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG) solo se informará, si se identificasen en el análisis de los resultados, sobre aquellas variantes que afectan a los genes seleccionados por estar implicados en condiciones médicas que pueden ser validadas por otros métodos diagnóstico o requerir intervención clínica.

Riesgos y molestia

Ya que se obtendrán 5 ml de sangre en una vena del pliegue del codo podría haber las siguientes molestias:

Por la toma de sangre:

- a) Malestar y dolor leve, formación de hematoma o morete en el sitio donde se extraiga a sangre (del piquete de la vena) y en casos excepcionales una infección.

Por la extracción de sangre:

- b) Ninguna

La muestra será tomada por personal calificado del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, México o de su médico tratante.

Beneficios:

La información recabada en este estudio servirá en el tratamiento de futuras generaciones.

Una vez que leí la información anterior bajo la tutela y explicación del proyecto

CARACTERIZACION DE LOS GENES TSC1 Y TSC2 MEDIANTE ESTUDIO MOLECULAR EN PACIENTES CON ESCLEROSIS TUBEROSA EN EL CMN 20 DE NOVIEMBRE

", **yo nombre del tutor del paciente** he recibido la información de mi médico sobre la indicación, propósito características y riesgos potenciales del estudio mediante secuenciación de mi muestra sanguínea y/o la de mi hijo la cual será obtenida a través de una vena de mi antebrazo.

Asimismo, he tenido la oportunidad de leer la información adicional facilitada sobre la prueba y mis preguntas han sido respondidas satisfactoriamente.

Comprendo el propósito y las limitaciones de la prueba, en particular que podrían no detectarse mutaciones

Comprendo que es posible que se me solicite una nueva extracción de sangre para repetir la prueba o para la realización de pruebas adicionales.

Entiendo que la interpretación clínica de los resultados se basará en la información científica disponible actualmente, la información clínica facilitada y el tipo de estudio solicitado. A medida que el conocimiento médico avance y se realicen nuevos descubrimientos, la interpretación de los resultados podría cambiar.

Comprendo que mediante la realización de esta prueba se puede obtener información genética sobre mi (mi hijo) o sobre los miembros de mi familia no relacionada a la preocupación médica para la cual esta prueba ha sido solicitada.

Acepto que en caso de identificarse se informarán como hallazgos incidentales las variantes patogénicas o probablemente patogénicas se me de la información de acuerdo a las pautas anteriormente descritas

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de la toma de muestra.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier hallazgo que pudiera ser ventajoso para el tratamiento, evolución o pronóstico de cualquier padecimiento de quienes participamos, así como a responder cualquier pregunta y aclarar las dudas que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación en cualquier momento que lo solicite.

Los investigadores responsables han brindado la seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que se deriven de mi participación y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma absolutamente confidencial. Para cumplir lo anterior, el investigador utilizará para la creación de la base de datos (que tendrán mi información clínica, así como las respuestas del cuestionario acerca de mis datos que se me aplicará), número de identificación (NO se empleará mi nombre) para identificarme y de esa forma conservar mi anonimato. Esta información y la derivada del estudio serán manejadas únicamente por los investigadores responsables y solamente se dará a conocer a otra persona si yo lo solicito por escrito.

Si procede: Así mismo manifiesto haber recibido información suficiente y clara para el estudio propuesto, doy mi autorización de ser incluido en este proyecto de investigación

A si mismo manifiesto que se ha obtenido el ASENTIMIENTO del menor a mi custodia, para participar voluntariamente en el proyecto de Investigación.

Nombre y firma del Participante o Representante legal
Parentesco _____

TESTIGOS:

(Nombre completo y firma)

(Nombre completo y firma)

Datos de la Responsable a la cuales puedo comunicarme en caso de dudas o preguntas relacionadas.
Dra. Sofía Lizeth Alcaraz Estrada, E-mail: sofializeth@gmail.com, Teléfono: 52005003 ext. 14509; Dr. José Antonio Venta Sobero, Teléfono: 52005003; Silvia García rolasil@yahoo.com.mx, Teléfono: 52005003 ext. 14609.

Dra Silvia Garcia

(Nombre completo y firma)
Paciente o tutor



GOBIERNO DE
MÉXICO



ISSSTE
INSTITUTO DE SEGURIDAD
Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

Dirección

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

COMBIOÉTICA 09-CEI-001-20210303

ANEXO 2

AVISO DE PRIVACIDAD

TÍTULO DEL PROYECTO DE

INVESTIGACIÓN: CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES TSC1 Y TSC2 MEDIANTE ESTUDIO MOLECULAR EN PACIENTES CON ESCLEROSIS TUBEROSA EN EL CMN 20 DE NOVIEMBRE

El presente Aviso de Privacidad tiene como objeto informarles sobre el tratamiento que se le dará a sus datos personales cuando los mismos son recabados, utilizados y almacenados.

Investigador responsable de recabar sus datos personales, de su uso y protección:

Nombre: DRA SILVIA GARCIA

Domicilio: SAN LORENZO COL DEL VALLE, ALCALDÍA BENITO JUÁREZ

Teléfono: 52005003 EXT 14609

Correo electrónico: even.fj@gmail.com

Su información personal será utilizada con la finalidad de **proporcionar información sobre exámenes practicados, información sobre su padecimiento**, para lo cual requerimos obtener los siguientes datos personales: **nombre, fecha de nacimiento, número de seguridad social**. estos datos son considerados como sensibles de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos proporcionados por usted serán tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad. En el caso de este proyecto las medidas que se tomaran para ello serán: **número de expediente** y se almacenaran en **archivo electrónico a cargo del investigador principal**.

Los datos que usted nos proporcione no serán compartidos con otras instancias o instituciones y únicamente serán usados por el equipo de investigadores para este proyecto.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al manejo de los mismos o anular el consentimiento que nos haya otorgado para tal fin, presentando una carta escrita dirigida a el/ la investigador responsable Dra. Silvia García investigador responsable rolasil@yahoo.com.mx, Teléfono: 52005003 ext. 14609